



Esther Siegers, Mathijs Theelen en Marianne Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan
Universiteitskliniek voor Paarden, Utrecht

Neonatale isoerythrolyse bij het veulen

Ieder voorjaar worden er wel enkele veulens met neonatale isoerythrolyse (NI) aangeboden bij de Universiteitskliniek voor Paarden. NI is een levensbedreigende aandoening voor veulens die, wanneer de diagnose snel wordt gesteld en er direct wordt ingegrepen (niet meer bij merrie laten drinken en zo nodig een bloedtransfusie), een goede kans op overleven hebben. De vraag is vervolgens kun je verder fokken met de merrie en wat doe je bij een volgend veulen?

Introductie

NI is een immuungemedieerde aandoening waarbij de erythrocyten van het neonatale veulen worden afgebroken door maternale antilichamen die het veulen bij het drinken van biest binnen heeft gekregen. De prikkel voor de merrie om antilichamen te maken tegen bloedgroep allergeen van het veulen is bloed-bloed contact tussen veulen en merrie. Momenten waarop de immuunrespons bij de merrie kan worden opgewekt, zijn:

- blootstelling aan foetale erythrocyten door placentale aandoeningen tijdens de dracht
- transplacentale bloeding aan einde van de dracht of tijdens de partus
- eerdere bloedtransfusies of toediening van serumhoudende producten bij de merrie.

De immuunrespons bij de merrie wordt opgewekt als het veulen bloedgroepen heeft geërfd van de hengst die verschillend zijn van de bloedgroepen van de merrie. Er zijn bij het paard vele bloedgroepen bekend en die van merrie en hengst zijn zelden gelijk. De bloedgroepen die het meest immunogeen zijn, zijn Aa en Qa. Dat wil zeggen dat veulens met de bloedgroepen Aa en/of Qa de sterkste immuunrespons bij de merrie zullen opwekken als de merrie zelf deze bloedgroepen niet heeft. De antilichamen worden door de merrie geproduceerd en komen in de biest terecht. Meestal is er geen probleem voor het veulen waarbij het bloed-bloed contact is opgetreden, maar komt een volgend veulen wel in de problemen als deze dezelfde bloedgroepen als het eerste veulen heeft. De aandoening wordt dus zeer zelden gezien bij primipare merries. Echter, is er bloed-bloed contact tussen merrie en foetus opgetreden tijdens de dracht dan kunnen de antistoffen aan het einde van die dracht al in de biest terecht komen met als gevolg NI bij de neonaat.

Volgende veulens van dezelfde merrie hebben, zeker als met dezelfde hengst wordt gedekt, een vergroot risico op NI. Als de merrie een veulen heeft gehad met NI zijn er diverse mogelijkheden:

- niet meer met deze merrie fokken
- embryotransplantatie of een andere moderne voortplantingstechniek toepassen, waarbij aangetekend moet worden dat bij pluripare draagmerries natuurlijk ook antilichamen tegen bepaalde bloedgroepen in de biest kunnen voorkomen
- van tevoren controleren of het veulen wel/niet veilig biest van de merrie kan drinken.

Symptomen

Veulens worden volkomen normaal geboren en drinken meestal goed. Na 1 tot 5 dagen wordt een veulen met NI sloom, wil niet meer drinken en krijgt een hoge ademhaling en pols. Incidenteel wordt een veulen met NI dood gevonden omdat de isoerythrolysis heel massaal is opgetreden.



Afbeelding 1: Duidelijk gele slijmvliezen bij een veulen met NI van 5 dagen oud.



Afbeelding 2: Duidelijke gele sclera van hetzelfde veulen met NI.

Bij klinisch onderzoek valt op dat de slijmvliezen bleek en/of geel zijn (Afbeelding 1 en 2). De bleekheid is bij ernstige uitdroging vaak niet zo duidelijk. Soms sterft het veulen binnen enkele uren. Vaak wordt roodbruine urine gezien door hemoglobine in de urine als gevolg van de ernstige hemolyse. Het plasma of serum van de patiënt kan eveneens rood verkleuren, echter dit gebeurt niet altijd (Afbeelding 3). De hematocriet kan sterk variëren (van 0,05 tot 0,25 L/L) als gevolg van minder of meer uitdroging. Door onvoldoende zuurstofvoorziening van de weefsels is de plasmalactaatconcentratie vaak verhoogd. De pH en de veneuze zuurstofspanning zijn vaak verlaagd. De snelste test om in de praktijk NI te bewijzen is het afnemen van bloed in een EDTA of een heparinebuisje en dit even laten staan of even afdraaien. Als het plasma rood van kleur is, is de diagnose NI de meest waarschijnlijke. De hemolyse is echter niet altijd zichtbaar in het plasma of serum.

