



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Isoeritrólise Neonatal em Equinos – Revisão Bibliográfica

Mariana Pedroso Mendes São Bento

Coimbra, outubro de 2020



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Isoeritrólise Neonatal em Equinos – Revisão Bibliográfica

Coimbra, outubro de 2020

Mariana Pedroso Mendes São Bento

Aluna do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri:

Presidente do Júri: Prof. Doutora Ana Calado Lopes

Arguente: Prof. Doutor Pedro Pinto Bravo

Orientador: Prof. Doutor Nuno Carolino

Orientador Interno:

Prof. Doutor Nuno Carolino

Coorientador Interno:

Prof. Doutor David Arguëlles

Orientadores Externos:

Dr. Bruno Miranda

BJCM-Vet

Prof. Doutor Luís Javier Ezquerra Calvo

Facultad de Veterinaria Universidad de Extremadura

Dissertação de Estágio Curricular do Ciclo de Estudos
Conducente ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária da EUVG

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus orientadores, Professor Doutor Nuno Carolino e ao Professor Doutor David Arguëlles, pela paciência e tempo que disponibilizaram, bem como o apoio que demonstraram ao longo desta etapa.

Ao longo da minha vida, o meu percurso permitiu-me atingir este desejado objetivo, com altos e demasiados baixos, mas com o apoio e amor incondicional do meu pai, da minha mãe e da minha irmã concretizei mais uma etapa de vida. Não poderia falar da minha família, sem falar da Piedade, que embora não sendo do meu sangue, tem sido o meu principal pilar, e que me permitiu ser hoje a pessoa que sou e a quem tudo devo.

Durante o meu percurso escolar tive o prazer de conhecer e ter o apoio de pessoas e profissionais que me mudaram e me incentivaram a ser melhor, desde a Professora Doutora Mónica Mira, quando estava a estudar na EPDRAC em Alter do Chão, ao Dr. Bruno Miranda, Dr. José Miranda Veiga e Dra. Patricia Becerra que me ajudaram ao longo de todo o meu trajeto, como pilares de conhecimento e conselhos. Não poderia esquecer o *staff* do Hospital Clínico Veterinario UEX, em Cáceres, que de várias formas me abriram os olhos para uma prática totalmente diferente do que estava habituada e que me ajudaram quando a palavra casa estava apenas por uma chamada telefónica.

Na EUVG vários foram os professores que se tornaram amigos, e que nos meus momentos mais difíceis me ajudaram, mesmo à distância, entre eles, a Professora Doutora Teresa Mateus que me permitiu, com o seu espírito e carácter particular, olhar para o futuro de forma diferente, com autocrítica, mas grata, mesmo pelos pontos negativos.

Ao Coro Misto da Universidade de Coimbra e ao “Gang da Sereia”, que embora seja apenas um grupo de “cãoovivo” para o meu Brownie de Mel e Wally, me deram amigos para a vida.

Por último, várias foram as pessoas que passaram na minha vida e que tiveram impacto, e por isso agradeço a forma como contribuíram para ser o que sou, quem sou e como sou.

Agora atinjo um objetivo que me estava destinado e anseio o que o futuro me reserva. Em pequena queria ser cavalo, agora quero ser “médica de cavalos”.

Índice geral

Lista de tabelas	v
Lista de figuras	v
Lista de abreviaturas e siglas	vi
Resumo	2
<i>Abstract</i>	3
1. Introdução.....	4
2. Neonatologia Equina	5
2.1. Gestação, condições maternas e fetais.....	5
2.2. Avaliação do poldro neonato	8
3. Grupos sanguíneos e relevância clínica	10
4. Isoeritrolise Neonatal.....	12
4.1. Fisiopatogenia.....	13
4.2. Sinais clínicos	14
4.2.1. Exame físico.....	14
4.2.2. Resultados laboratoriais.....	15
4.2.3. Complicações secundárias	19
4.2.4 Resultados anatomopatológicos	21
4.3. Sistemas afetados e diagnósticos diferenciais	23
4.4. Diagnóstico e métodos complementares de diagnóstico	23
4.5. Prevenção.....	25
4.6. Tratamento.....	30
4.7. Prognóstico	32
5. Conclusão.....	33
Referências Bibliográficas	34
Anexos.....	40

Lista de tabelas

Tabela 1 – Frequências cardíacas, respiratórias e temperaturas em poldros neonatos saudáveis.....	40
Tabela 2 – Intervalos de referência de parâmetros hematológicos e bioquímicos para poldros neonatos saudáveis.....	41
Tabela 3 – Procedimento para teste de compatibilidade com o sangue do poldro	42
Tabela 4 – Procedimento para o teste de aglutinação do poldro ictérico	46

Lista de figuras

Figura 1 – Diferenças entre as membranas mucosas orais em poldros neonatos.....	9
Figura 2 – Icterícia visível ao exame oftalmológico	10
Figura 3 – Diferenças de coloração entre hemoglobinúria e bilirrubinúria.....	17
Figura 4 – Icterícia generalizada	21
Figura 5 – Nefrose pigmentária.....	22
Figura 6 – Teste hemolítico	27
Figura 7 – Teste de aglutinação do poldro ictérico	29
Figura 8 – Método ilustrado para realização do teste de compatibilidade com o sangue do poldro	43
Figura 9 – Método ilustrado para interpretação dos resultados do teste de compatibilidade com o sangue do poldro.....	45

Lista de abreviaturas e siglas

% - Por cento (percentagem)

°C – Graus Celsius

Ac – Anticorpos

ACD – Ácido Citrato Dextrose

ADN – Ácido desoxirribonucleico

Ag – Antigénios

AHIM – Anemia Hemolítica Imunomediada

ALP/FAS – Fosfatase alcalina sérica (do inglês, *Alkaline phosphatase*)

AST – Aspartato aminotransferase (do inglês, *Aspartate transaminase*)

BAER – Respostas auditivas suscitadas pelo tronco cerebral (do inglês, *Brainstem auditory evoked responses*)

BHE – Barreira hematoencefálica

bpm – Batimentos por minuto

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

CK – Creatina quinase (do inglês, *Creatine kinase*)

dL – Decilitro

e.g. – *exempli gratia* (do português, por exemplo)

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

EUVG – Escola Universitária Vasco da Gama

FC – Frequência cardíaca

fL - Fentolitro

FR – Frequência respiratória

FTP – Falha de transferência passiva

g – Grama

g – Força centrífuga relativa (força gravítica)

GGT – Gamma glutamiltransferase

HCM – Hemoglobina corpuscular média

HTC – Hematócrito

HVE-1 – Herpesvírus equino tipo 1

Ig – Imunoglobulina

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IM - Intramuscular

IN – Isoeritrólise Neonatal

IV – Intravenosa

JFA – (teste) de aglutinação do poldro ictérico, do inglês “*Jaundice Foal Agglutination (Test)*”

Kg – Quilograma

L – Litro
LCR – Líquido cefalorraquidiano
mg – Miligrama
mL – Mililitro
mmol – Milimole
NaCl – Cloreto de sódio
PC – Peso corporal
PSL – Puro-Sangue Lusitano
rpm – Respirações por minuto
SDH – Sorbitol desidrogenase
SNC – Sistema nervoso central
SRE – Sistema reticuloendotelial
T – Temperatura
TRC – Tempo de repleção capilar
UEX – Universidad Extremadura
UI – Unidades internacionais
VCM – Volume corpuscular médio

Isoeritrólise Neonatal em Equinos – Revisão Bibliográfica

Mariana São Bento^a. David Argüelles^b. Nuno Carolino^{a,c}.

^a Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário – Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (sbentomariana@gmail.com)

^b Hospital Clínico Veterinario, Universidad de Córdoba, Ctra Nacional IV Km 396, Campus Rabanales, 14014, Córdoba, Espanha (cu2arcad@uco.es)

^c Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Pólo de investigação da Fonte Boa, Fonte Boa, 2005-048, Vale de Santarém, Portugal (carolinonuno@hotmail.com)

Resumo

A Isoeritrólise Neonatal, também descrita como “Síndrome do poldro ictérico”, é uma patologia bastante estudada e documentada ao longo de vários anos, de distribuição mundial, que apresenta uma prevalência de cerca de 1-2%, com uma fisiopatogenia bem definida e esclarecida, pelo que afeta poldros neonatos através da ingestão de colostro de origem materna, que contenha anticorpos contra a superfície molecular dos seus eritrócitos, causando assim uma hemólise e conseqüente anemia hemolítica imunomediada.

O grande obstáculo deste distúrbio hemolítico em equinos é baseado na sua genética, uma vez que os cavalos apresentam grupos sanguíneos complexos, podendo surgir 400.000 combinações antigénicas diferentes. No entanto, é de conhecimento no meio científico os grupos ou sistemas com os principais fatores que favorecem a ocorrência patológica.

A avaliação dos progenitores, bem como o conhecimento dos fatores de risco, permitem uma abordagem materna e, conseqüentemente, neonatal que dita o sucesso do controlo e prevenção da Isoeritrólise Neonatal. O conhecimento dos principais sinais clínicos, métodos de diagnóstico rápidos e lesões futuras, que podem ou não culminar na morte do poldro, suportam a aplicação de medidas de manejo e terapêuticas que vão favorecer a sua sobrevivência.

Foram realizados estudos em algumas raças sabendo a sua incidência e prevalência, mas infelizmente não existe documentação para o cavalo Puro-Sangue Lusitano, sendo apenas os cavalos de raça Puro-Sangue Inglês e Trotador, entre outros cavalos Puro-Sangue, os mais documentados. Esta é uma das principais razões pelo qual pretendo abordar este tema, uma vez que a neonatologia em Portugal não é uma prática especializada, sendo realizada apenas por hospitais ou clínicas de referência.

É fundamental o conhecimento da doença de modo a prevenir a ocorrência da mesma e deste modo potenciar aos criadores de cavalos uma prole de criação de sucesso e sem fatores que possam levar à morte dos seus neonatos, levando a custos e perdas significativas.

Palavras-chave: Isoeritrólise neonatal; Síndrome do poldro ictérico; Neonatologia

Abstract

Neonatal Isoerythrolysis, also known as “Jaundice Foal Syndrome”, is a pathology that has been studied and documented for many years, distributed globally with a prevalence of around 1-2% and a well-defined and clear pathophysiology, which affects newborn foals through the ingestion of maternal colostrum containing antibodies against a superficial molecular of their erythrocytes, causing hemolysis and consequent immune-mediated hemolytic anemia.

The major problem with this hemolytic disturbance in horses is due to the genetics involved, since horses have complex blood groups, leading to 400.000 different possible antigenic combinations. However, the scientific community recognizes the groups or systems with the principal factors favoring its occurrence.

Evaluation of the parents, as well as knowledge of the risk factors, allows for a maternal and therefore neonatal approach, which dictates the success of control and prevention of Neonatal Isoerythrolysis. The knowledge of the main clinical signs, rapid diagnostic methods and future injuries, that may or may not result in the death of the foal, support the use of management and therapeutic measures that will determine their survival.

Studies have been carried out in some breeds where the incidence and prevalence are known, but unfortunately this information not available for the Puro-Sangue Lusitano, while the Thoroughbreds and Standardbreds, among other purebreds, are the most studied. This is one of the main reasons why I intend to address this topic, since neonatology in Portugal is not a specialized practice and is performed only by reference hospitals or clinics.

It is crucial to understand the disease in order to prevent its occurrence and thereby give horse breeders a successful breeding stock without factors that could lead to the death of their newborns, causing significant costs and losses.

Keywords: Neonatal Isoerythrolysis; Jaundice Foal Syndrome; Neonatology

1. Introdução

A Isoeritrólise Neonatal (IN), também referenciada na literatura como síndrome hemolítica neonatal (Knottenbelt et al., 2004a), doença hemolítica do poldro recém-nascido (Tocci & Ewing, 2009), anemia hemolítica aloimune ou isoimune (Toribio & Mudge, 2013) ou síndrome do poldro icterico (“*Jaundice Foal Syndrome*”) (McCue, 2014), é uma patologia que afeta neonatos e tem sido descrita na literatura ao longo dos anos. Os primeiros estudos reportam-se aos anos 40 e 50 sobre “Doenças hemolíticas de poldros recém-nascidos” (Scott & Jeffcott, 1978) e estudos comparativos da doença entre humanos e equinos (Sandberg & Gothran, 2000), sendo que em medicina humana a doença homóloga designa-se de “Eritroblastose Fetal”, reconhecida desde 1947 (Sandberg & Andersson, 1987).

A IN em equinos é uma forma adquirida de anemia hemolítica imunomediada (AHIM) em poldros neonatos (Felippe, 2017), que resulta na destruição dos eritrócitos por aloanticorpos anti-eritrócitos de origem materna presentes no colostro e ingeridos pelo poldro (McKenzie III, 2018). Embora não seja uma doença frequente (McCue, 2014), é a causa mais comum de icterícia clínica (Broux, Lefère, Deprez, & van Loon, 2015) e anemia hemolítica em neonatos equinos (Wong & Brockus, 2015), podendo apresentar uma taxa de sobrevivência de 75 a 95% (Orsini, 2011).

A IN apresenta uma fisiopatogenia bem definida, pelo que está associada a uma condição única patológica de transferência passiva de anticorpos (Ac) maternos pelo colostro (MacLeay, 2001), que podem ter sido adquiridos pela incompatibilidade entre os tipos sanguíneos da égua e do poldro ou mesmo por transfusões sanguíneas prévias na progenitora que geram essa produção (Finding & McSloy, 2011).

De distribuição mundial, os estudos populacionais revelaram que não existe predisposição sexual e geralmente ocorre em poldros nascidos de éguas múltiparas, pelo que, por norma, os poldros nascem normais e apresentam sinais clínicos durante os primeiros dias de vida, com um intervalo médio de 0 a 8 dias (Hurcombe, 2020), sendo que a severidade desses sinais, bem como o prognóstico, dependem da quantidade e do tipo de aloanticorpos ingeridos, gravidade da hemólise, do tratamento e de outras complicações (Tan, Hughes, & Hodgson, 2005).

De uma grande variabilidade genética, com mais de 400.000 combinações antigénicas (Luethy, et al., 2016), qualquer raça pode ser afetada (Felippe, 2017), não existindo um fator antigénico específico para essa raça (Hurcombe, 2020). Vários estudos publicados ao longo dos anos indicam que 90% dos casos de IN se encontram associados aos fatores antigénicos dos grupos sanguíneos Aa e/ou Qa (Divers, 2016), podendo ocasionalmente estar associado aos fatores Ab, Pa, Dc e Ua (McCue, 2014), entre outros. De referir que cerca de 90% dos equinos não possuem aloanticorpos naturais, mas quando apresentam (10%) os fatores Aa e Ca são os relatados (Luethy et al., 2016).

2. Neonatologia Equina

A medicina neonatal equina tem evoluído ao longo dos últimos 50 anos (McKenzie III, 2018), muito devido ao facto de terem como base os cuidados intensivos em medicina humana (Morresey, 2005), bem como grupos de pesquisa que permitem a evolução da medicina veterinária na sua globalidade (McKenzie III, 2018).

A coordenação entre os criadores e os clínicos é de extrema importância, visto que qualquer abordagem a um neonato requer uma monitorização apertada e resulta em custos (Austin, 2018), o que, para um criador, pode não apresentar um retorno rápido, levando a que muitos dos casos neonatais não sejam tratados. Por esse motivo, é necessário sensibilizar os criadores permitindo um reconhecimento precoce de um poldro doente através das bases atuais sobre o exame clínico e as principais patologias, de modo a gerar uma resposta rápida, seja na chamada do clínico de ambulatório, seja no transporte imediato para clínicas ou hospitais de referência, facilitando a instituição da terapia mais adequada (Austin, 2013).

É sempre importante lembrar “que um poldro neonato não é só um cavalo de 50 Kg” (Stoneham & Munroe, 2011), mas muitos clínicos observam poldros com o pensamento direccionado para os “valores” de adultos, o que promove uma avaliação clínica menos detalhada e com uma abordagem que pode ser prejudicial para o neonato. Infelizmente a prática da neonatologia pode ser devastadora, uma vez que um poldro doente pode morrer sem uma causa óbvia, mesmo quando apresenta melhoria.

O sucesso da neonatologia passa então pela identificação precoce de qualquer patologia, para isso, o exame inicia-se antes do seu nascimento, com a identificação dos potenciais fatores de risco maternos e fetais e os fatores posteriores ao nascimento. Assim, é necessário obter dados sobre a gestação, parto e fatores que possam ser de risco para o desenvolvimento de inviabilidade neonatal (Corley & Jokisalo, 2015).

No caso específico de IN, são necessárias algumas noções sobre as condições fisiológicas que permitem compreender a patologia, bem como o conhecimento dos fatores envolvidos na sua ocorrência.

2.1. Gestação, condições maternas e fetais

O reconhecimento da gestação e das condições maternas permitem classificar as progenitoras consoante o risco de produzir um poldro com IN, através da obtenção detalhada da história e performance reprodutiva (Masko et al., 2018), bem como dos poldros gerados anteriormente (Bucca, 2006), prevenindo, de base, a ocorrência da doença (Sprayberry, 2003).

Uma égua múltipara representa um fator indicativo diferencial para a ocorrência desta patologia, apresentando maior risco por anterior exposição e com isso sensibilização do sistema imunitário, resultando na produção de Ac e maior concentração dos mesmos no colostro, sendo então

uma ferramenta importante a avaliação da compatibilidade sanguínea entre éguas e garanhões, determinando o risco da obtenção de um poldro com IN (Corley & Jokisalo, 2015). As éguas primíparas também podem ser consideradas de risco, ainda que de raro, se tiverem sido anteriormente expostas a situações como transfusões sanguíneas incompatíveis, com possível sensibilização e produção de Ac em titulação suficiente no colostro que possam causar impacto no poldro (Corley & Jokisalo, 2015).

Contrariamente ao que ocorre nas mulheres, o tipo de placenta da égua, epiteliocoriônica difusa (McKenzie III, 2018), impede que ocorra uma sensibilização transplacentária do feto (Michel, 2009), pois a placenta impede a passagem de moléculas de grandes dimensões, como as imunoglobulinas (Ig), de atravessar a barreira placentária e posterior difusão da circulação materna para a circulação fetal (Sprayberry, 2003), ocorrendo apenas trocas de oxigênio e nutrientes para a circulação fetal e difusão de dióxido de carbono e produtos de excreção para a circulação materna (Wong & Sponseller, 2018). Este aspeto é de extrema importância, pois a eventual ocorrência de uma falha que leve a troca de sangue entre a égua e o feto pode resultar na exposição materna a aloantígenos (Wong & Sponseller, 2018).

Segundo Felipe (2017), os fatores de risco maternos ocorrem quando os aloanticorpos são produzidos durante a gestação em condições particulares, nomeadamente gestações em que o feto herda fatores antigénicos eritrocitários do garanhão e que são incompatíveis com a égua; exposição da égua ao sangue do poldro, por placentite ou complicações durante o parto, que leva a estimulação antigénica promovendo a produção de Ac contra esse fator; os Ac produzidos podem não atingir uma titulação colostrálica a tempo de serem absorvidos e causar efeito clínico no poldro, mas as gestações seguintes encontram-se em risco, uma vez que a égua vai apresentar titulação elevada de Ac no colostro contra esse fator sanguíneo específico; o poldro da gestação seguinte vai apresentar risco elevado de IN quando expressa o fator sanguíneo herdado pelo garanhão e incompatível com o tipo sanguíneo da égua, e após a absorção de colostro que possui esses Ac maternos; a exceção a estes fatores potenciadores de IN, e a possibilidade de ocorrência da mesma na gestação corrente, surge quando a égua recebe anteriormente uma transfusão de sangue de um tipo sanguíneo incompatível com esta, mas compatível com o poldro.

A maioria das éguas gestantes encontram-se a campo, não sendo supervisionadas durante e no final da gestação, o que potencia a ocorrência de algumas patologias perinatais (Bucca, 2006) não detetadas em tempo útil, como no caso de IN, em que o poldro ingere o colostro e desenvolve sinais clínicos. Talvez seja por esse motivo que as fatalidades decorrentes de uma IN possam não ser contabilizadas nas estatísticas e, desse modo, ser considerada uma doença com uma incidência real bastante baixa, de ocorrência inferior a 2% (Mudge & Williams, 2016).

O manejo de uma égua gestante que possa ser de risco é então um factor crucial e, para isso, devem ser implementadas medidas que permitam a monitorização da etapa final da gestação e do poldro neonato, principalmente quando se sabe que numa gestação anterior ocorreu um poldro com IN (McKenzie III, 2018). Está também descrito que uma égua que tenha produzido anteriormente poldros com IN tem 70% de probabilidade de produzir outro, independentemente do garanhão usado (Galvin, 2008).

A gestação de uma égua tem a duração média de 11 meses (330 – 345 dias), sendo o último mês de gestação, parto e até 7 a 9 dias após o nascimento considerado o período perinatal (Masko et al., 2018). De modo a facilitar a monitorização, as éguas criadas a campo devem ser estabuladas com, pelo menos, 1 mês antes da data prevista do parto, permitindo-lhes uma adaptação ao novo ambiente (Schnobrich, 2018). Dascanio (2014) sugere outra forma de prevenir a IN, através da indução do parto, permitindo a separação imediata do poldro e, deste modo, evitar a ingestão do colostro. Para a indução, a égua deve apresentar mais de 330 dias de gestação, úbere desenvolvido, cérvix relaxado e apresentar no leite valores de carbonato de cálcio superiores a 200 partes por milhão, pelo que qualquer falha nestas condições pode indicar que a égua não se encontra preparada para o parto e aumenta o risco da inviabilidade fetal independentemente do risco de IN.

Na maioria das éguas a produção de colostro, fonte primária de Ig para o poldro neonato (Sellon, 2006), é de cerca de 1.8 a 2.8 L e sabe-se que a sua produção ocorre durante as últimas duas a três semanas antes do parto, com influência hormonal, nomeadamente estrogénios e progesterona, tendo na sua constituição vários componentes extremamente importantes para a imunidade neonatal e maturação intestinal (Giguère & Polkes, 2005). A sua produção ao nível da glândula mamária cessa em aproximadamente 24 a 36 horas pós-parto (McCue, 2014).

As éguas consideradas de risco e uma vez que apenas o colostro é a fonte de aloanticorpos causadores de IN no poldro, devem ser ordenhadas e o colostro totalmente eliminado logo após o parto e de forma regular, sendo aconselhada a ordenha a cada 2 a 6 horas, durante pelo menos 24 horas, prevenindo a ocorrência de mastites (Canisso, Podico, & Ellerbrock, 2019) e garantindo a manutenção da produção de leite (Giguère & Polkes, 2005). Schnobrich (2018) refere que existem recomendações por parte de clínicos sobre a administração de sulpirida ou domperidona para uma produção precoce de leite, permitindo a ordenha no pré-parto e evitando a formação de colostro.

O poldro pode mamar assim que o colostro termine, podendo ser avaliada a densidade específica através de um colostrómetro, estando esta relacionada com a concentração de IgG (Bucca, 2006). É possível que o poldro mame mais cedo, se se verificar que essa fase terminou (Madigan, 2013).

Seja qual for a opção/estratégia usada, deve ser disponibilizada ao poldro uma fonte alternativa de colostro, de qualidade, de uma dadora selecionada como de baixo risco ou de um banco de colostro de éguas com status conhecido para fatores antigénicos eritrocitários Aa e Qa (Sprayberry, 2003; Knottenbelt et al., 2004a), podendo também ser usado leite de substituição (Archer, 2013) ou ainda produtos comerciais de imunoglobulinas equinas (Mealey & Long, 2018). Menos fiável, mas também descrito é a administração alternativa de colostro bovino (Sprayberry, 2003) ou leite de cabra diluído (Corley, 2011).

2.2. Avaliação do poldro neonato

Nos equinos, o sistema imunitário desenvolve-se durante a vida fetal e, ao nascimento, os poldros encontram-se imunocompetentes (Giguère & Polkes, 2005), sem imunidade protetora (Bucca, 2006), e embora saudáveis, encontram-se agamaglobinêmicos, apesar de apresentarem concentrações em níveis muito baixos de IgM, necessitando, então, do colostro para uma adequada transferência de imunidade passiva (Sprayberry, 2003). De notar que, mesmo que ocorra uma transferência passiva parcial de Ac maternos pelo colostro, o quadro de IN pode desenvolver-se igualmente (Felippe, 2017).

Uma correta avaliação do neonato, necessita de conhecimentos sobre o seu comportamento no pós-parto. Em condições normais, apresentam reflexo de posicionamento e sucção nos primeiros minutos de vida (Stoneham & Munroe, 2011), tentam colocar-se em decúbito esternal em segundos ou minutos e em estação em 1 a 2 horas (Carr, 2014).

A primeira amamentação ocorre em 2 a 3 horas após o nascimento (Carr, 2014), 5 a 7 vezes por hora, em sessões de 2 minutos cada (Austin, 2018). O seu início é um fator importante para uma correta abordagem e prevenção de IN.

A ingestão de colostro deve ocorrer nas primeiras 16 horas após o nascimento (Sprayberry, 2003), sendo que um colostro com adequada concentração de IgG é aquele que apresenta valor superior a 1.060 de densidade específica (Bucca, 2006). É aconselhada a medição de IgG sérica do poldro entre as 12 e 24 horas após o nascimento de modo a garantir que ocorreu uma adequada transferência de Ig (Giguère & Polkes, 2005). Concentrações de IgG inferiores a 200 mg/dL (2 g/L) é considerado falha de transferência passiva (FTP) completa e uma concentração com valores entre 400 e 800 mg/dL (4 e 8 g/L) é considerado FTP parcial (Mudge & Williams, 2016), sendo a falha de transferência passiva definida como falha do poldro em ingerir ou absorver uma quantidade suficiente de IgG (Sellon, 2006).

Os enterócitos, células intestinais especializadas, absorvem de forma não seletiva (Austin, 2013) as Ig (Sprayberry, 2003), pelo que a eficiência de absorção ao nível intestinal atinge o pico logo a seguir ao nascimento (Giguère & Polkes, 2005) e, 3 horas depois, apresenta um decréscimo com uma eficiência de apenas 22%, atingindo menos de 1% por volta das 20 horas de idade (Sellon, 2006). Às 24 horas a capacidade de absorção intestinal é praticamente inexistente (Giguère & Polkes, 2005), não sendo possível absorver Ig, mesmo que em baixas concentrações no leite (Sprayberry, 2003). A rápida diminuição de absorção ocorre pela eliminação de enterócitos especializados e substituição por enterócitos maduros (Giguère & Polkes, 2005). No caso de IN, e considerando os intervalos de eficiência de absorção, pode ser necessário um período mínimo de 18 horas até que o poldro volte a mamar (Madigan, 2013).

Após a avaliação do comportamento, deve proceder-se a um exame físico completo. Este é extremamente importante e deve ser realizado de forma sistemática e minuciosa de modo a identificar sinais de doença mesmo que subtis e inespecíficos e, assim, garantir precocemente a deteção de patologias (Stoneham & Munroe, 2011). O stress da manipulação também deve ser evitado, pois vai

alterar os valores normais de referência, não sendo aconselhável o uso de fármacos sedativos que possam promover alterações tanto nos sinais vitais como comprometer a hemodinâmica e induzir stress respiratório (Nógrádi & Magdesian, 2018). Neste caso em particular, apenas serão referidas as avaliações físicas relevantes para o reconhecimento dos resultados patológicos numa situação de IN.

As membranas mucosas de um poldro recém-nascido saudável devem apresentar-se com uma coloração rosada e húmida (Figura 1-A) (Stoneham & Munroe, 2011) e tempo de repleção capilar (TRC) de 1 a 2 segundos (Magdesian, 2014). Membranas pálidas são sugestivas de anemia ou choque hipovolémico (Figura 1-B) (Carr, 2014), e membranas amarelas pálidas, compatíveis com icterícia (Figura 1-C) (Magdesian, 2014), são sugestivas da presença de elevações de bilirrubina secundariamente a hemólise, como no caso de IN ou doença hepática (Austin, 2013).



Figura 1 – Diferenças entre as membranas mucosas orais em poldros neonatos. A) Membranas mucosas normais. Adaptado de: (McAuliffe, 2008); B) Poldro com Isoeritrólise Neonatal demonstrando anemia e icterícia. Adaptado de: (Russell & Wilkins, 2006); C) Membranas mucosas secas e ictéricas. Adaptado de: (Knottenbelt et al., 2004a).

Relativamente a exames dirigidos, o exame oftalmológico pode ser uma fonte de indicação de doença sistémica (Wotman & Johnson, 2017), sendo possível observar icterícia ao nível da esclera e conjuntiva, sugestiva de IN (Figura 2, pág. 10) (Nógrádi & Magdesian, 2018). Langohr (2014) refere que a conjuntiva é um dos primeiros tecidos a apresentar coloração com o aumento dos níveis de bilirrubina.

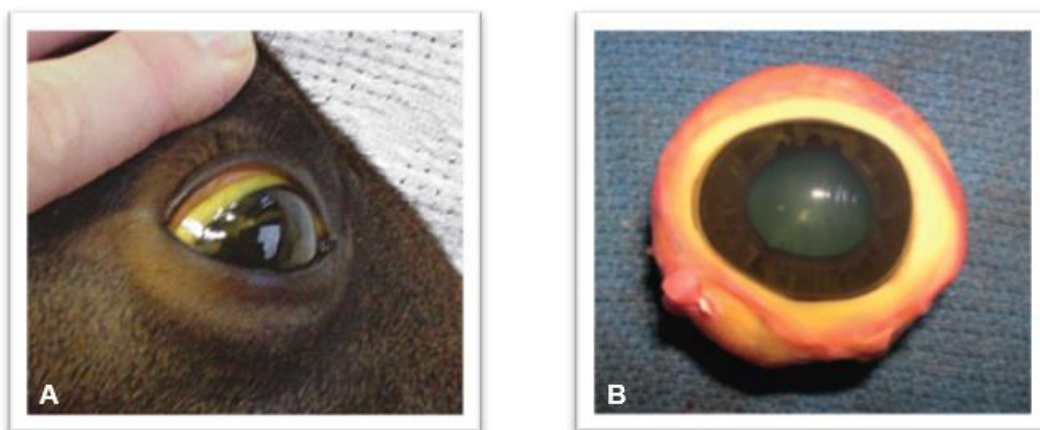


Figura 2 – Icterícia visível ao exame oftalmológico. A) Icterícia severa num poldro com 1 dia de idade diagnosticado com Isoeritrólise Neonatal. Adaptado de: (McAuliffe, 2008); B) Esclera ictérica de um poldro com Isoeritrólise Neonatal. Adaptado de: (Langohr, 2014).

É também necessário incluir um exame neurológico sendo a importância desta avaliação, no caso de IN, uma síndrome designada de *kernicterus* ou encefalopatia por bilirrubina (McKenzie III, 2018).

A taquicardia e taquipneia são sinais clínicos que também podem estar presentes (McKenzie III, 2018), bem como uma temperatura normal ou ligeiramente aumentada (Knottenbelt et al., 2004a), assim, é necessário saber as referências normais das funções vitais e as suas variações ao longo das primeiras horas de vida (Stoneham & Munroe, 2011), sendo que estas encontram-se descritas em anexo (Tabela 1, pág. 40).

Os perfis hematológicos, bioquímicos e urianálise são, geralmente, diferentes dos adultos (Morresey, 2005), sendo também importante referir que os intervalos de referência variam consoante o laboratório usado (Stoneham, 2006), mas foi também relatado que quando não se encontram estabelecidos os parâmetros bioquímicos para neonatos, podem ser usados os valores de referência de adultos para classificar o bem-estar geral do poldro (Morresey, 2005). Em anexo (Tabela 2, pág. 41) encontram-se intervalos de referência de vários parâmetros para poldros.

3. Grupos sanguíneos e relevância clínica

A grande dificuldade na compreensão da IN tem sido associada à componente genética sanguínea e polimorfismos proteicos (Magdesian, 2017). Desde a descoberta do sistema de grupos sanguíneos ABO humanos e durante a primeira metade do século XX, várias hipóteses foram incorretamente aplicadas na medicina veterinária, onde alguns estudos indicavam que todos os indivíduos apresentavam Ac de ocorrência natural (Sandberg & Gothran, 2000). Em medicina equina,

essa realidade foi colocada em causa, pois alguns estudos indicaram que aproximadamente 90% dos equinos não possui Ac eritrocitários naturais (Owens, Snipes, Magdesian, & Christopher, 2008).

Os grupos sanguíneos são moléculas (proteínas e glicoproteínas) na superfície dos eritrócitos que podem apresentar estruturas homogêneas ou heterogêneas, alterando o polimorfismo genético de indivíduos da mesma espécie numa população (Magdesian, 2017). Essas proteínas são herdadas dos progenitores à sua descendência e funcionam como antigénios (Ag) específicos na superfície dos eritrócitos estimulando uma resposta imunológica e consequente desenvolvimento de Ac específicos direcionados contra os Ag eritrocitários, como ocorre no caso de IN (Tocci & Ewing, 2009).

Os equinos apresentam 8 grupos diferentes de células sanguíneas, identificados com letras maiúsculas, sendo eles os grupos A, C, D, K, P, Q, U e T (Mudge & Williams, 2016), mas apenas os 7 primeiros grupos sanguíneos ou sistemas são reconhecidas pela “*International Society for Animal Blood Group Research*”. O oitavo grupo (T) tem apenas interesse em investigação (Magdesian, 2017).

Estes grupos sanguíneos correspondem a uma codificação de um gene específico para o Ag, em que cada gene apresenta dois ou mais alelos diferentes (Magdesian, 2017) que codificam os locais antigénicos na superfície dos eritrócitos definidos como fatores e identificados com letras minúsculas (Hart, 2011), que controlam a herança e expressão genética dos Ag eritrocitários (MacLeay, 2001).

A sua complexidade está associada à presença de 34 fatores sanguíneos diferentes dentro dos 7 grupos reconhecidos (Hart, 2011), em que cada sistema pode apresentar 1 (C, K e U) a 15 fatores (D) (Casenave, Leclere, Beauchamp, & Blais, 2019), o que permite mais de 400.000 combinações fenotípicas eritrocitárias diferentes (Magdesian, 2017) e, por esse motivo, não se pode afirmar que existe um verdadeiro “dador universal” (Mudge & Williams, 2016), pelo que a probabilidade de 2 cavalos da mesma raça, sem relação, apresentarem o mesmo tipo sanguíneo é inferior a 1 em 100.000 (Casenave et al., 2019).

Na IN e em medicina de transfusão de equinos é de extrema importância saber que o fator Aa do sistema A e o fator Qa do sistema Q são os mais relatados na ocorrência de IN e reações de transfusão (Dunkel, 2018), uma vez que são os fatores mais imunogénicos, ocorrendo em 90% dos casos (Sprayberry, 2003), embora também existam relatados casos de IN com os fatores Ab, Qb, Qc, Qrs, Da, Db, Dc, Dg, Ka, Pa e Ua (Jackson, 2013).

Embora, e como referido anteriormente, os equinos não apresentam Ac eritrocitários de ocorrência natural, os reportados apresentam como exceção aloanticorpos contra o fator antigénico Ca (Tomlinson, Taberner, Boston, Owens, & Nolen-Walston, 2015). Este aspeto é relevante no caso de IN, uma vez que, embora pouco compreendido, mesmo quando existe ausência do fator Ca, mas presença de aloanticorpos naturais anti-Ca, em vez de gerar uma resposta patológica, estes podem gerar uma resposta protetora de imunossupressão mediada por Ac que previnem a indução de aloanticorpos contra Ag de grupos sanguíneos (Luethy et al., 2016). Outros autores, também corroboram esta hipótese, referindo que os Ac anti-Ca são geralmente encontrados em titulações mais elevadas do que os Ac anti-Aa ou anti-Qa (Giguère & Polkes, 2005) ocorrendo resposta protetora contra a indução de Ac anti-Aa e anti-Qa em éguas negativas aos fatores antigénicos, mas que possuem aloanticorpos

naturais Ca, gerando uma resposta imunossupressora mediada por Ac (Giguère & Polkes, 2005; Lunn, Hannant, & Horohov, 1998).

Em termos práticos, e uma vez que a patogenia de IN engloba genericamente éguas negativas a fatores sanguíneos e garanhões positivos aos mesmos fatores que transmitem essa herança aos poldros (Sandberg & Gothran, 2000), são vários os testes que se podem realizar para a detecção dessas incompatibilidades.