Behandeling

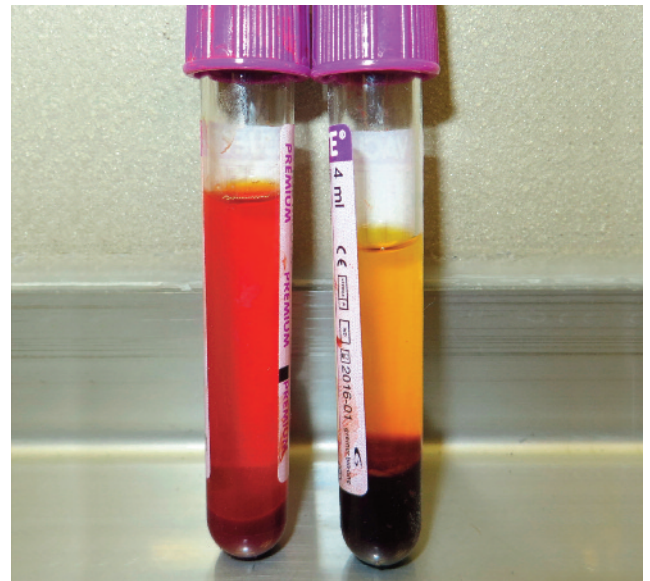
Behandeling van lichte gevallen van NI is doorgaans niet nodig. Als de ademhaling- en polsfrequentie veel te hoog zijn, kan besloten worden een bloedtransfusie te geven. Formeel kan dat het beste met gewassen ery's van de merrie, maar dit is in de praktijk zelden haalbaar. Daarom wordt doorgaans bloed van een jonge ruïn of bloed van een jonge merrie, waarvan men zeker weet dat ze nooit een veulen heeft gehad, gebruikt. Liever een jong dier dan een ouder dier om de kans op een bloedtransfusies eerder in het leven zo klein mogelijk te maken. Doorgaans is 1 liter bloed voldoende om het veulen de kans te geven het probleem verder zelf te boven te komen. Dit bloed kan het beste bij opvangen onstolbaar worden gemaakt met 100 ml citraat per liter bloed, maar citraat is in de praktijk doorgaans niet voor handen en dan voldoet 1 ml heparine (5000 IE/ml) per 1 liter bloed ook goed. Voor de bloedtransfusie geldt zeker niet 'hoe meer hoe beter'. Bij het geven van meer bloed neemt de kans op leverproblemen of neurologische verschijnselen door hyperbilirubinemie enorm toe. Toediening van > 4L bloed geeft bijna 20x meer kans op leverproblemen), omdat rode bloedcellen die per transfusie gegeven worden slechts een gemiddelde levensduur van 3-5 dagen hebben en deze moeten dus door het jonge veulen allemaal weer worden afgebroken. De prognose is bij een passende therapie over het algemeen goed. Wel kunnen er een aantal

complicaties optreden, zoals nierschade door de hoge concentraties hemoglobine en epileptiforme aanvallen door hypoxie of als gevolg van hyperbilirubinemie (dit wordt 'kernicterus' genoemd). De beste behandeling van NI is nog altijd preventie.

Preventie door diagnostische testen

Mag het veulen biest drinken?

Er zijn verschillende testen beschikbaar om in te schatten of het veulen veilig biest kan drinken, maar deze moeten wel direct post partum uitgevoerd worden vóór dat het veulen mag drinken. Sommige, zoals de hemolytische cross-match test, kunnen alleen door een gespecialiseerd laboratorium worden uitgevoerd. Een test die redelijk betrouwbaar is en makkelijk in de praktijk is uit te voeren, is de Jaundice Foal Agglutination (JFA) test. NI wordt veroorzaakt door hemolyserende antilichamen en in de hemolytische cross-match test worden die getest. In de JFA test wordt op agglutinerende antilichamen getest. De meeste hemolyserende antilichamen hebben ook milde agglutinerende eigenschappen vandaar dat de JFA test bruikbaar is. Theoretisch gezien kunnen er met de JFA test dus wel antilichamen worden gemist.



Afbeelding 3: Twee afgedraaide EDTA-buisjes met links bloed van een veulen met NI (Ht was 0,08 L/L) en duidelijk roodgekleurd plasma en rechts bloed van een andere patiënt (Ht 0,27 L/L) en duidelijk gele gekleurd plasma.