A importância na criação de cavalos leva a que, Bowling (1985), refira que alguns países requeriam que os passaportes de equinos incluíssem informações sobre o tipo sanguíneo (Bowling, 1985). A tipificação sanguínea ou serotipificação era antigamente usada como teste de paternidade (Sandberg & Gothran, 2000), mas com a evolução e desenvolvimento da genotipagem de ADN, esse método entrou em desuso (Mudge & Williams, 2016).

Atualmente a serotipificação tem como base a pesquisa de Ag de superfície de eritrócitos, grupos e fatores (Magdesian, 2017), sendo usada para identificar grupos sanguíneos de indivíduos (Luethy et al., 2016) de modo a diminuir o risco de transfusões sanguíneas entre dadores e recetores incompatíveis e testar incompatibilidades entre cruzamentos de éguas e garanhões que possam provocar sensibilização materna e posterior desenvolvimento de Ac anti-eritrócitos e deste modo potenciar IN, necessitando, portanto, de vários reagentes específicos (Magdesian, 2017), requerendo laboratórios de medicina veterinária especializados (Hart, 2011). Atualmente são pesquisados os fatores A (a,b,c), Ca, Ka, P (a,b), Q (a,b,c) e Ua (Felippe, 2017).

4. Isoeritrólise Neonatal

Os estudos populacionais referem que cerca de 14% dos poldros podem apresentar incompatibilidades de grupos sanguíneos com as éguas (Giguère & Polkes, 2005; Jackson, 2013; McKenzie III, 2018). Na realidade, o número de casos é bastante inferior, ocorrendo em aproximadamente 1-2% das gestações de equinos (MacLeay, 2001; Mudge & Williams, 2016), sendo que os relatos mais frequentes são de casos e dados estatísticos em cavalos de raças Puro-Sangue Inglês e Trotador Americano (Giguère & Polkes, 2005; Jackson, 2013; McKenzie III, 2018).

A Isoeritrólise Neonatal é uma anemia hemolítica aloimune (AHIM primária) (Meindel & Wilkerson, 2015), adquirida (Felippe, 2017), considerada uma reação de hipersensibilidade do tipo II, em que ocorre uma resposta de Ac IgG maternos contra Ag de superfície celular nos eritrócitos do poldro (Mealey & Long, 2018), neste caso, em específico contra epitopos eritrocitários normais herdados do garanhão pelo poldro e que a égua não possui (Meindel & Wilkerson, 2015). Esta reação resulta na remoção de circulação através do sistema reticuloendotelial (SRE) ou lise dos eritrócitos por ativação do sistema de complemento (Mealey & Long, 2018), resultando em hemólise extravascular ou intravascular, respetivamente (Meindel & Wilkerson, 2015), imediatamente após a transferência passiva total ou parcial de aloanticorpos maternos colostrais (Felippe, 2017).

Como descrito anteriormente, a maioria dos casos clínicos reportados, cerca de 90% (McCue, 2014) pertencem aos fatores Aa e/ou Qa, referidos como os mais imunogênicos (Toribio & Mudge, 2013), fortemente hemolíticos (Sprayberry, 2003), e os causadores de uma apresentação clínica mais severa nos poldros (Knottenbelt et al., 2004a), embora outros fatores, tenham sido referenciados na literatura (Zaruby, Hearn, & Colling, 1992).

Clinicamente, a IN é a causa mais relatada de icterícia e anemia em poldros recém-nascidos (Wong & Brockus, 2015), com taxas de sobrevivência dependentes da observação e detecção precoce dos sinais, com tratamento menos agressivo e sem complicações secundárias, mas alguns estudos reportam taxas de mortalidade de aproximadamente 25% (Finding & McSloy, 2011) decorrentes de tratamentos com transfusões sanguíneas (Elfenbein et al., 2010). De um modo geral os poldros doentes não críticos apresentam taxas de sobrevivência que rodam os 75 a 95%, com terapia médica e de suporte adequadas (Orsini, 2011).

4.1. Fisiopatogenia

Para que a IN ocorra, é necessário que estejam presentes um conjunto de fatores (Sellon, 2006), tendo como base uma incompatibilidade de grupos sanguíneos entre o poldro e a progenitora (Wong & Brockus, 2015).

Primariamente, as éguas devem ser geneticamente negativas a fatores de grupos sanguíneos (Knottenbelt et al., 2004a), os garanhões positivos a esses fatores e os poldros devem herdar esses fatores do garanhão (Felippe, 2017). No caso de uma égua ser positiva a esses fatores e o garanhão negativo não existe risco de doença (Felippe, 2017).

Em seguida, tem de ocorrer uma sensibilização do sistema imunitário da égua para os fatores que não possui (Hurcombe, 2020), tal como referido anteriormente nas condições maternas e fetais, para que ocorra uma produção de Ac anti-eritrócitos do poldro e deste modo gerar uma concentração no colostro passível de causar doença (Wong & Brockus, 2015).

Por último, o poldro, que herda os fatores sanguíneos paternos e que a égua não possui, tem de ingerir colostro com Ac (Divers, 2016), que ao serem absorvidos para a circulação ligam-se aos seus Ag eritrocitários (Galvin, 2008) resultando numa aglutinação com remoção pelo SRE, ao nível do baço ou fígado (Peek, 2015), ou hemólise intravascular por ativação do complemento (Stoneham & Munroe, 2011) promovendo a destruição dos eritrócitos (Lording, 2008) e conseqüente anemia (Hurcombe, 2020).

4.2. Sinais clínicos

Nascendo normalmente saudáveis, os poldros manifestam sinais clínicos só após a ingestão do colostro materno (Madigan, 2013), resultando em hemólise intravascular e/ou extravascular (Galvin, 2008) com diferentes graus (Wong & Brockus, 2015). O início e severidade dos sinais clínicos dependem da quantidade de Ac ingeridos (McCue, 2014), isto é, da eficácia da transferência de imunidade passiva (Stoneham & Munroe, 2011) e do tipo de Ac, sendo aqueles que ativam a fixação de complemento e conseqüente hemólise intravascular, os mais severos e rápidos (Corley, 2011), tendo sido descritos os fatores Aa e Qa (Stoneham & Munroe, 2011), resultando numa variação da taxa e severidade de destruição de eritrócitos (Galvin, 2008).

Os sinais clínicos estão então associados com a severidade da anemia e rapidez da hemólise (Jackson, 2013), podendo ser clinicamente aparentes entre horas a dias após o nascimento (Divers, 2016), tendo sido descritos casos severos tão cedo como entre as 6 e 12 horas de idade (Galvin, 2008), como casos ligeiros aos 7 dias de idade (Carr, 2014). Contudo, num estudo retrospectivo, foi sugerido que o intervalo possa durar até aos 12 dias de idade em casos de sinais subclínicos ou subtis e que só mais tarde se tornam evidentes (Boyle, Magdesian, & Ruby, 2005). Jackson (2013) também refere um intervalo de 5 horas a 12 dias de idade, mas por norma os sinais são observáveis entre as 12 a 48 horas de idade.

De referir que a IN pode apresentar quadros subclínicos ou ligeiros e, deste modo, nunca serem diagnosticados (MacLeay, 2001). Por outro lado, quadros hiperagudos, com desenvolvimento entre as 12 e as 18 horas de vida, geralmente causados pelo fator Aa (Munroe & Weese, 2011), são bastante severos e resultam em morte, nunca sendo confirmados (MacLeay, 2001). Também se encontra descrito que a hemólise intravascular, por norma, desenvolve-se em 12 a 48 horas após o nascimento (Lording, 2008) e a morte está associada a complicações como falha hepática relacionada com o volume de sangue transfundido no tratamento, *kernicterus* e complicações decorrentes de septicemia, podendo atingir uma taxa de mortalidade de 25% em poldros tratados (Elfenbein et al., 2010).

De qualquer forma, quanto mais precoce a observação dos sinais, melhores taxas de sobrevivência do poldro, não sendo necessário um tratamento tão agressivo e diminuindo a ocorrência de complicações que possam surgir tanto do decorrer da doença, como do seu tratamento (Elfenbein et al., 2010; Finding & McSloy, 2011).

4.2.1. Exame físico

O exame físico evidencia principalmente icterícia e anemia, sendo que podem ser observados com maior ou menor intensidade em fases diferentes da progressão da doença (Hurcombe, 2020). A palidez das membranas mucosas pode ser observada numa fase hiperaguda (Finding & McSloy, 2011), ocorrendo a morte sem desenvolvimento de icterícia (McKenzie III, 2018), por sua vez a icterícia é mais marcada nos casos em que o início é mais lento (Sellon, 2006), sendo importante referir que os poldros

podem apresentar icterícia fisiológica ou hiperbilirrubinemia neonatal (Axon & Palmer, 2008), geralmente leve e transitória, podendo ser diferenciada da icterícia “patológica” através da concentração de bilirrubina que tende a apresentar ligeiras elevações de bilirrubina direta (conjugada) e total e ser indetetável em 3 a 4 dias após o nascimento. Qualquer persistência ou intensidade é considerado patológico (Knottenbelt et al., 2004a).

Os sinais clínicos podem ser inicialmente subtis e inespecíficos (Stoneham & Munroe, 2011) como letargia progressiva e fraqueza, com aumento do tempo em decúbito; depressão (Archer, 2013); diminuição do vigor em mamar (McCue, 2014); palidez das mucosas; mucosas ictéricas que podem não ser proeminentes antes do segundo dia e tornarem-se progressivamente mais evidentes (Knottenbelt et al., 2004a); bocejar excessivamente (MacLeay, 2001); taquicardia, taquipneia e diminuição da tolerância ao exercício (Knottenbelt et al., 2004a), que são sinais reflexos ao grau de hipóxia resultante da anemia (Peek, 2015). A hemoglobinúria, murmúrio cardíaco sistólico (Sutton & Sellon, 2013) e pulso jugular marcado também são sinais característicos. A hemoglobinúria geralmente surge antes do aparecimento de icterícia (Knottenbelt et al., 2004a).

Em quadros clínicos severos, para além dos sinais anteriores, observam-se apatia; pirécia (Peek, 2015); anorexia parcial (Galvin, 2008); stress respiratório de origem não pulmonar por diminuição da capacidade de transporte de oxigénio (Hines, 2018) como resultado da anemia, que promove hipóxia dos tecidos bem como a dispneia e ocorrência de atividade convulsiva potenciada por deposição de bilirrubina ao nível cerebral (McKenzie III, 2018); colapso cardiovascular (Giguère & Polkes, 2005); inflamação dos tecidos por hipóxia, nomeadamente sistema nervoso central (SNC), trato gastrointestinal e fígado (Divers, 2016) promovendo agravamento do quadro clínico; choque hipovolémico que pode levar à morte por falha multiorgânica (Jackson, 2013); coma e morte (Archer, 2013).

Podem surgir quadros de diarreia e septicémia (Toribio & Mudge, 2013), bem como cólica e melena numa fase tardia (Sellon, 2006), por comprometimento da mucosa intestinal devido a hipóxia/anóxia intestinal severa (Sellon, 2006; Toribio & Mudge, 2013). Por sua vez, quando um poldro apresenta *kernicterus* pode demonstrar letargia, depressão severa, progressão para um estado geral de rigidez, opistótonus, convulsão, coma e morte (Giguère & Polkes, 2005; Divers, 2011, 2016; Felipe, 2017). Outros resultados relatados num caso de IN com *kernicterus* apresentavam disfagia (incoordenação da língua e lábios), vocalização estridente e perda de audição (Aleman, Madigan, Williams, & Holliday, 2014; Aleman, Nout-Lomas, & Reed, 2018).

4.2.2. Resultados laboratoriais

As principais alterações observadas são evidenciadas pela presença de anemia com diminuição do hematócrito (HTC), diminuição da contagem eritrocitária e diminuição da concentração de hemoglobina (Hurcombe, 2020), pelo que a severidade da hemólise pode levar à diminuição da taxa do HTC (Boyle et al., 2005). Sutton & Sellon (2013) referem que, para além dos parâmetros acima

mencionados, a concentração de hemoglobina deve ser aproximadamente um terço do HTC, sendo que esta relação estará aumentada numa hemólise intravascular.

Podem também ser observados outros resultados, que correspondem a relatos de casos únicos ou a avaliações de grupos de estudo, nomeadamente, leucograma de stress (linfopenia com neutrofilia) (MacLeay, 2001); leucograma fisiológico (leucocitose com neutrofilia) (Axon & Palmer, 2008); neutrofilia ou neutropenia; trombocitopenia (Axon & Palmer, 2008; Finding & McSloy, 2011); trombocitose ligeira (Hurcombe, 2020); anemia regenerativa, que indica uma causa extramedular (hemólise ou hemorragia) (Lording, 2008), evidenciada por valores elevados de volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), bem como valores baixos de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (Zaruby, et al., 1992; Lording, 2008).

A presença de hemoglobinemia e hemoglobinuria é frequentemente relatada (Knottenbelt et al., 2004a; Hurcombe, 2020) devido à hemólise intravascular com libertação de hemoglobina ao nível do plasma (aumento de CHCM), ocorrendo ligação com a haptoglobina livre no plasma, sendo este complexo removido pelo SRE, em particular no fígado. Com a saturação da ligação à haptoglobina, ocorre um aumento da concentração de hemoglobina livre em circulação – hemoglobinemia. A hemoglobina livre vai então ser filtrada nos glomérulos renais e reabsorvida nos túbulos proximais onde é catabolizada; mas quando a capacidade de reabsorção não acompanha a quantidade de hemoglobina livre vai resultar em hemoglobinuria, que potencia nefrotoxicidade, pois a hemoglobina pode causar vasoconstrição renal, necrose tubular e falha renal por hipoperfusão renal (Galvin, 2008; Sutton & Sellon, 2013; Toribio & Mudge, 2013; Peek, 2015).

Por sua vez, a hemólise extravascular relatada como a forma mais comum, embora geralmente ocorram os dois tipos de hemólise (Galvin, 2008), está associada a sinais como icterícia, hiperbilirrubinemia e bilirrubinuria (Axon & Palmer, 2008; Jackson, 2013). De notar que tanto na hemólise extravascular como intravascular teremos aumento das concentrações séricas de bilirrubina indireta (não conjugada) (Sutton & Sellon, 2013; Divers & Barton, 2018).

A bilirrubina é um produto normal da degradação da hemoglobina (Knottenbelt et al., 2004a) derivado do catabolismo dos eritrócitos com produção de biliverdina (Loynachan, Williams, & Freestone, 2007). A porção “*heme*” da hemoglobina é convertida enzimaticamente em biliverdina e depois catabolizada por macrófagos para bilirrubina indireta (Loynachan et al., 2007; Sutton & Sellon, 2013), apresentando normalmente concentrações mais elevadas na primeira semana de vida dos poldros (Axon & Palmer, 2008; Johnson, Gilsenan, & Palmer, 2012). Como a bilirrubina indireta é lipossolúvel (Divers, 2011), quando é libertada para a corrente sanguínea, necessita de ser transportada para o fígado através de ligações a proteínas, nomeadamente à albumina plasmática (Loynachan et al., 2007; Sutton & Sellon, 2013). Ao nível dos hepatócitos, ocorre conjugação da bilirrubina indireta com o ácido glucurónico, formando uma molécula não tóxica, com posterior libertação e excreção pelos ductos biliares, via biliar, para o duodeno (Loynachan et al., 2007; Bergero & Nery, 2008; Sutton & Sellon, 2013), sendo estes os principais responsáveis pelo transporte desses produtos (Bergero & Nery, 2008). Quando a capacidade de captação e conjugação ao nível do fígado é excedida (Axon & Palmer, 2008; Bergero & Nery, 2008), bem como saturação dos recetores de

proteínas plasmáticas (Loynachan et al., 2007; Divers, 2011), em conjunto com a hipóxia pela anemia e sobrecarga de ferro, ocorre a lesão hepatocelular (Koch, Knight, & Weese, 2011; McKenzie III, 2018), da qual surge hiperbilirrubinémia, com especial aumento da concentração da fração indireta, embora também se encontre relatado aumento da concentração de bilirrubina direta associada a lesão hepática secundária (McKenzie III, 2018). A bilirrubina indireta uma vez aumentada em circulação e pelo seu caráter insolúvel em água, pode entrar para diferentes tipos de células e assim aparecer a alteração de cor (Loynachan et al., 2007).

Em termos urinários, o complexo bilirrubina-proteína é retido ao nível dos glomérulos renais, não sendo permitido passar para a urina (Knottenbelt et al., 2004a), mas em excesso e promovendo lesões renais, causa a libertação de bilirrubina pela urina (bilirrubinúria) (Bergero & Nery, 2008). Por sua vez quando atravessa a barreira hematoencefálica (BHE), a fração indireta promove neurotoxicidade ao nível do SNC (Loynachan et al., 2007; Koch et al., 2011).

Geralmente, a hemoglobinúria está presente em casos hiperagudos/agudos com coloração avermelhada/escurecida (Figura 3-A) e a bilirrubinúria em casos crônicos com coloração acastanhada (Figura 3-B) (Divers, 2014).

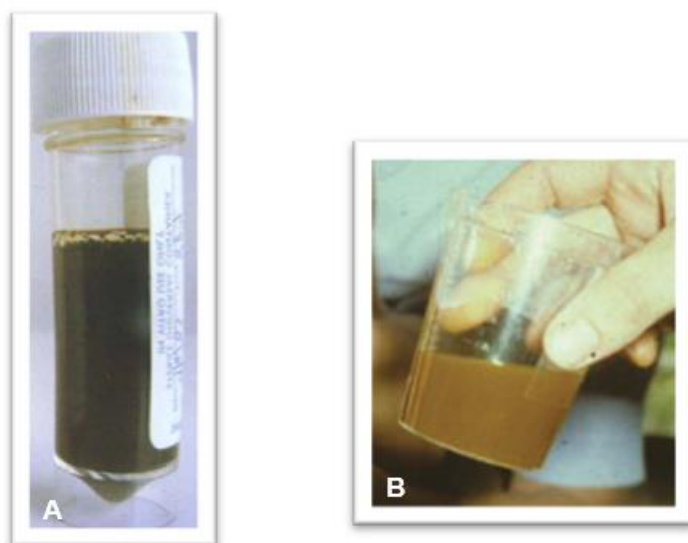


Figura 3 – Diferenças de coloração entre hemoglobinúria e bilirrubinúria. A) Hemoglobinúria num caso hiperagudo de um poldro de 6 dias de idade com Isoeritrólise Neonatal. Adaptado de: (Hess-Dudan, 1994); B) Bilirrubinúria num poldro em recuperação de Isoeritrólise Neonatal, mas com posterior desenvolvimento de falha hepática. Adaptado de: (Divers, 2008).

Relativamente às enzimas hepáticas, vários autores descrevem que os efeitos ao nível hepatocelular, pelos motivos referidos anteriormente, bem como a elevada atividade a esse nível, promovem aumento da atividade de aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina sérica (ALP/FAS), sorbitol desidrogenase (SDH) e gamma glutamiltransferase (GGT), que podem ser usados como indicadores de prognóstico (Hess-Dudan, 1994; Knottenbelt et al., 2004a; Boyle et al., 2005; Giguère & Polkes, 2005; Axon & Palmer, 2008; Polkes, Giguère, Lester, & Bain, 2008; Finding & McSloy, 2011; Orsini, 2011; McKenzie III, 2018). McKenzie III (2018) refere que poldros com HTC baixos tendem a apresentar valores de SDH mais elevados, o que sugere presença de lesão hepática.

Geralmente, o aumento dos ácidos biliares acompanha o aumento das enzimas hepáticas (Axon & Palmer, 2008), sendo sintetizados a partir do colesterol nos hepatócitos. Os ácidos biliares primários não degradados por bactérias intestinais e secundários, através da circulação enterohepática, são absorvidos no intestino delgado e transportados para o fígado, via veia porta para nova excreção na bÍlis. O fígado é a única fonte de síntese de ácidos biliares, sendo o aumento dessa concentração indicador de lesão hepática (Barton & LeRoy, 2007).

Os poldros também podem apresentar normoproteinémia (Axon & Palmer, 2008), embora também estejam relatados casos de hipoproteinémia (Boyle et al., 2005); a análise de gasometria venosa demonstra diminuição da concentração e saturação do oxigénio venoso (Divers, 2016) por aumento da extração de oxigénio ao nível dos tecidos; acidose láctica que leva a acidose metabólica provocada pelo metabolismo anaeróbio dos tecidos (hipóxia tecidual), promovendo um aumento da concentração sérica de lactato (McKenzie III, 2018) e aumento do gap aniónico (Sprayberry, 2003). Por esse motivo, a hiperlactatémia é um indicador de hipóxia tecidual e hipoperfusão de órgãos, permitindo uma medição da oxigenação sistémica e avaliação dos principais sistemas corporais (Giguère & Polkes, 2005; Orsini, 2011; Corley & Jokisalo, 2015; Wong & Brockus, 2015), sendo o cálculo do gap aniónico, em conjunto, uma indicação para o aumento do metabolismo anaeróbio (Sprayberry, 2003); hipoglicémia, relatada secundariamente a casos de *kernicterus* (Tan et al., 2005; Loynachan et al., 2007; Divers, 2011) e que promove, aquando de anemia ou hipóxia, um aumento da neurotoxicidade por bilirrubina (Divers, 2011).

Outros resultados também referidos são o aumento da amónia, emparelhada com um aumento das enzimas hepáticas e ácidos biliares. Embora descritos como incomuns (Giguère & Polkes, 2005), podem estar associados a hepatopatia tóxica por hemólise severa ou necrose hepatocelular por hipóxia (Axon & Palmer, 2008; Polkes et al., 2008); hipercalemia; aumento da creatina quinase (CK) (Tan et al., 2005) por decúbito prolongado ou convulsões (Axon & Palmer, 2008); hiperlipémia, que embora rara em neonatos, pode surgir de uma forma aguda, como resultado fisiológico de balanço energético negativo e falha hepática, diminuindo a metabolização dos lípidos circulantes e acumulação de triglicéridos em circulação (Tan et al., 2005; Divers & Barton, 2018).

A azotémia é descrita (Giguère & Polkes, 2005; Felipe, 2017) em resultado de lesão tubular renal por hipóxia ou efeitos nefrotóxicos da hemoglobina (Sprayberry, 2003; Giguère & Polkes, 2005); aumento da concentração sérica de creatinina pode surgir por falha na perfusão renal ou nefropatia (Corley & Jokisalo, 2015), referindo que um aumento nas primeiras horas de vida é fisiológico, mas

rapidamente retornam aos valores normais que se inserem nos intervalos de referência de adultos (Axon & Palmer, 2008; Corley & Jokisalo, 2015), não sendo por isso um bom indicador da função renal (Morresey, 2005).

Os poldros também podem apresentar proteinúria transitória fisiológica nas primeiras 24 horas de idade, devido a absorção inespecífica de proteínas de baixo peso molecular para o sangue (Stoneham, 2006). Corley (2014) refere que em IN, os poldros, geralmente não são hipovolêmicos a menos que a sua debilidade os impeça de mamar por 4 horas ou mais (Corley, 2014). MacLeay (2001) refere ainda, que a desidratação aumenta a carga de hemoglobina renal e em conjunto com a hipoperfusão pode levar a falha renal aguda.

4.2.3. Complicações secundárias

Os principais resultados anatomopatológicos estão na sua maioria associados a complicações secundárias decorrentes de IN e dos seus tratamentos, sendo importante referi-las.

A IN apresenta como complicações secundárias a falha renal, isquémia cerebral, hipóxia cerebral e/ou *kernicterus* com sequelas neurológicas, falha hepática e complicações decorrentes de septicémia (Giguère & Polkes, 2005; Tan et al., 2005; Sellon, 2006; Elfenbein et al., 2010; Jackson, 2013; Hurcombe, 2020).

As principais condições abaixo descritas são consideradas como ocorrências esporádicas ou mesmo raras, mas quando presentes são as principais causas de morte (Divers & Perkins, 2003; Polkes et al., 2008; Corley, 2011; Divers, 2011, 2014; Koch et al., 2011; Johnson et al., 2012).

A falha hepática surge associada a anemia e hipóxia, mas quando secundária a IN após hemólise severa, embora de etiologia pouco conhecida (Finding & McSloy, 2011; Koch et al., 2011; Wong & Brockus, 2015; Mair & Divers, 2017), pensa-se que resulta de hipóxia crónica e/ou toxicidade ao ferro, associada a acumulação de bilirrubina com aumento da fração conjugada e sobrecarga na concentração de ferro ao nível do fígado secundária a administração de concentrado de eritrócitos, em poldros que requerem transfusões sanguíneas, promovendo lesão hepatocelular e estase biliar (Divers, 2008; Finding & McSloy, 2011; Divers, 2014; Wong & Brockus, 2015; Davis, 2017; Divers & Barton, 2018; McKenzie III, 2018).

É por esse motivo que a probabilidade de ocorrência de falha hepática e *kernicterus* (por aumento da bilirrubina), em poldros com HTC muito baixo e que requerem transfusões, é bastante elevada, estando descrita uma forte correlação entre o volume de sangue administrado e a probabilidade da ocorrência dessas complicações (Elfenbein et al., 2010; Jackson, 2013; Mair & Divers, 2017).

Kernicterus, apresenta como sinónimos “Síndrome de Encefalopatia Bilirrubinémica” (Johnson et al., 2012), “Encefalopatia por Bilirrubina” (Felippe, 2017) ou “Icterícia Nuclear” (Loynachan et al., 2007), e tal como “Eritroblastose Fetal”, também ocorre em bebés causando uma disfunção neurológica

(Sellon, 2006), encontrando-se comparada na literatura com a ocorrência em poldros neonatos (Giguère & Polkes, 2005; Loynachan et al., 2007; Koch et al., 2011).

Esta condição em poldros é referida que embora rara (Loynachan et al., 2007; Corley, 2011; Divers, 2011; Koch et al., 2011; Johnson et al., 2012), apenas se encontra relatada como sequela de IN associada a elevados níveis de bilirrubina (Giguère & Polkes, 2005; Sellon, 2006; Polkes et al., 2008; Divers, 2011; Koch et al., 2011), embora nem todos os poldros com hiperbilirrubinemia severa apresentem desenvolvimento de *kernicterus* (Giguère & Polkes, 2005).

É definida como uma síndrome ou distúrbio neurológico (Loynachan et al., 2007; Wong & Brockus, 2015), potencialmente fatal (Loynachan et al., 2007), com alteração do estado mental e atividade convulsiva (Wong & Brockus, 2015), que podem causar disfunções cerebrais irreversíveis (Aleman et al., 2014; Broux et al., 2015; McKenzie III, 2018), como resultado dos efeitos neurotóxicos da deposição de bilirrubina indireta ao nível do SNC (Loynachan et al., 2007; Wong & Brockus, 2015), nomeadamente com necrose ao nível da matéria cinzenta do cérebro (Felippe, 2017).

A bilirrubina indireta, pela sua propriedade lipossolúvel (Divers, 2011), tem a capacidade de atravessar a BHE (McKenzie III, 2018), uma vez que os neonatos apresentam uma barreira mais permeável e subdesenvolvida (Wong & Brockus, 2015; McKenzie III, 2018), e assim, ao entrar nos neurónios, promove a ocorrência de degenerescência, apoptose e/ou necrose (Loynachan et al., 2007; Wong & Brockus, 2015).

Estão relatados como fatores de risco para a ocorrência de *kernicterus* as concentrações de bilirrubina total superiores a 20 mg/dL (Hurcombe, 2020), sendo referido por Polkes et al. (2008) que as concentrações séricas máximas de bilirrubina total, num estudo em poldros com diagnóstico definitivo, variou entre 19 a 41 mg/dL. Outros fatores de risco incluem anemia, acidose, septicémia, hipoalbuminémia, hipoglicémia e hipóxia (Sellon, 2006; Divers, 2011; Koch et al., 2011).

Os poldros que apresentem os fatores de risco anteriores, bem como os sinais clínicos anteriormente referidos, são considerados alertas (Giguère & Polkes, 2005; Divers, 2011; Felippe, 2017). Está descrito que as convulsões são inicialmente observadas na cabeça, e geralmente caracterizadas por nistagmus, com ou sem atividade de deglutição, podendo estar associada a opistótonus, movimentos anormais da mandíbula, e membros espásticos ou movimento de pedalar (Corley & Jokisalo, 2015). Aleman et al. (2014) refere um caso de um poldro com hiperbilirrubinemia marcada e que apresentou picos não identificáveis de “respostas auditivas suscitadas pelo tronco cerebral” (BAER – “*Brainstem auditory evoked responses*”), pelo que o poldro foi diagnosticado com IN e *kernicterus*, considerada a causa de surdez. O mesmo autor também refere que as anomalias permanentes mais frequentes para esta condição são as disfunções motoras, cognitivas ou auditivas, compatível com o caso em estudo.

4.2.4 Resultados anatomopatológicos

Os resultados a seguir referidos podem ser encontrados na literatura como achados clássicos, ou associados a casos relatados de poldros com IN e complicações secundárias.

Hurcombe (2020) refere que os poldros que morrem de forma aguda apresentam palidez e icterícia generalizada, mas se morrerem uns dias mais tarde, só é possível observar icterícia (Figura 4).

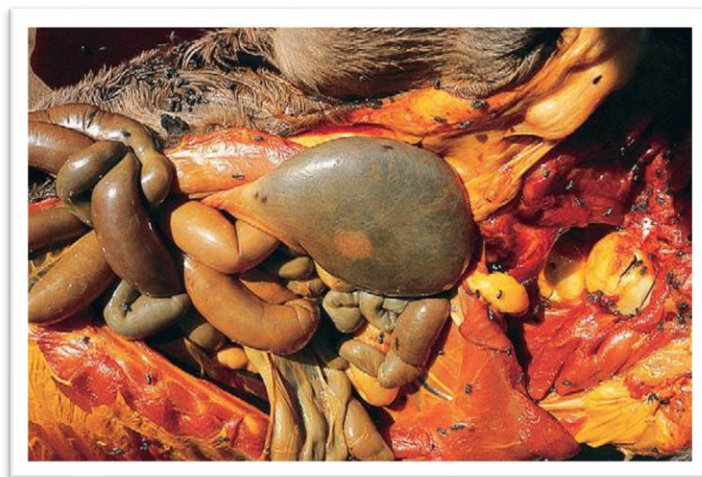


Figura 4 – Icterícia generalizada. Observação de icterícia severa generalizada num exame *post-mortem*. Adaptado de: (Knottenbelt et al., 2004a).

Em geral estes resultados são encontrados *post-mortem*, embora esteja relatado que em casos de IN com falha hepática secundária, a ultrassonografia e a biópsia hepática foram os métodos usados como auxiliares de diagnóstico (Divers, 2008; Mair & Divers, 2017).

À necrópsia é possível observar ao nível renal uma nefropatia pigmentária relacionada com nefrose hemoglobinúrica pelos efeitos nefrotóxicos da hemoglobina (

Figura 5, pág. 22) (Sprayberry, 2003; Boyle et al., 2005; Corley, 2011; Toribio & Mudge, 2013; McKenzie III, 2018; Hurcombe, 2020).

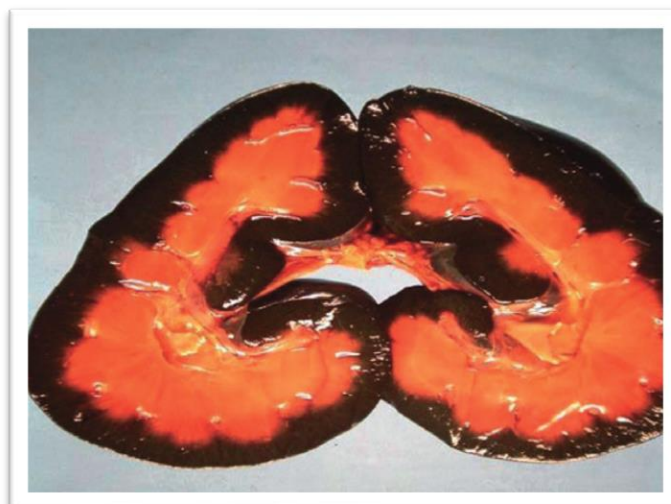


Figura 5 – Nefrose pigmentária. Rim de um poldro com Isoeritrólise Neonatal. Córtex vermelho intenso da hemólise e medula amarela da icterícia. Adaptado de: (Buergelt & Del Piero, 2014).

Ao nível do fígado os relatos são maioritariamente histológicos, compatíveis com disfunção hepática e necrose hepatocelular com extensa proliferação biliar (Loynachan et al., 2007; Wong & Brockus, 2015; Divers & Barton, 2018); desorganização da arquitetura lobular periférica (Polkes et al., 2008; Wong & Brockus, 2015); elevado número de células de *Kupffer* e hepatócitos com deposição de pigmento granular castanho-dourado (hemossiderina) (Polkes et al., 2008; Wong & Brockus, 2015). Sendo assim, teremos hemossiderose difusa e hiperplasia das células de *Kupffer*, compatível com hemólise massiva, captação e absorção de ferro ao nível hepático (Boyle et al., 2005; Loynachan et al., 2007; Finding & McSloy, 2011). Também é relatado hiperplasia dos ductos biliares (Boyle et al., 2005; Finding & McSloy, 2011); distensão dos canaliculos biliares preenchidos com pigmentos biliares e vários graus de fibrose portal (Polkes et al., 2008; Wong & Brockus, 2015).

Boyle et al. (2005) reporta casos específicos, permitindo a obtenção de uma comparação de resultados. Um poldro apresentava necrose hepática multifocal e hepatite neutrofílica com colapso lobular, hiperplasia do ducto biliar e fibrose. O segundo poldro apresentava hemossiderose difusa severa com necrose hepatocelular multifocal e hiperplasia do ducto biliar. Já Polkes et al. (2008) refere que 7 poldros do seu estudo apresentavam, em algumas áreas e lóbulos portais, infiltrações multifocais com neutrófilos, linfócitos e células mononucleares.

Outros autores ainda descrevem ao nível do baço, evidências de esplenomegália (Knottenbelt et al., 2004a; Loynachan et al., 2007; Hurcombe, 2020), hemossiderose severa ou alterações degenerativas (Boyle et al., 2005); atrofia do timo (Boyle et al., 2005) e hipoplasia da medula óssea (Boyle et al., 2005; Hurcombe, 2020).

No caso específico de *Kernicterus*, histologicamente pode apresentar diferentes graus de degenerescência neuronal multifocal e necrose de áreas específicas da matéria cinzenta cerebral (Giguère & Polkes, 2005). É também referida perda visível de células de *Purkinje* e as presentes apresentam necrose e bordos variavelmente angulares, intensamente acidófilos e núcleos picnóticos (Loynachan et al., 2007; Polkes et al., 2008). As células granulares cerebelares apresentam quantidades variadas de pigmento amarelo-dourado intracitoplasmático, astrócitos cerebrais tumefactos, com núcleo vesicular e deslocamento periférico de cromatina, compatível com células *Alzheimer* tipo II (Loynachan et al., 2007), também descritas em casos de encefalopatia hepática (Polkes et al., 2008).

4.3. Sistemas afetados e diagnósticos diferenciais

Através dos sinais clínicos e segundo Hurcombe (2020) verifica-se afeção nos sistemas hematológico, linfático e imunitário, renal, cardiovascular, nervoso e hepático.

Os diagnósticos diferenciais descritos são, então, hemorragia interna (Knottenbelt et al., 2004a), hemotórax, hemoperitoneu (Galvin, 2008); coagulação intravascular disseminada (Tan et al., 2005); trauma a remanescência umbilical interna ou externa (Galvin, 2008); síndrome de piroplasmose neonatal (Knottenbelt et al., 2004a; Stoneham & Munroe, 2011; Hurcombe, 2020); doença hepática ou biliar, incluindo doença de *Tyzzler* (*Clostridium piliformis*), disfunção hepática por falha multiorgânica resultando em septicemia, hepatite/colangite (bacteriana ou vírica, ou malformações congénitas), atresia ou disfunção biliar, hepatopatia tóxica por material tóxico ou induzida pela administração de fármacos (Durham, 1997; Knottenbelt et al., 2004a; Galvin, 2008; Stoneham & Munroe, 2011; Magdesian, 2014; Hurcombe, 2020); septicemia neonatal (Knottenbelt et al., 2004a; Tan et al., 2005; Galvin, 2008; Stoneham & Munroe, 2011; Hurcombe, 2020); síndrome de mau ajustamento neonatal ("*Dummy Foal Syndrome*") (Hurcombe, 2020); síndrome de asfixia perinatal (Tan et al., 2005; Galvin, 2008); infeção perinatal por herpesvírus equino tipo 1 (HVE1) (Tan et al., 2005; Galvin, 2008; Magdesian, 2014); problemas cardiovasculares ou respiratórios congénitos (Knottenbelt et al., 2004a); icterícia fisiológica (Durham, 1997); empactação/retenção de mecónio (mecónio é rico em bilirrubina) (Knottenbelt et al., 2004a; Magdesian, 2014).