Hemolytische cross-match

De meest betrouwbare test voor NI is een hemolytische cross-match test. Hierbij wordt serum van de merrie gemengd met erythrocyten van het veulen vóórdat het veulen gedronken heeft met als toevoeging een exogene bron van complement. Hemolyse treedt op als er antilichamen tegen de erythrocyten van het veulen aanwezig zijn. De test wordt als positief gezien als er hemolyse optreedt bij verdunningen >1:16. Deze test moet in een gespecialiseerd laboratorium worden uitgevoerd omdat hier complement voor nodig is.

► Jaundice Foal Agglutination test

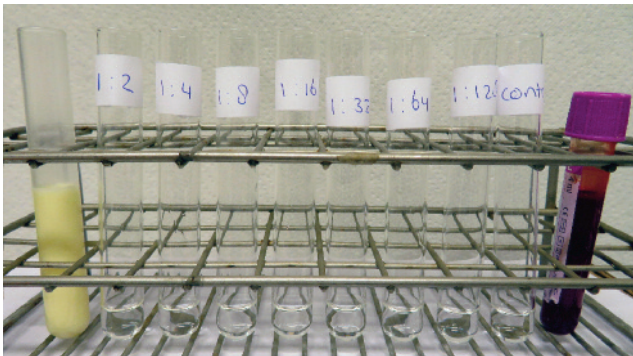
De JFA-test correleert redelijk tot goed met bovenstaande hemolytische cross-match test en kan redelijk makkelijk zelf worden gedaan. De JFA-test is echter minder sensitief en specifiek dan de hemolytische cross-match en moet worden uitgevoerd direct na de geboorte en voordat het veulen bij de merrie mag drinken.

Benodigheden

- 10 ml biest van de merrie
- 5 ml EDTA - bloed van het veulen
- 10 ml 0,9% NaCl oplossing
- 8 glazen reageerbuisjes
- centrifuge geschikt voor 5 of 10 ml buisjes.

Uitvoering

1. Schrijf op de buizen de volgende verdunningen:
 - a. 1:2 – 1:4 – 1:8 – 1:16 – 1:32 – 1:64 – 1:128 en controle (Afbeelding 4)



Afbeelding 4: Gelabelde buizen voor de verdunningsreeks van de biest met in iedere buis 1 ml fysiologische zoutoplossing.



Afbeelding 5: Verdunningsreeks van de biest.



Afbeelding 6: Aan elke buis wordt 1 druppel veulenbloed (EDTA) toegevoegd met behulp van een Pasteurse pipet.

Afbeelding 7: De buizen worden in de centrifuge geplaatst.

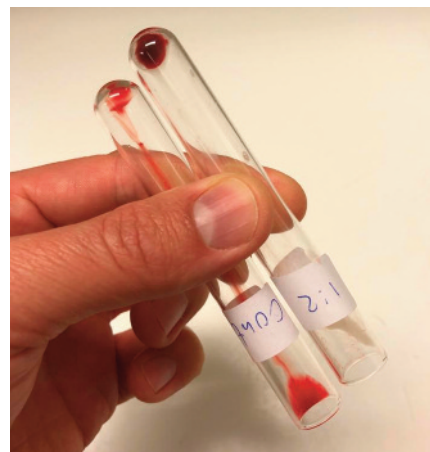
2. Verdun de biest van de merrie als volgt
 - a. in de eerste buis 1 ml biest + 1 ml 0,9% NaCl (1:2)
 - b. in de tweede buis 1 ml uit de 1:2 verdunning + 1 ml 0,9% NaCl (1:4)
 - c. in de derde buis 1 ml uit de 1:4 verdunning + 1 ml 0,9% NaCl (1:8) en ga zo door tot en met de 1 op 128 verdunning; haal vervolgens 1 ml uit de 1:128 verdunning (zodat het volume in alle buizen gelijk is, namelijk 1 ml).
 - d. in de laatste buis (controle) alleen 1 mL 0,9% NaCl (Afbeelding 5)
3. Voeg met een Pasteurse pipet aan elke reageerbuis 1 druppel veulenbloed toe (EDTA buisje even voorzichtig zwenken voor het opzuigen) en de reageerbuis na toevoegen direct even mengen (Afbeelding 6)
4. Centrifugeer alle buizen gedurende 2 tot 3 minuten bij 300 – 500 x g - dat komt overeen bij een centrifuge met een radius/straal van 8 cm met ± 2000 toeren per minuut (Afbeelding 7)
5. Giet het supernatant af door de buizen langzaam ondersteboven te draaien
 - a. begin met de controle buis, hier hoort het verdunde bloed als een streep uit te lopen
 - b. gebeurt dit niet, dan is er al agglutinatie opgetreden, dit kan gebeuren als het veulen vóór de test al wat biest heeft gedronken
6. Houdt vervolgens de buizen om beurten op de kop en controleer op agglutinatie (Afbeelding 8-10)
 - a. blijft al het verdunde bloed als een prop in de buis zitten dan is de test sterk positief voor die verdunning
 - b. loopt het verdunde bloed er wel uit maar is er wel duidelijk klontvorming, dan is de test eveneens positief voor die verdunning
 - c. zijn er kleine stolsel zichtbaar bij het uitlopen, dan is er sprake van een mild positieve test voor die verdunning