4.4. Diagnóstico e métodos complementares de diagnóstico

O diagnóstico em muitos casos é apenas presuntivo, através da história pregressa, evidências de ingestão de colostro, idade, sinais clínicos e resultados laboratoriais (Durham, 1997; Knottenbelt et al., 2004a; Galvin, 2008; Stoneham & Munroe, 2011; Jackson, 2013; McKenzie III, 2018; Wong & Sponseller, 2018).

Um diagnóstico definitivo requer a demonstração de Ac anti-eritrócitos maternos aderidos à superfície dos eritrócitos do poldro através de testes hemolíticos ou de aglutinação (de Graaf-Roelfsema, Boerma, van Haeringen, & Van Der Kolk, 2007; Galvin, 2008; Felipe, 2017).

De referir que os aloanticorpos antigénicos equinos apresentam-se como aglutinantes, hemolíticos (Qa) ou ambos (Aa e Ca), assim os métodos laboratoriais vão demonstrar tanto aglutinação como hemólise dos eritrócitos como resultado final (de Graaf-Roelfsema et al., 2007; Felipe, 2017; McKenzie III, 2018), mas o facto dos Ac responsáveis por IN atuarem mais como hemolisinas do que aglutininas (Durham, 1996; de Graaf-Roelfsema et al., 2007; Jackson, 2013) pode levar a resultados não fiáveis (Owens et al., 2008).

Como métodos preferenciais estão descritos as provas cruzadas (testes de *crossmatching*) hemolíticas e de aglutinação, o teste de aglutinação do poldro ictérico (“*Jaundice Foal Agglutination*” Test – JFA) e teste antiglobulina direto (teste de *Coomb’s*) (Sandberg & Gothran, 2000; Jackson, 2013; Mudge & Williams, 2016; Davis, 2017; McKenzie III, 2018; Wong & Sponseller, 2018). Em anexo encontram-se alguns procedimentos protocolados.

Quase todos os métodos usados como diagnóstico podem ser usados na prevenção de IN, ainda que em tempos diferentes, por esse motivo serão apenas aqui descritos os que não apresentam impacto na prevenção.

O teste antiglobulina direto vai detetar Ac e/ou complemento na superfície dos eritrócitos (Wardrop, 2005). Para isso, são incubados eritrócitos lavados do poldro com um reagente (Felipe, 2017) antiglobulina espécie-específico (Wardrop, 2005) (anti-soros de equinos) (Meindel & Wilkerson, 2015). No caso de aglutinação, resultado final (Wardrop, 2005), é confirmada a presença de Ac anti-eritrócitos (Knottenbelt et al., 2004a; Finding & McSloy, 2011; Felipe, 2017), mas embora este resultado suporte o diagnóstico (Mealey & Long, 2018; Wong & Sponseller, 2018), é inespecífico para este (Hess-Dudan, 1994; Giguère & Polkes, 2005; Stoneham & Munroe, 2011; Divers, 2016; Felipe, 2017; Wong & Sponseller, 2018) pois não especifica o Ac anti-eritrocitário materno (Galvin, 2008; Felipe, 2017), indicando doença imunomediada (Hess-Dudan, 1994) e sugerindo uma incompatibilidade sanguínea (Divers, 2016). Este teste é útil no diagnóstico de AHIM e reações de transfusões (Wardrop, 2005; Meindel & Wilkerson, 2015; Divers, 2016).

Também se encontra descrito que não apresenta sensibilidade (McKenzie III, 2018), pois ocorrem falsos negativos (Knottenbelt et al., 2004a; Stoneham & Munroe, 2011) por baixa concentração sérica de Ac anti-eritrócitos não havendo ligação e conseqüente aglutinação, ou excesso de Ag eritrocitários prevenindo uma aglutinação óbvia (Felipe, 2017) ou ainda porque os Ac mais frequentemente envolvidos serem hemolíticos e não serem detetados por aglutinação (Finding & McSloy, 2011), assim não é considerado um teste fiável (Giguère & Polkes, 2005), embora alguns autores descrevam como método de diagnóstico definitivo (Hess-Dudan, 1994; Durham, 1997; Sellon, 2006), podendo ser válido num caso suspeito associado aos sinais clínicos (Hess-Dudan, 1994; Lording, 2008; Felipe, 2017).

Pode também ser usado como método preventivo a utilização do soro da égua e os eritrócitos do garanhão antes da cobrição para detetar uma possível sensibilização (Lording, 2008) ou o uso do

soro ou colostro da égua (Hurcombe, 2020); mas a presença de Ac não é presuntiva, uma vez que o poldro tem de apresentar os Ag eritrocitários correspondentes (McClure, 2000).

4.5. Prevenção

Citando McKenzie III (2018) “o tratamento mais efetivo para IN é a prevenção”, sendo que Knottenbelt et al. (2004a) ainda refere que é mais fácil evitar do que curar, com uma gestão adequada não existe qualquer risco.

A compreensão da IN, e o conhecimento dos fatores de risco, permitem a sua previsão e deste modo evitar a ocorrência (Sprayberry, 2003; Giguère & Polkes, 2005; Sellon, 2006; de Graaf-Roelfsema et al., 2007; Blackmer, 2010; Finding & McSloy, 2011; Davis, 2017; Felipe, 2017; Hurcombe, 2020). Para isso, as medidas preventivas podem ser divididas em estratégias pré e pós-cobrição (Blackmer, 2010).

Como estratégia pré-cobrição, pode ser realizada a tipificação sanguínea dos progenitores, aplicada em qualquer altura antes da mesma (Blackmer, 2010; Jackson, 2013; Felipe, 2017; McKenzie III, 2018), que, pela sua base, como descrito anteriormente, pode ser útil para deteção de potenciais cruzamentos incompatíveis (Corley, 2011; Divers, 2016; Mudge & Williams, 2016; Magdesian, 2017).

Blackmer (2010) justifica a sua aplicação referindo que qualquer Ag eritrocitário pode levar a IN, ou seja, todos os fatores eritrocitários são antigénicos e vão estimular uma resposta com produção de Ac, o que pode levar a que todas as gestações em equinos sejam incompatíveis, mas também descreve que os fatores Aa e Qa são os mais relatados.

Segundo Magdesian (2017), esta técnica avalia hemólise, se adicionada uma fonte de complemento, ou uma aglutinação, quando se juntam os eritrócitos de um cavalo a avaliar com soros contendo Ac anti-eritrócitos específicos direcionados contra os principais fatores, pelo que no caso de uma reação positiva é determinada a presença do fator em causa.

Neste caso, após identificação da égua, recolha do seu histórico e se esta ainda for negativa aos fatores Aa/Qa (Hess-Dudan, 1994; Knottenbelt et al., 2004a; Galvin, 2008; Blackmer, 2010; McKenzie III, 2018) é considerada de risco, devendo o garanhão ser também tipificado (Galvin, 2008; Blackmer, 2010), favorecendo uma cobrição seletiva (Blackmer, 2010), pelo que, se este se apresentar negativo para os mesmos fatores, a potencial ocorrência de IN no poldro gerado é eliminada de início (Knottenbelt et al., 2004a; Giguère & Polkes, 2005; Blackmer, 2010; Jackson, 2013; Divers, 2016; Felipe, 2017; Magdesian, 2017; Hurcombe, 2020).

A tipificação, em especial antes da cobrição, não é um procedimento de rotina (Hess-Dudan, 1994; Knottenbelt et al., 2004a; Sellon, 2006; McKenzie III, 2018), sendo aconselhado por vários autores a realização de outras estratégias pós-cobrição, podendo ser aplicadas estratégias pré e pós-parto, intervindo antes da ingestão do colostro (Galvin, 2008; Blackmer, 2010).

As provas cruzadas são testes serológicos (Tocci & Ewing, 2009) que avaliam a presença de Ac anti-eritrócitos (Mudge & Williams, 2016) com hemólise ou aglutinação como resultado final

(Knottenbelt et al., 2004a; Felipe, 2017; Dunkel, 2018) e aplicadas em diferentes alturas do pré e pós-parto, podendo ser tanto preventivas como de diagnóstico (Galvin, 2008; Mudge & Williams, 2016). Se realizados no pré-parto e com resultados positivos, necessitam de confirmação no pós-parto com eritrócitos do poldro (Hess-Dudan, 1994; Giguère & Polkes, 2005; Madigan, 2013; Divers, 2016; Felipe, 2017).

Estes testes são geralmente realizados em medicina de transfusão, nomeadamente os testes de aglutinação, determinando uma compatibilidade prévia entre doadores e receptores sanguíneos (Tocci & Ewing, 2009; Dunkel, 2018). O princípio dessa metodologia foi adaptado para IN, permitindo avaliar a presença de Ac no soro ou colostro da égua contra os eritrócitos do garanhão e/ou do poldro (Blackmer, 2010; Finding & McSloy, 2011; Jackson, 2013; Mudge & Williams, 2016; Felipe, 2017; McKenzie III, 2018; Hurcombe, 2020).

Por si só, estes testes apenas determinam a existência de Ac para fatores que a égua não possui (Jackson, 2013) estabelecendo apenas o risco materno (Toribio & Mudge, 2013), pelo que a positividade dos resultados, principalmente quando testado com os eritrócitos do garanhão, apenas indicam que existe 50% de risco de IN (Divers, 2016; Felipe, 2017), sendo que uma confirmação mais objetiva requer provas com os eritrócitos do poldro (Felipe, 2017).

Os testes hemolíticos são mais fiáveis e sensíveis mesmo em amostras com baixa titulação de Ac, sendo por isso considerados de eleição, tanto na prevenção como diagnóstico (de Graaf-Roelfsema et al., 2007; Felipe, 2017; McKenzie III, 2018), além de, como referido anteriormente, os Ac envolvidos serem hemolisinas, aumentando a sensibilidade do teste, embora necessitem da adição de uma fonte exógena de complemento (Knottenbelt et al., 2004a; Tocci & Ewing, 2009; Felipe, 2017; McKenzie III, 2018; Hurcombe, 2020) (soro de coelho), para demonstração de hemólise (Giguère & Polkes, 2005; Divers, 2016; Dunkel, 2018).

Esta técnica é geralmente aplicada como estratégia pré-parto (Hess-Dudan, 1994; Blackmer, 2010; Mudge & Williams, 2016; Felipe, 2017), em casos de éguas de risco (Knottenbelt et al., 2004a; Divers, 2016), cruzamentos incompatíveis ou tipos sanguíneos desconhecidos (Giguère & Polkes, 2005), mas sendo um procedimento tecnicamente difícil de realizar (Tocci & Ewing, 2009) e necessitando de laboratórios especializados (Knottenbelt et al., 2004a; Tocci & Ewing, 2009; Madigan, 2013; Felipe, 2017; Dunkel, 2018), limita a sua prática (Knottenbelt et al., 2004a) e impede a aplicação em laboratórios de clínicas (Tocci & Ewing, 2009). Se realizada no pós-parto, para além de preventivo também pode suportar um diagnóstico (Sandberg & Gothran, 2000; Giguère & Polkes, 2005; Tocci & Ewing, 2009; Jackson, 2013; Felipe, 2017), nomeadamente em éguas com historial prévio de poldros com IN e em conjunto com a tipificação sanguínea do garanhão (Jackson, 2013; McKenzie III, 2018).

No pré-parto, esta técnica é realizada como forma de pesquisa de Ac anti-eritrócitos no soro materno (Sandberg & Gothran, 2000; Giguère & Polkes, 2005; Galvin, 2008; Blackmer, 2010; McCue, 2014; Magdesian, 2017), avaliado contra um painel de eritrócitos representativos dos fatores sanguíneos (Sandberg & Gothran, 2000; Galvin, 2008; Blackmer, 2010; Jackson, 2013; McCue, 2014; Felipe, 2017; Hurcombe, 2020) ou, preferencialmente e mediante disponibilidade, os eritrócitos do garanhão (Sandberg & Gothran, 2000; Blackmer, 2010; Jackson, 2013; Magdesian, 2017; McKenzie

III, 2018; Hurcombe, 2020). Deve ser efetuado nas últimas semanas de gestação (Knottenbelt et al., 2004a; Blackmer, 2010; Finding & McSloy, 2011; Jackson, 2013; Madigan, 2013; Toribio & Mudge, 2013; Divers, 2016), idealmente nas últimas duas semanas (Sandberg & Gothran, 2000; Galvin, 2008; Blackmer, 2010; McCue, 2014; Mudge & Williams, 2016; Magdesian, 2017; Hurcombe, 2020), uma vez que a titulação de Ac aumenta nessa altura para se concentrar posteriormente no colostro, tal como referido anteriormente. No caso de ser realizado no pós-parto, pode ser usado soro e/ou colostro materno contra os eritrócitos do poldro (Hess-Dudan, 1994; Giguère & Polkes, 2005; Galvin, 2008; Tocci & Ewing, 2009; Blackmer, 2010; Jackson, 2013).

Este é então incubado (Tocci & Ewing, 2009) com os eritrócitos em diferentes diluições (Divers, 2016; Felipe, 2017). Se os Ac estiverem presentes ocorre ligação aos eritrócitos, complexo Ag-Ac, que ao ser adicionado o complemento, induz a lise dos eritrócitos (Figura 6) (Giguère & Polkes, 2005; Galvin, 2008; Tocci & Ewing, 2009; Divers, 2016; Felipe, 2017).

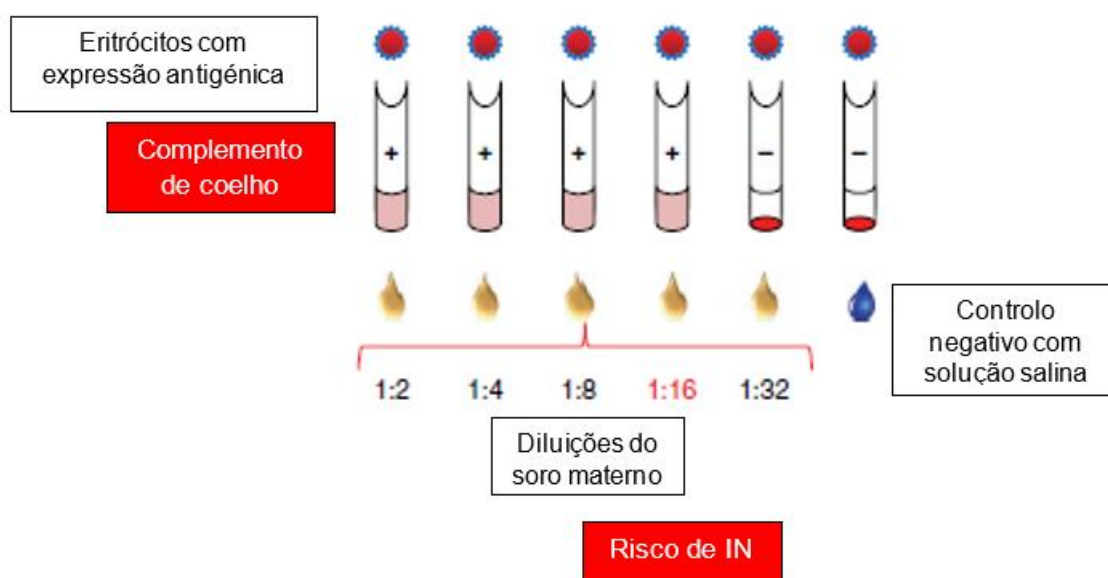


Figura 6 – Teste hemolítico. Esquema representativo do teste hemolítico para detetar anticorpos no soro materno contra proteínas na superfície dos eritrócitos. Adaptado de: (Felipe, 2017).

No caso de titulações baixas, mas positivas antes das datas aconselhadas para os testes, nomeadamente diluições de 1:2 de fatores Aa e Qa (Divers, 2016; Felipe, 2017), deve ser realizado novo teste antes do parto (Giguère & Polkes, 2005; Galvin, 2008; Divers, 2016; Felipe, 2017).

Diluições séricas superiores a 1:16 para os fatores Aa e Qa com hemólise *in vitro* podem provocar IN (Divers, 2016; Felipe, 2017), sendo recomendada a assistência ao parto e retenção do

colostro (Sandberg & Gothran, 2000; Galvin, 2008; Blackmer, 2010; Finding & McSloy, 2011; Toribio & Mudge, 2013).

A positividade deste teste pode favorecer um diagnóstico no caso do teste antiglobulina direto ser um falso negativo (Felippe, 2017). Por sua vez, os Ac contra o fator Ca embora não causem IN, podem levar a resultados falsos positivos (Giguère & Polkes, 2005; Divers, 2016) ou ainda resultados falsos negativos no caso de níveis não detetáveis de Ac (Madigan, 2013; Felippe, 2017).

Embora a aplicação deste teste seja apelativa, podendo ser justificado no pré-parto pelo facto da avaliação do tipo sanguíneo do poldro ou mesmo testes com a progenitora só poderem ser realizados após o seu nascimento (McCue, 2014), pode ser impraticável, pela necessidade de laboratórios especializados.

Como opção temos os testes de aglutinação, podendo ser realizados no pré-parto indicando o risco de IN (Blackmer, 2010; Divers, 2016; Felippe, 2017; Magdesian, 2017), mas em termos práticos são realizados no pós-parto (Knottenbelt et al., 2004a; Tocci & Ewing, 2009; Mudge & Williams, 2016). Estes são mais rápidos de executar e com maior disponibilidade (Hart, 2011; Mudge & Williams, 2016; McKenzie III, 2018), tendo como vantagem não necessitar de adição de complemento (McKenzie III, 2018), facilitando a sua adaptação aos laboratórios de clínicas (Knottenbelt et al., 2004a; Tocci & Ewing, 2009; Madigan, 2013; McKenzie III, 2018), mas apresentam duas desvantagens. A primeira é o facto de não preverem as reações hemolíticas (Knottenbelt et al., 2004a; Giguère & Polkes, 2005; Finding & McSloy, 2011; Madigan, 2013; Mudge & Williams, 2016), a segunda é a dificuldade de interpretação dos resultados de aglutinação minor (soro da égua com eritrócitos do poldro) (Giguère & Polkes, 2005), no caso de formação de pilhas de eritrócitos (*rouleaux*) (Giguère & Polkes, 2005; Mudge & Williams, 2016; Felippe, 2017), uma vez que os eritrócitos apresentam naturalmente uma tendência para agregação (Lording, 2008), sendo necessária a adição de uma solução salina para promover a dispersão (Mudge & Williams, 2016).

Embora possa apresentar falsos negativos quando envolvidos os fatores hemolíticos, segundo Dunkel (2018) um estudo recente demonstrou que a incompatibilidade estava sempre presente em testes de aglutinação, tendo ou não sido detetada hemólise, apoiando assim o seu uso.

Na IN, apenas os testes de aglutinação minor têm interesse clínico (Mudge & Williams, 2016; Felippe, 2017), detetando Ac anti-eritrócitos no soro e/ou colostro materno contra os eritrócitos do poldro (Jackson, 2013; Mudge & Williams, 2016; Felippe, 2017), sendo que o poldro em risco ou com IN não será compatível nesse teste (Russell & Wilkins, 2006; Toribio & Mudge, 2013; Divers, 2016; Felippe, 2017).

Assim, surge o teste JFA que é uma adaptação do teste de aglutinação (Jackson, 2013), fácil e rápido de realizar (Giguère & Polkes, 2005; Sellon, 2006; McKenzie III, 2018), com boa correlação com as provas hemolíticas (Giguère & Polkes, 2005; Jackson, 2013) e usado como teste de campo (Hess-Dudan, 1994; Tocci & Ewing, 2009; Jackson, 2013; Hurcombe, 2020), podendo ser realizado em tubo (Knottenbelt et al., 2004a; Blackmer, 2010; Madigan, 2013; Felippe, 2017) ou lâmina de vidro (Hess-Dudan, 1994; Divers, 2016; Felippe, 2017).

O teste (

Figura 7, pág. 29) é também realizado com diluições seriadas do colostro (ou soro materno) (Giguère & Polkes, 2005; Tocci & Ewing, 2009), com solução salina misturado com uma gota de sangue do poldro anticoagulado (Finding & McSloy, 2011; Jackson, 2013; Divers, 2016; Felipe, 2017; Mealey & Long, 2018).

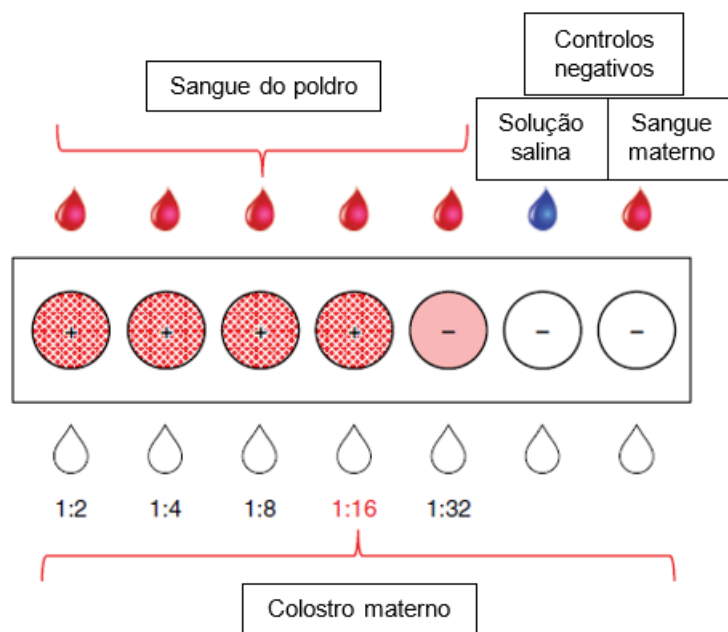


Figura 7 – Teste de aglutinação do poldro icterico. Esquema representativo do teste de aglutinação do poldro icterico. Adaptado de: (Felipe, 2017).

A formação de um aglomerado compacto de eritrócitos no fundo do tubo (Knottenbelt et al., 2004a; Giguère & Polkes, 2005; Finding & McSloy, 2011; Madigan, 2013) indica uma reação de aglutinação positiva, clinicamente significativa em diluições de 1:16 ou superiores (Sprayberry, 2003; Knottenbelt et al., 2004a; Giguère & Polkes, 2005; Blackmer, 2010; Jackson, 2013; Felipe, 2017; Mealey & Long, 2018; Hurcombe, 2020) sendo sugestivo de diagnóstico ou necessidade de prevenção (Galvin, 2008; Jackson, 2013; Toribio & Mudge, 2013; McKenzie III, 2018).

A pesquisa de Ac deve ser realizada no pós-parto imediato, antes do poldro mamar, podendo ser usado o colostro ou soro materno (Sprayberry, 2003; Knottenbelt et al., 2004a; Sellon, 2006; Galvin, 2008; Finding & McSloy, 2011; Divers, 2016; Felipe, 2017; McKenzie III, 2018). Este dado é importante, uma vez que os Ac maternos vão revestir a superfície dos eritrócitos do poldro, aglutinando em todas as diluições do teste, mesmo que os Ac no colostro ou soro não apresentem titulações nocivas (Sellon, 2006; Blackmer, 2010). O mesmo acontece nos testes hemolíticos (Galvin, 2008). O colostro

também pode ser usado como forma de monitorização do declínio dos Ac maternos, permitindo ao poldro voltar a mamar em segurança (McKenzie III, 2018) quando em titulações inferiores a 1:16, diminuindo o tempo de retenção do colostro (Sellon, 2006; Galvin, 2008; Blackmer, 2010).

No caso de qualquer resultado laboratorial positivo ou pendente (Knottenbelt et al., 2004a; Giguère & Polkes, 2005), ou se estes não forem realizados mas a égua for conhecida como de risco (Finding & McSloy, 2011), devem ser implementadas medidas de maneio na égua e no poldro. Algumas destas medidas já foram referidas, nomeadamente indução do parto, retenção e ordenha do colostro e fornecimento de fonte alternativa ao poldro.

De modo a evitar a ingestão de colostro, pode ser colocado um buçal no poldro ao nascimento (Sellon, 2006; Galvin, 2008; Jackson, 2013; McCue, 2014; Divers, 2016; Mealey & Long, 2018; Hurcombe, 2020), mas só após este se colocar em estação e criar ligações com a progenitora (Knottenbelt et al., 2004a), e durante as primeiras 24 a 36 horas (Sandberg & Gothran, 2000; McKenzie III, 2018; Mealey & Long, 2018; Hurcombe, 2020) no caso de não se testar o colostro, como referido anteriormente. Alguns autores referem a separação física como alternativa (Giguère & Polkes, 2005), mas permitindo o contacto visual com a progenitora (Madigan, 2013) durante esse período.

4.6. Tratamento

Caso não seja possível prevenir a ocorrência de IN, deve ser efetuado um tratamento, intimamente relacionado com a idade do poldro, gravidade da anemia, sinais clínicos e em quanto tempo foi reconhecida (Knottenbelt et al., 2004a; Giguère & Polkes, 2005; Galvin, 2008; Stoneham & Munroe, 2011; Archer, 2013; Wong & Brockus, 2015; McKenzie III, 2018).

A escolha e o tipo de tratamento variam com a apresentação clínica e laboratorial (Giguère & Polkes, 2005; Finding & McSloy, 2011), sendo aplicados, principalmente, em função dos sinais clínicos e do HTC (Galvin, 2008; Wong & Brockus, 2015), uma vez que uma recomendação para uma transfusão sanguínea baseia-se na percentagem do HTC e na severidade da anemia (Knottenbelt et al., 2004a; Finding & McSloy, 2011; Orsini, 2011; Austin, 2018; Hurcombe, 2020).

Generalizando, estes consistem numa monitorização rigorosa do estado geral e progressão do quadro clínico; requerem diminuição do stress e restrição do exercício; ambiente confortável, limpo, seco e ambiente controlado em temperatura e humidade; nutrição adequada; fluidoterapia por via intravenosa (IV); e transfusões sanguíneas. Qualquer terapia farmacológica adicional vai depender das complicações ou agravamento do quadro (Madigan, 2013; Wong & Brockus, 2015; Davis, 2017; McKenzie III, 2018; Hurcombe, 2020).

Uma vez que os poldros neonatos são dependes da ingestão de colostro e leite para manter os níveis de glucose sanguínea, fluídos e eletrólitos (Stoneham & Munroe, 2011), é fundamental uma boa suplementação nutricional durante o período de risco (Knottenbelt et al., 2004a; McKenzie III, 2018).

Os neonatos também apresentam funções termorreguladoras com baixa capacidade de compensar as alterações de temperatura (Stoneham & Munroe, 2011), por esse motivo é fundamental que o ambiente se encontre controlado, minimizando o risco de complicações (Knottenbelt et al., 2004a; Madigan, 2013).

Também é fundamental diminuir o stress e exercício físico, mantendo o repouso através do confinamento em estabulação e minimizando a manipulação (Knottenbelt et al., 2004a; Archer, 2013; Madigan, 2013; Davis, 2017), uma vez que a capacidade de transporte de oxigênio sanguíneo poderá estar comprometida (Sprayberry, 2003; Knottenbelt et al., 2004a; Wong & Brockus, 2015; McKenzie III, 2018; Hurcombe, 2020).

Já em 1988, Clabough refere que o manejo de um poldro com IN tem como base a prevenção de hemólise adicional e tratamento de suporte até ocorrer resposta por parte da medula óssea à anemia (Clabough, 1988). Por esse motivo e de modo a facilitar a compreensão dos tratamentos usados em IN, foi adotado o proposto por Knottenbelt et al. (2004a), embora complementado por outros autores.

Então, em casos ligeiros com HTC acima dos 15% e estáveis, deve ser instituída uma terapêutica conservativa, com todos os requisitos mencionados anteriormente, podendo ser esta a única terapêutica, sendo aconselhado monitorização e avaliação dos parâmetros eritrocitários a cada 12 horas durante 48 horas (MacLeay, 2001; Knottenbelt et al., 2004a; Galvin, 2008; Finding & McSloy, 2011; Stoneham & Munroe, 2011; Archer, 2013; Austin, 2018).

Nestes casos também se encontra descrito que pode ser necessária uma via aberta para a administração de fluídos por via IV, de modo a promover a diurese, uma vez que existe o risco de precipitados tubulares renais por produtos de hemoglobina, diminuindo assim os seus potenciais efeitos nefrotóxicos, para além de garantir um acesso caso seja necessário outras administrações (Hess-Dudan, 1994; Knottenbelt et al., 2004a; Finding & McSloy, 2011; Madigan, 2013; Sutton & Sellon, 2013; Wong & Brockus, 2015; McKenzie III, 2018; Hurcombe, 2020). Também é descrito o uso de antibioterapia profilática como forma de prevenção de infeções secundárias (Knottenbelt et al., 2004a; Galvin, 2008; Finding & McSloy, 2011; Madigan, 2013; Toribio & Mudge, 2013; Wong & Brockus, 2015). Knottenbelt et al. (2004a) ainda refere que a administração de corticosteróides (e.g. dexametasona) por via IV ou intramuscular (IM) pode ser vantajosa no controlo das respostas mediadas por Ac.

Em casos com HTC inferior a 15% e em rápido declínio, para além do estabelecido anteriormente e da monitorização regular dos parâmetros, pode ser necessária a realização de uma transfusão sanguínea (Knottenbelt et al., 2004a), mas embora aconselhada quando o HTC diminui para valores inferiores a 12% (Knottenbelt et al., 2004a; Stoneham & Munroe, 2011; Archer, 2013; Divers, 2014; Wong & Brockus, 2015; McKenzie III, 2018), situações de risco de vida ou emergência (Knottenbelt et al., 2004a; Hurcombe, 2020), não deve ter apenas como base o valor do HTC (Sprayberry, 2003; Giguère & Polkes, 2005; McKenzie III, 2018), necessitando da demonstração de sinais como fraqueza, ausência do mamar, sinais de hipóxia e anemia severa (Giguère & Polkes, 2005; Galvin, 2008; Stoneham & Munroe, 2011; Carr, 2014; Divers, 2014; McKenzie III, 2018).

A transfusão, nomeadamente de concentrados de eritrócitos, em conjunto com a administração de oxigênio por via intranasal, permite um aumento da capacidade de transporte de oxigênio ao nível

plasmático (Carr, 2014; Divers, 2014; McKenzie III, 2018), devendo ser medidos e monitorizados através da concentração de lactato e saturação de oxigênio venoso (Giguère & Polkes, 2005; Corley, 2011; Wong & Brockus, 2015; Dunkel, 2018).

Durante o período de espera para transfusão (Sellon, 2006; Madigan, 2013; Divers, 2014; McKenzie III, 2018) ou como substituto da mesma (Wong & Brockus, 2015), também é descrita a administração de hemoglobina polimerizada bovina, como forma de aumentar a capacidade de transporte de oxigênio (Sellon, 2006; Madigan, 2013; Divers, 2014; McKenzie III, 2018), mas além de dispendioso (Corley, 2011) ainda existem controvérsias sobre a sua segurança estando descritos casos fatais associados à sua administração (Sellon, 2006; Polkes et al., 2008; Wong & Brockus, 2015; McKenzie III, 2018).

4.7. Prognóstico

De um modo geral, o prognóstico vai depender da quantidade e tipo de Ac absorvidos, do rápido reconhecimento dos sinais clínicos e conseqüentemente do diagnóstico de IN, do tempo ocorrido até iniciar o tratamento e complicações secundárias (Zaruby, et al., 1992; Giguère & Polkes, 2005; Tan et al., 2005; Corley, 2011; Davis, 2017; Hurcombe, 2020).

Por sua vez, quanto mais jovem o poldro, pior o prognóstico, pois este vai apresentar um início rápido e severo compatível com casos hiperagudos e geralmente fatais (Zaruby, et al., 1992; Hess-Dudan, 1994; Knottenbelt et al., 2004a; Sellon, 2006; Galvin, 2008; Hurcombe, 2020). Até ocorrer a morte, apresenta maior necessidade de monitorização constante e cuidados intensivos (Hess-Dudan, 1994; Knottenbelt et al., 2004a).

Por norma, o prognóstico é bom na maioria dos casos agudos, não complicados (Giguère & Polkes, 2005; Broux et al., 2015) e quando o diagnóstico é feito de forma rápida e o tratamento iniciado de imediato (Zaruby et al., 1992; Corley, 2011; Davis, 2017; Wotman & Johnson, 2017; Hurcombe, 2020). Poldros com icterícia proeminente, sem anemia severa, sobrevivem por vários dias, sendo o prognóstico bastante favorável (Sellon, 2006).

Alguns casos podem recuperar espontaneamente, outros apenas com terapia de suporte ligeira (Knottenbelt et al., 2004a), sendo esses casos considerados subagudos e apresentam um prognóstico excelente, em que a maioria sobrevive (Hess-Dudan, 1994; Tan et al., 2005; Galvin, 2008; Hurcombe, 2020). Já o contrário também é exepetável, isto é, aquando do desenvolvimento de complicações secundárias, o prognóstico é reservado a mau, com taxas de sobrevivência muito inferiores (Tan et al., 2005; Galvin, 2008; Koch et al, 2011; Archer, 2013; Broux et al., 2015; Davis, 2017; Hurcombe, 2020).

Como indicadores de prognóstico podem ser usados dados como a idade dos poldros aquando dos sinais clínicos; frequência cardíaca; HTC; contagem eritrocitária; medição de lactato, bilirrubina, AST, GGT e volume de produtos sanguíneos (Boyle et al., 2005; Polkes et al., 2008; Orsini, 2011).

Relativamente ao último dado, vários autores relatam que poldros que recebem múltiplas transfusões encontram-se num maior risco de desenvolver complicações secundárias, apresentando

mau prognóstico (Elfenbein et al., 2010; Davis, 2017; Hurcombe, 2020). Polkes et al. (2008) corrobora com um estudo, num total de 72 casos, referindo que embora a transfusão possa salvar a vida em poldros com IN, é sugerido evitá-la, sendo necessários estudos adicionais para determinar o envolvimento de falha hepática em poldros com IN. Já Boyle et al. (2005) considerando um prognóstico a longo prazo (até pelo menos 1 ano após alta hospitalar), refere no seu estudo que 8 em 10 poldros que receberam transfusões sobreviveram para ter alta hospitalar e em poucos casos foi necessário mais do que 2 transfusões. É também referido que o total de casos (18) pode não ser significativo para obter informações detalhadas sobre os fatores de risco de mortalidade associada a IN.

5. Conclusão

Desde muito cedo que a IN foi descoberta, e vários foram os avanços médicos realizados em torno da sua abordagem, diagnóstico e prevenção, sendo facilmente evitada.

Hoje em dia sabe-se que a doença na medicina humana apresenta uma incidência baixa, mas, embora os estudos indiquem o mesmo para a medicina equina, o que é certo é que seria necessário estudar todas as raças para obter essa afirmação.

A disponibilidade laboratorial para o diagnóstico e prevenção pode ser um fator negativo, pelo tempo para a realização dos testes mais fidedignos e custos associados *versus* diagnóstico e progressão da doença.

A prevenção de IN é a chave para o sucesso, mas no caso da sua ocorrência, o êxito requer uma abordagem rápida, conhecimento dos principais sinais clínicos bem como a sua interpretação, permitindo um tratamento eficaz.

Infelizmente, para a criação do cavalo Puro-Sangue Lusitano (PSL), não foi verificada qualquer informação sobre a incidência e impacto nesta raça, podendo ser interessante um estudo de genética sanguínea direcionada para os fatores sanguíneos, permitindo que as criações de PSL em Portugal fossem beneficiadas, com indicação de potenciais cruzamentos incompatíveis e assim diminuição dos custos de produção e mortalidade neonatal associada e que muitas vezes pode estar negligenciada pelo tipo de regime produtivo, bem como o desenvolvimento de um banco de sangue equino e sinalização de potenciais dadores ao nível nacional.

Referências Bibliográficas

- Aleman, M., Madigan, J. E., Williams, D. C., & Holliday, T. A. (2014). Brainstem Auditory Evoked Responses in an Equine Patient Population. Part II: Foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(4), 1318–1324. <https://doi.org/10.1111/jvim.12377>
- Aleman, Monica, Nout-Lomas, Y. S., & Reed, S. M. (2018). Disorders of the Neurologic System. In S. M. Reed, W. M. Bayly, & D. C. Sellon (Eds.), *Equine Internal Medicine* (4th ed., pp. 580–708). Elsevier Inc.
- Archer, D. (2013). Emergencies in foals. In D. Archer (Ed.), *Handbook of Equine Emergencies* (1st ed., pp. 218–246). Elsevier Saunders.
- Austin, S. M. (2013). Assessment of the equine neonate in ambulatory practice. *Equine Veterinary Education*, 25(11), 585–589. <https://doi.org/10.1111/eve.12064>
- Austin, S. M. (2018). Management and treatment of the sick equine neonate in ambulatory practice. *Equine Veterinary Education*, 30(2), 106–112. <https://doi.org/10.1111/eve.12584>
- Axon, J. E., & Palmer, J. E. (2008). Clinical Pathology of the Foal. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 24(2), 357–385. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2008.03.005>
- Barton, M. H., & LeRoy, B. E. (2007). Serum Bile Acids Concentrations in Healthy and Clinically Ill Neonatal Foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(3), 508–513. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb02998.x>
- Bergero, D., & Nery, J. (2008). Hepatic diseases in horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92(3), 345–355. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00798.x>
- Blackmer, J. M. (2010). Strategies for prevention of neonatal isoerythrolysis in horses and mules. *Equine Veterinary Education*, 15(S6), 6–10. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2003.tb01806.x>
- Bowling, A. T. (1985). The use and efficacy of horse blood typing tests. *Journal of Equine Veterinary Science*, 5(4), 195–199. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(85\)80096-4](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(85)80096-4)
- 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. <https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.1276>
- Broux, B., Lefère, L., Deprez, P., & van Loon, G. (2015). Plasma Exchange as a Treatment for Hyperbilirubinemia in 2 Foals with Neonatal Isoerythrolysis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(2), 736–738. <https://doi.org/10.1111/jvim.12549>
- Bucca, S. (2006). Diagnosis of the Compromised Equine Pregnancy. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 22(3), 749–761. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2006.07.006>
- Buergelt, C. D., & Del Piero, F. (2014). Diseases of Foals and Juveniles. In C. D. Buergelt & F. Del Piero (Eds.), *Color Atlas of Equine Pathology* (1st ed., pp. 11–61). John Wiley & Sons, Inc.
- Canisso, I. F., Podico, G., & Ellerbrock, R. E. (2019). Diagnosis and treatment of mastitis in mares. *Equine Veterinary Education*, 1–7. <https://doi.org/10.1111/eve.13228>
- Carr, E. A. (2014). Field Triage of the Neonatal Foal. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 30(2), 283–300. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2014.05.001>

- Casenave, P., Leclere, M., Beauchamp, G., & Blais, M. (2019). Modified stall-side crossmatch for transfusions in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(4), 1775–1783. <https://doi.org/10.1111/jvim.15519>
- Clabough, D. L. (1988). Diseases of the equine neonate. *Journal of Equine Veterinary Science*, 8(1), 5–10. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(88\)80102-3](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(88)80102-3)
- Corley, K. (2011). Interactive foal cases: neonatal isoerytholysis and kernicterus. IVIS.
- Corley, K. T. (2014). Foal Resuscitation. In J. A. Orsini & T. J. Divers (Eds.), *Equine Emergencies: Treatment and Procedures* (4th ed., pp. 509–519). Elsevier Saunders.
- Corley, K. T., & Jokisalo, J. M. (2015). Evaluation of the Compromised Neonatal Foal. In K. A. Sprayberry & N. E. Robinson (Eds.), *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine* (7th ed., pp. 717–721). Elsevier Saunders.
- Davis, J. L. (2017). Ocular manifestations of systemic disease. In B. C. Gilger (Ed.), *Equine Ophthalmology* (3rd ed., pp. 591–623). John Wiley & Sons, Inc.
- de Graaf-Roelfsema, E., Boerma, S., van Haeringen, H., & Van Der Kolk, J. H. (2007). Non-specific haemolytic alloantibody causing equine neonatal isoerythrolysis. *Veterinary Record*, 161(6), 202–204. <https://doi.org/10.1136/vr.161.6.202>
- Divers, T. J. (2008). The liver, peritoneum and spleen. In S. B. McAuliffe & N. M. Slovis (Eds.), *Color Atlas of Diseases and Disorders of the Foal* (1st ed., pp. 277–292). Saunders Elsevier.
- Divers, T. J. (2011). Metabolic Causes of Encephalopathy in Horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 27(3), 589–596. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2011.08.004>
- Divers, T. J. (2014). Liver Failure, Anemia, and Blood Transfusion. In J. A. Orsini & T. J. Divers (Eds.), *Equine Emergencies: Treatment and Procedures* (4th ed., pp. 268–288). Elsevier Saunders.
- Divers, T. J. (2016). Immune-Mediated Cytopenias. In J. B. Felipe (Ed.), *Equine Clinical Immunology* (1st ed., pp. 47–54). John Wiley & Sons, Inc.
- Divers, T. J., & Barton, M. H. (2018). Disorders of the Liver. In S. M. Reed, W. M. Bayly, & D. C. Sellon (Eds.), *Equine Internal Medicine* (4th ed., pp. 843–887). Elsevier Inc.
- Divers, T. J., & Perkins, G. (2003). Urinary and hepatic disorders in neonatal foals. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(1), 67–78. [https://doi.org/10.1016/S1534-7516\(03\)000222](https://doi.org/10.1016/S1534-7516(03)000222)
- Dunkel, B. (2018). Disorders of the Hematopoietic System. In S. M. Reed, W. M. Bayly, & D. C. Sellon (Eds.), *Equine Internal Medicine* (4th ed., pp. 991–1028). Elsevier Inc.
- Durham, A. E. (1996). Blood and plasma transfusion in the horse. *Equine Veterinary Education*, 8(1), 8–12. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.1996.tb01643.x>
- Durham, A. E. (1997). Failure of the indirect anti-globulin test to predict a case of neonatal isoerythrolysis. *Equine Veterinary Education*, 9(3), 115–117. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.1997.tb01289.x>
- Elfenbein, J. R., Giguère, S., Meyer, S. K., Javicas, L. H., Farina, L. L., Zimmel, D. N., & Sanchez, L. C. (2010). The Effects of Deferoxamine Mesylate on Iron Elimination after Blood Transfusion in Neonatal Foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(6), 1475–1482. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0621.x>

- Felippe, J. B. (2017). Equine Neonatal Isoerythrolysis. In N. Pusterla & J. Higgins (Eds.), *Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics* (1st ed., pp. 251–255). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118922798.ch42>
- Finding, E., & McSloy, A. (2011). Neonatal isoerythrolysis and other immunological diseases of foals. *Companion Animal*, 16(3), 10–12. <https://doi.org/10.1111/j.2044-3862.2010.00047.x>
- Galvin, N. (2008). The immune system. In S. B. McAuliffe & N. M. Slovis (Eds.), *Color Atlas of Diseases and Disorders of the Foal* (1st ed., pp. 293–305). Saunders Elsevier.
- Giguère, S., & Polkes, A. C. (2005). Immunologic Disorders in Neonatal Foals. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 21(2), 241–272. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2005.04.004>
- Hart, K. A. (2011). Pathogenesis, management and prevention of blood transfusion reactions in horses. *Equine Veterinary Education*, 23(7), 343–345. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2010.00218.x>
- Hess-Dudan, F. (1994). Four possible causes of hepatic failure and/or icterus in the newborn foal. *Equine Veterinary Education*, 6(6), 310–315. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.1994.tb01161.x>
- Hines, M. T. (2018). Clinical Approach to Commonly Encountered Problems. In S. M. Reed, W. M. Bayly, & D. C. Sellon (Eds.), *Equine Internal Medicine* (4th ed., pp. 232–310). Elsevier Inc.
- Hurcombe, S. D. A. (2020). Neonatal Isoerythrolysis. In J.-P. Lavoie (Ed.), *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Equine* (3rd ed., pp. 504–505). John Wiley & Sons, Inc.
- Jackson, K. V. (2013). Immunohematology and Hemostasis. In R. M. Walton (Ed.), *Equine Clinical Pathology* (1st ed., pp. 37–69). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118718704.ch3>
- Johnson, A. L., Gilsenan, W. F., & Palmer, J. E. (2012). Metabolic encephalopathies in foals - pay attention to the serum biochemistry panel! *Equine Veterinary Education*, 24(5), 233–235. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2012.00396.x>
- Knottenbelt, D. C., Holdstock, N., & Madigan, J. E. (2004a). Neonatal Syndromes. In D. Knottenbelt, N. Holdstock, & J. E. Madigan (Eds.), *Equine Neonatology Medicine and Surgery* (1st ed., pp. 155–364). Saunders Elsevier.
- Knottenbelt, D. C., Holdstock, N., & Madigan, J. E. (2004b). Procedures and Diagnostic Aids. In D. Knottenbelt, N. Holdstock, & J. E. Madigan (Eds.), *Equine Neonatology Medicine and Surgery* (1st ed., pp. 365–404). Saunders Elsevier.
- Koch, T., Knight, A., & Weese, S. (2011). Liver. In G. A. Munroe & J. S. Weese (Eds.), *Equine Clinical Medicine, Surgery, and Reproduction* (1st ed., pp. 597–618). Manson Publishing.
- Langohr, I. M. (2014). Diseases of the Eye and Ear. In C. D. Buergelt & F. Del Piero (Eds.), *Color Atlas of Equine Pathology* (1st ed., pp. 451–470). John Wiley & Sons, Inc.
- Lording, P. M. (2008). Erythrocytes. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 24(2), 225–237. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2008.04.002>
- Loynachan, A. T., Williams, N. M., & Freestone, J. F. (2007). Kernicterus in a Neonatal Foal. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(2), 209–212. <https://doi.org/10.1177/104063870701900215>
- Luethy, D., Owens, S. D., Stefanovski, D., Nolen-Walston, R., & Giger, U. (2016). Comparison of Tube,

- Gel, and Immunochromatographic Strip Methods for Evaluation of Blood Transfusion Compatibility in Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(6), 1864–1871. <https://doi.org/10.1111/jvim.14604>
- Lunn, D. P., Hannant, D., & Horohov, D. W. (1998). Immunology of Horses and Donkeys. In P.-P. Pastoret, P. Griebel, H. Bazin, & A. Govaerts (Eds.), *Handbook of Vertebrate Immunology* (pp. 343–371). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012546401-7/50012-3>
- MacLeay, J. M. (2001). Neonatal isoerythrolysis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 21(3), 106–109. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(01\)70105-0](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(01)70105-0)
- Madigan, J. E. (2013). Neonatal Isoerythrolysis. In J. E. Madigan (Ed.), *Manual of Equine Neonatal Medicine* (4th ed., pp. 182–187). Live Oak Publishing.
- Magdesian, K. G. (2014). Neonatology. In J. A. Orsini & T. J. Divers (Eds.), *Equine Emergencies: Treatment and Procedures* (4th ed., pp. 528–564). Elsevier Saunders.
- Magdesian, K. G. (2017). Equine Blood Groups and Factors. In N. Pusterla & J. Higgins (Eds.), *Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics* (1st ed., pp. 283–285). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118922798.ch47>
- Mair, T. S., & Divers, T. J. (2017). Liver Diseases in Foals. In A. T. Blikslager, N. A. White, J. N. Moore, & T. S. Mair (Eds.), *The Equine Acute Abdomen* (3rd ed., pp. 459–467). John Wiley & Sons, Inc.
- Masko, M., Domino, M., Skierbiszewska, K., Zdrojkowski, Ł., Jasinski, T., & Gajewski, Z. (2018). Monitoring of the mare during the perinatal period at the clinic and in the stable. *Equine Veterinary Education*. <https://doi.org/10.1111/eve.13018>
- McAuliffe, S. B. (2008). Neonatal examination, clinical procedures and nursing care. In S. B. McAuliffe & N. M. Slovis (Eds.), *Color Atlas of Diseases and Disorders of the Foal* (1st ed., pp. 43–78). Saunders Elsevier.
- McClure, J. J. (2000). Equine Autoimmunity. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 16(1), 153–164. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30124-4](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30124-4)
- McCue, P. M. (2014). Screening the Pregnant Mare to Prevent Neonatal Isoerythrolysis. In P. Dascanio, John J.; McCue (Ed.), *Equine Reproductive Procedures* (1st ed., pp. 289–290). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118904398>
- McKenzie III, H. C. (2018). Disorders of Foals. In S. M. Reed, W. M. Bayly, & D. C. Sellon (Eds.), *Equine Internal Medicine* (4th ed., pp. 1365–1459). Elsevier Inc.
- Mealey, R. H., & Long, M. T. (2018). Mechanisms of Disease and Immunity. In S. M. Reed, W. M. Bayly, & D. C. Sellon (Eds.), *Equine Internal Medicine* (4th ed., pp. 3–78). Elsevier Inc.
- Meindel, M. J., & Wilkerson, M. J. (2015). Anemia. In K. A. Sprayberry & N. E. Robinson (Eds.), *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine* (7th ed., pp. 471–475). Elsevier Saunders.
- Michel, R. L. (2009). Blood Groups, Typing and Cross-matching of Animal Blood. *Bulletin of the American Society of Veterinary Clinical Pathologists*, 4(2), 3–10. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.1975.tb00042.x>
- Morel, Mina C. G. Davies. (2007). Managing the Newborn Foal and the Lactating Mare. In Mina C. G. Davis Morel (Ed.), *Breeding Horses* (1st ed., pp. 161–186). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

<https://doi.org/10.1002/9780470751176.ch7>

- Morresey, P. R. (2005). Prenatal and Perinatal Indicators of Neonatal Viability. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 4(3), 238–249. <https://doi.org/10.1053/j.ctep.2005.07.005>
- Mudge, M. C., & Williams, O. H. (2016). Equine Transfusion Medicine. In K. Yagi & M. K. Holowaychuk (Eds.), *Manual of Veterinary Transfusion Medicine and Blood Banking* (1st ed., pp. 307–320). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118933053.ch22>
- Munroe, G. A., & Weese, J. S. (2011). *Equine Clinical Medicine, Surgery, and Reproduction*. (G. A. Munroe & J. S. Weese, Eds.) (1st ed.). Manson Publishing.
- Nógrádi, N., & Magdesian, K. G. (2018). Physical Examination of the Neonatal Foal. In L. R. R. Costa & M. R. Paradis (Eds.), *Manual of Clinical Procedures in the Horse* (1st ed., pp. 416–426). John Wiley & Sons, Inc.
- Orsini, J. A. (2011). A Fresh Look at the Process of Arriving at a Clinical Prognosis. Part 3: Neonatal Illness. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31(8), 434–446. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.07.001>
- Owens, S. D., Snipes, J., Magdesian, K. G., & Christopher, M. M. (2008). Evaluation of a rapid agglutination method for detection of equine red cell surface antigens (Ca and Aa) as part of pretransfusion testing. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(1), 49–56. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2008.00003.x>
- Peek, S. F. (2015). Hemolytic Disorders. In K. A. Sprayberry & N. E. Robinson (Eds.), *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine* (7th ed., pp. 492–495). Elsevier Saunders.
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0171.x>
- Russell, C. M., & Wilkins, P. A. (2006). Evaluation of the Recumbent Neonate. *Clinical Techniques in Equine Practice*. <https://doi.org/10.1053/j.ctep.2006.03.010>
- Sandberg, K., & Andersson, L. (1987). Segregation of blood group factors in horses with special reference to maternal-fetal incompatibility. *Genetics Selection Evolution*, 19(1), 9. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-19-1-9>
- Sandberg, K., & Gothran, E. G. (2000). Blood Groups and Biochemical Polymorphisms. In A. T. Bowling & A. Ruvinsky (Eds.), *The Genetics of the Horse* (pp. 85–108). CAB International.
- Schnobrich, M. R. (2018). Disorders of the Reproductive Tract. In S. M. Reed, W. M. Bayly, & D. C. Sellon (Eds.), *Equine Internal Medicine* (4th ed., pp. 1217–1364). Elsevier Inc.
- Scott, A. M., & Jeffcott, L. B. (1978). Haemolytic disease of the newborn foal. *The Veterinary Record*, 103(4), 71–74. <https://doi.org/10.1136/vr.103.4.71>
- Sellon, D. C. (2006). Neonatal Immunology. In M. R. Paradis (Ed.), *Equine Neonatal Medicine: A Case-Based Approach* (1st ed., pp. 31–50). Elsevier Saunders.
- Sprayberry, K. A. (2003). Neonatal transfusion medicine: The use of blood, plasma, oxygen-carrying solutions, and adjunctive therapies in foals. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(1), 31–41. [https://doi.org/10.1016/S1534-7516\(03\)000271](https://doi.org/10.1016/S1534-7516(03)000271)

- Stoneham, S. J. (2006). Assessing the Newborn Foal. In M. R. Paradis (Ed.), *Equine Neonatal Medicine: A Case-Based Approach* (1st ed., pp. 1–11). Elsevier Saunders.
- Stoneham, S., & Munroe, G. (2011). The foal. In G. A. Munroe & J. S. Weese (Eds.), *Equine Clinical Medicine, Surgery, and Reproduction* (1st ed., pp. 965–994). Manson Publishing.
- Sutton, D. G. M., & Sellon, D. C. (2013). Haematopoietic and immune systems. In T. S. Mair, S. Love, J. Schumacher, R. K. Smith, & G. S. Frazer (Eds.), *Equine medicine, surgery and reproduction* (2nd ed., pp. 195–210). Saunders Elsevier.
- Tan, R., Hughes, K., & Hodgson, D. (2005). Hyperlipaemia, neonatal isoerythrolysis and hepatocellular necrosis in a 3-day-old Thoroughbred foal. *Australian Veterinary Journal*, *83*(12), 740–741. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2005.tb11581.x>
- Tocci, L. J., & Ewing, P. J. (2009). Increasing patient safety in veterinary transfusion medicine: an overview of pretransfusion testing. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, *19*(1), 66–73. <https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00387.x>
- Tomlinson, J. E., Taberner, E., Boston, R. C., Owens, S. D., & Nolen-Walston, R. D. (2015). Survival Time of Cross-Match Incompatible Red Blood Cells in Adult Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *29*(6), 1683–1688. <https://doi.org/10.1111/jvim.13627>
- Toribio, R. E., & Mudge, M. C. (2013). Diseases of the foal. In T. S. Mair, S. Love, J. Schumacher, R. K. Smith, & G. S. Frazer (Eds.), *Equine medicine, surgery and reproduction* (2nd ed., pp. 423–450). Saunders Elsevier.
- Wardrop, K. J. (2005). The Coombs' test in veterinary medicine: past, present, future. *Veterinary Clinical Pathology*, *34*(4), 325–334. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2005.tb00057.x>
- Wong, D. M., & Sponseller, B. A. (2018). Potential impact of alloimmune antibodies on the neonatal foal. *Equine Veterinary Education*, *30*(12), 654–657. <https://doi.org/10.1111/eve.12763>
- Wong, David M., & Brockus, C. W. (2015). Hemopoietic Disorders in Foals. In K. A. Sprayberry & N. E. Robinson (Eds.), *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine* (7th ed., pp. 726–731). Elsevier Saunders.
- Wotman, K. L., & Johnson, A. L. (2017). Ocular Manifestations of Systemic Disease in the Horse. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2017.08.002>
- Zaruby, J. F., Hearn, P., & Colling, D. (1992). Neonatal isoerythrolysis in a foal, involving anti-Pa alloantibody. *Equine Veterinary Journal*, *24*(1), 71–73. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1992.tb02784.x>

Anexos

A Tabela 1 apresenta dados sobre as frequências cardíacas (FC) em batimentos por minuto (bpm), frequências respiratórias (FR) em respirações por minuto (rpm) e temperatura (T) em Graus Celsius (°C) em poldros neonatos saudáveis ao longo das primeiras horas e foi elaborada a partir de informações obtidas em algumas referências bibliográficas (Stoneham, 2006; Morel, 2007; Stoneham & Munroe, 2011; Austin, 2013; McKenzie III, 2018).

Tabela 1 – Frequências cardíacas, respiratórias e temperaturas em poldros neonatos saudáveis. Elaborado a partir de: (Stoneham, 2006; Morel, 2007; Stoneham & Munroe, 2011; Austin, 2013; McKenzie III, 2018).

<i>Idade</i>	<i>FC (bpm)</i>	<i>FR (rpm)</i>	<i>T°C</i>
<i>1 minuto</i>	40 – 80 (bradicardia)	Ofegante	37 – 39
<i>15 minutos</i>	120 – 160	40 – 60	37 – 39
<i>20 – 30 minutos</i>	120 – 160	50 – 75	37 – 39
<i>40 – 60 minutos</i>	150 – 175	50 – 75	37 – 39
<i>1 – 2 horas</i>	120 – 150	30 – 40	37 – 39
<i>Até 3 a 4 horas</i>	100 – 120	30 – 40	37 – 39
<i>12 horas</i>	80 – 120	30 – 40	37 – 39
<i>24 horas</i>	80 – 100	30	37 – 39
<i>Entre 48 a 72 horas</i>	60 – 80	20	37 – 39

Na Tabela 2 foram descritos alguns intervalos de referência dos parâmetros hematológicos e bioquímicos em poldros neonatos saudáveis. Esta foi elaborada a partir de informações obtidas de algumas referências bibliográficas (Axon & Palmer, 2008; Austin, 2013).

Tabela 2 – Intervalos de referência de parâmetros hematológicos e bioquímicos para poldros neonatos saudáveis. Elaborado a partir de: (Axon & Palmer, 2008; Austin, 2013).

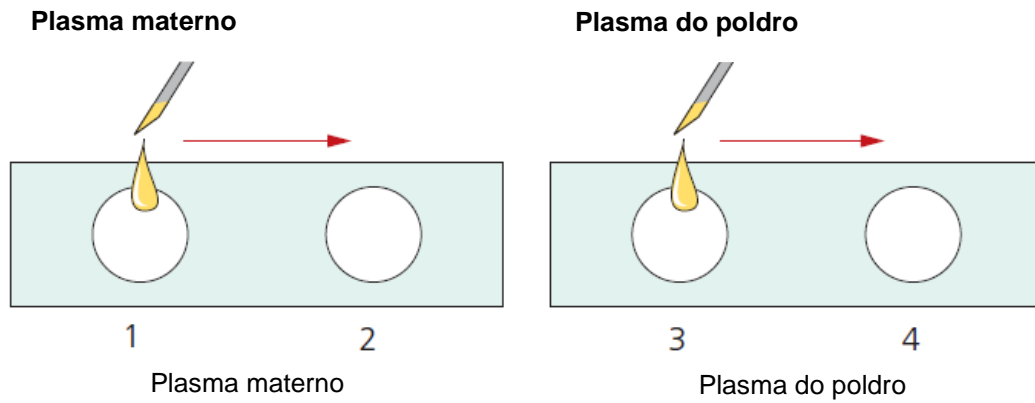
<i>Parâmetros</i>	<i>24 horas</i>	<i>2 – 7 dias de idade</i>
Contagem de eritrócitos ($\times 10^{12}/L$)	9.5 – 11.5	8.46 – 10.6
Hemoglobina (g/L)	13.3 – 15.5	12.0 – 14.4
HTC (%)	38 – 46	33 – 40
VCM (fL)	36.6 – 43.8	37.1 – 41.6
CHCM (%)	31.8 – 35.8	35.1 – 37.5
Contagem de leucócitos ($\times 10^9/L$)	6.1 – 11.2	6.9 – 11.3
Neutrófilos ($\times 10^9/L$)	4.2 – 8.6	4.5 – 8.5
Linfócitos ($\times 10^9/L$)	1.0 – 2.2	1.6 – 2.8
Monócitos ($\times 10^9/L$)	0.05 – 0.4	0.05 – 0.5
Eosinófilos ($\times 10^9/L$)	0	0 – 0.2
Basófilos ($\times 10^9/L$)	0 – 0.03	0 – 0.2
Rácio neutrófilos: linfócitos	3.2	3.0
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	100 – 3250	140 – 315
ALP/FAS (UI/L)	1182 – 3382	849 – 590
GGT (UI/L)	15 – 45	11 – 26
SDH (UI/L)	--	1 – 18
Bilirrubina total (mmol/L)	19 – 111	16 – 94
Bilirrubina conjugada (mmol/L)	5 – 12	7 – 20
Ácidos biliares (mmol/L)	--	0 – 8.0
AST (UI/L)	99 – 209	165 – 285
CK (UI/L)	40 – 909	52 – 143
Creatinina (mmol/L)	150 – 256	88 – 150
Ureia (mmol/L)	3.5 – 4.0	2.3 – 4.0
Total de proteínas plasmáticas (g/L)	54 – 69	58 – 70
Albumina (g/L)	25 – 34	25 – 34
Lactato desidrogenase (UI/L)	387 – 487	390 - 590

Tabela 3 – Procedimento para teste de compatibilidade com o sangue do poldro (*Crossmatching*). Adaptado de: (Knottenbelt et al., 2004b).

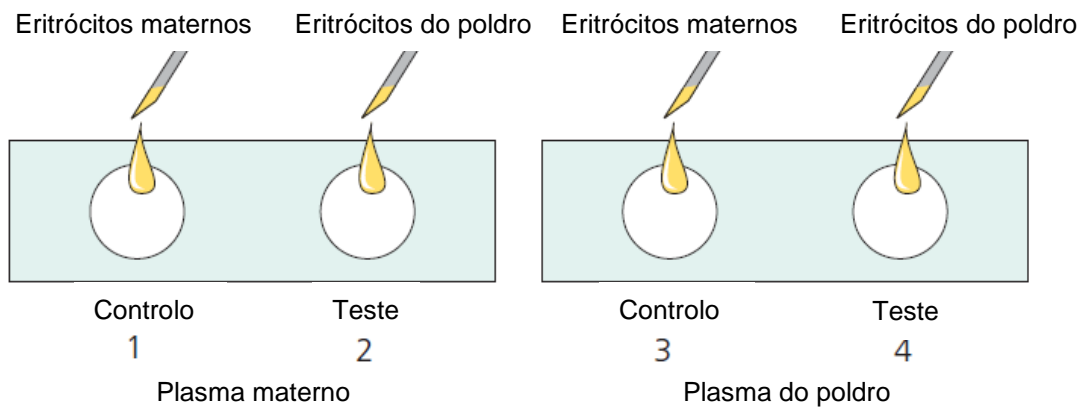
O procedimento da técnica de *Crossmatching* requer 10 mL de sangue coagulado (tubo seco) e 10 mL de sangue com anticoagulante (ACD – Ácido Citrato Dextrose).

Material	1. Tubos para colheita de sangue (tubo seco e tubo com ACD)
	2. Lâminas para microscopia óptica
	3. Centrífuga adequada aos tubos de colheita
	4. Solução salina isotônica (NaCl 0.9%)
	5. Pipetas e varetas de vidro
Método	1. Ao nascimento obter: <ul style="list-style-type: none"> • sangue da égua - veia jugular; • sangue do poldro – vasos na terminação da placenta com o cordão umbilical (evitar colheitas IV em poldros recém-nascidos).
	2. Identificar as amostras.
	3. Colocar 5 mL de solução salina em 2 tubos para centrífuga estéreis e identificar com égua e poldro, respetivamente.
	4. Empurrar com a vareta de vidro o coágulo formado no tubo e, em seguida, transferir a mesma para o respetivo tubo de amostra. Este passo deve resultar em suspensões fracas de eritrócitos da égua e do poldro.
	5. Centrifugar as amostras de sangue coagulado e de suspensão por 2-3 minutos.
	6. Remover as amostras de suspensão e descartar o sobrenadante. Ressuspender as células em 5 mL de uma nova solução e repetir a centrifugação.
	7. Repetir o procedimento de lavagem da suspensão de eritrócitos pelo menos 5 vezes. Depois da última lavagem, ressuspender as células apenas numa gota ou 2 de solução salina de modo a promover uma suspensão “mais forte” dos eritrócitos.
	8. Durante os passos de lavagem, separar o soro de ambas as amostras de sangue coagulado.
	9. Preparar 2 lâminas sob uma folha de papel. Identificar e seguir a descrição conforme a Figura 8.
	10. Interpretar os resultados conforme a Figura 9.

Passo 1 – Em cada lâmina, colocar uma gota de plasma da respetiva amostra em ambas as marcações:



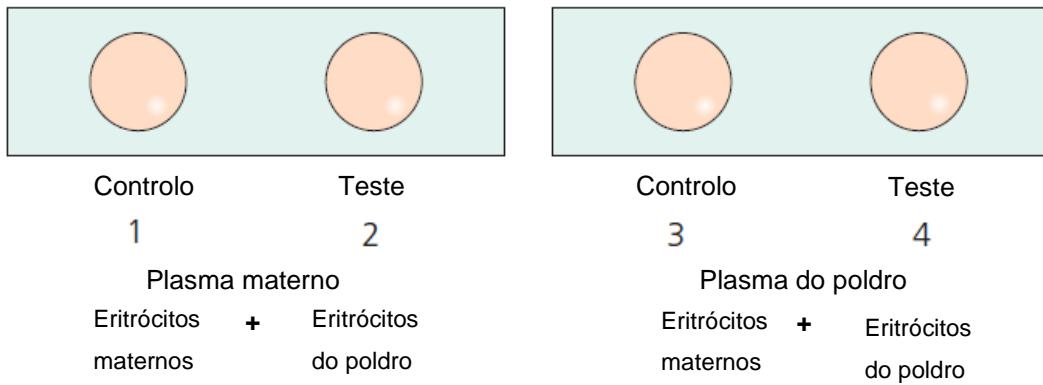
Passo 2 – Adicionar uma gota de eritrócitos lavados a cada gotícula de plasma:



Passo 3 – Agitar a lâmina com cuidado para misturar uniformemente os eritrócitos nas gotas de plasma. Incubar por 10-15 minutos em ambiente húmido e temperatura ambiente (e.g. placa de *Petri*).

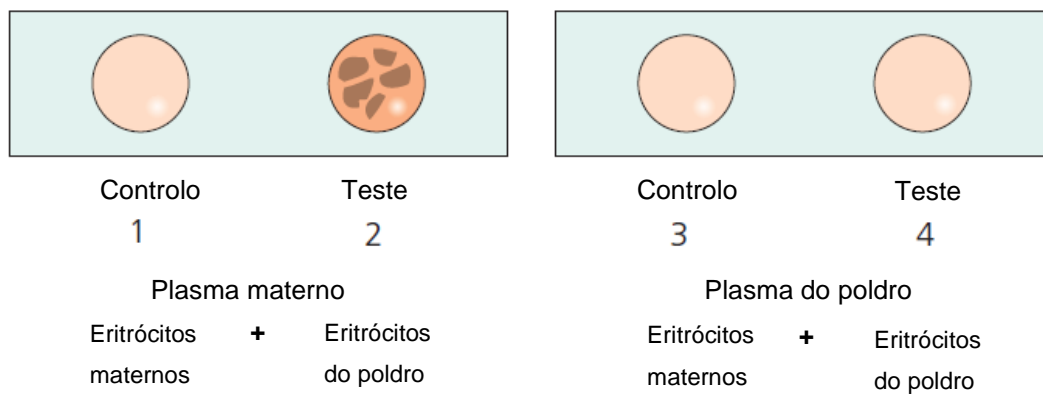
Figura 8 – Método ilustrado para realização do teste de compatibilidade com o sangue do poldro. Adaptado de: (Knottenbelt et al., 2004b).

Opção 1:



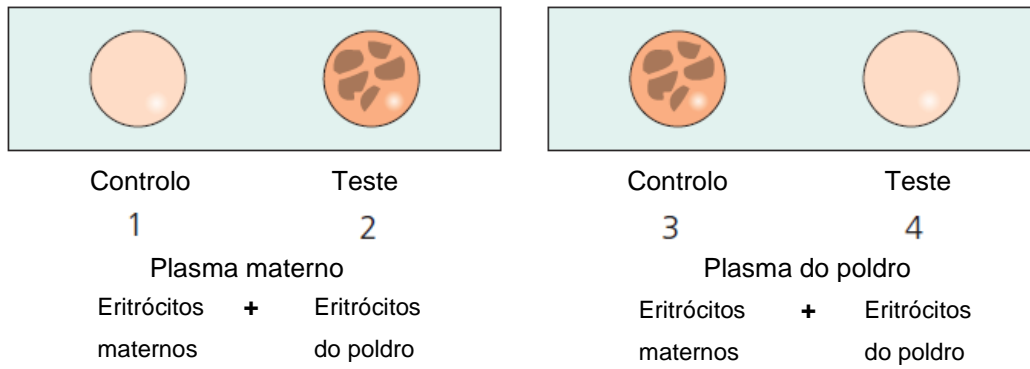
Resultado – Sedimentação homogénea dos eritrócitos num depósito tipo tapete = **compatível**.

Opção 2:



Resultados – Sedimentação homogénea dos eritrócitos num depósito tipo tapete, exceto no plasma materno com os eritrócitos do poldro (hemaglutinação heterogénea) = **incompatível**.

Opção 3



Resultados – Sedimentação homogénea dos eritrócitos num depósito tipo tapete apenas nos controlos; nos testes aglomerados heterogéneos (hemaglutinação) = **totalmente incompatível**.

Figura 9 – Método ilustrado para interpretação dos resultados do teste de compatibilidade com o sangue do poldro. Adaptado de: (Knottenbelt et al., 2004b).

Tabela 4 – Procedimento para o teste de aglutinação do poldro ictérico. Adaptado de: (Knottenbelt et al., 2004b; Blackmer, 2010).

Material	1. Centrifuga 300-600 g
	2. Tubos de teste ou tubos para colheita de sangue
	3. Pipetas para volumes de 1.0 mL
	4. Solução salina isotónica (NaCl 0.9%) à temperatura ambiente
	5. Colostro materno – filtrar através de gazes
	6. Sangue do poldro antes de mamar (heparina de lítio/citrato/EDTA)
	7. Sangue materno (heparina de lítio/citrato/EDTA) para amostra de controlo
Método	1. Preparar 7 tubos com 1 mL de solução salina. Marcar consecutivamente 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, controlo NaCl (pode ser preparado um 8º tubo se a água for usada como controlo negativo)
	2. Realizar diluições seriadas com o plasma (ou colostro) materno: <ul style="list-style-type: none"> a) adicionar 1 mL ao tubo 1:2 e misturar com a pipete; b) remover 1 mL do tubo 1:2 e adicionar ao tubo 1:4, misturar; c) remover 1 mL do tubo 1:4 e adicionar ao tubo 1:8, misturar; d) realizar o mesmo procedimento até ao tubo 1:64; e) descartar 1 mL do tubo 1:64.
	3. Adicionar uma gota do sangue total do poldro a cada um dos tubos, incluindo os tubos controlo e misturar as amostras por agitação ou num agitador “vortex”
	4. Centrifugar os tubos por 2-3 minutos a 200-300 g (Knottenbelt et al., 2004b) ou a uma velocidade média a 300-500 g (Blackmer, 2010).
	5. Descartar o sobrenadante através da inversão dos tubos e derrame do conteúdo. Observar o status do botão de eritrócitos no fundo dos tubos enquanto o sobrenadante é derramado.
Interpretação	Aglutinação completa – as células permanecem no fundo do tubo num aglomerado compacto em forma de botão e não se movem quando o tubo é inclinado.
	Reações positivas – diluições de 1:16 ou superiores que demonstram o aglomerado em botão.
	Amostras negativas – movimento livre das células <ul style="list-style-type: none"> • Controlo NaCl – se presença de aglutinação, pode indicar que o poldro já absorveu Ac e os eritrócitos apresentam ligação Ag-Ac. • Colostro materno pode ser testado com os eritrócitos maternos para certificar que a aglutinação não é causada pela viscosidade do mesmo.