Als agglutinatie optreedt bij verdunningen groter dan 1:16, dan is er sprake van een zeer hoog risico op het ontwikkelen van NI en is het niet veilig voor het veulen om bij de merrie te drinken. Bij de lagere verdunningen (1:2, 1:4 en 1:16) kan valse agglutinatie optreden door biesteigenschappen.

Is de merrie een risico?

Bloedgroep typering

Bij een merrie die een NI veulen heeft gehad is het zinvol om de bloedgroepen van de merrie en die van het beoogde vaderdier te kennen. Echter van de meeste dekhengsten is heden ten dage geen informatie over de bloedgroepen meer bekend. Een merrie die geen Aa of Qa bloedgroep heeft, heeft een verhoogd risico op een NI veulen, omdat deze bloedgroepen relatief vaak voorkomen en het vaakst anti-lichaamproductie initiëren. Het dekken van de merrie met een hengst die negatief voor Aa en Qa is zal een veulen zonder Aa en Qa antigeen brengen en daarmee wordt het risico op NI zeer klein (naast Aa en Qa kunnen ook andere bloedgroepantigenen nog steeds NI veroorzaken). Het is mogelijk om de bloedgroepen van een paard te laten testen. Dit kan onder meer bij het CAG GmbH (Center for Animal Genetics; www.centerforanimalgenetics.com/de/ni) in Duitsland.



Afbeelding 8: Bij het omdraaien van de buis blijft een pellet (prop) van bloed achter: er is agglutinatie opgetreden.

Afbeelding 9: Bij het omdraaien van de buis stroomt alle inhoud eruit: er is geen agglutinatie opgetreden.

Afbeelding 10: Duidelijk verschil tussen de buizen waar wel agglutinatie is opgetreden (verdunding 1:2, rechts op de foto) en waar geen agglutinatie is opgetreden (controle, links op de foto).

Testen op bloedgroep-antilichamen

Het testen van de bloedgroepantilichaamstatus 2 tot 4 weken voor de verwachte partus datum is mogelijk, maar geeft maar weinig extra informatie omdat enerzijds alleen een hoge concentratie betrouwbaar wordt gemeten en anderzijds niet zeker is of die antilichamen wel tegen bloedgroepen van het huidige veulen zijn.

Opvang van een NI veulen

Als uit de voorgeschiedenis en/of uit testuitslagen blijkt dat een veulen at risk is voor NI en het niet veilig is voor het veulen om bij de merrie te drinken, dan dient het veulen op een andere manier van vocht, energie en antistoffen te worden voorzien. Het advies is om het veulen minimaal 24 uur, maar liever 48 uur niet bij de merrie te laten drinken. Eventueel de melk nogmaals testen met de JFA-test, want als de test niet meer agglutineert, zitten er niet veel antistoffen meer in de melk. In die periode moet de merrie elke 2 tot 4 uur worden uitgemolken (melk weggooien) om de melkproductie op gang te houden. Het veulen moet biest van een andere (gecontroleerde) merrie of hyperimmuunplasma met kunstmelk krijgen. Bij gebruik van biest van een andere merrie kan natuurlijk ook een JFA-test gedaan worden om zeker te zijn dat deze biest vrij is van antilichamen tegen de erythrocyten van het veulen. De vocht-opname moet \pm 10-15% van het lichaamsgewicht van het veulen per 24 uur zijn. Dit is voor een 50 kg KWPN veulen 500 ml melk elke 2 uur. Het is het beste om de veulens direct uit een bakje te leren drinken (eventueel met vingers in een schone handschoen helpen). De meeste gezonde veulens leren dit snel. Uit een bakje of eventueel via een spenenmer is beter dan met de fles omdat bij met de fles voeren de kans op verslikken veel groter is. Sommige veulens laten de melk, als deze wat makkelijk uit de fles komt, zonder veel hoesten in de trachea/longen lopen met alle complicaties van dien.

Als er geen paardenbiest beschikbaar is, is het essentieel om het veulen op een andere manier van antistoffen te voorzien. De meest geschikte optie hiervoor is het toedienen van

commercieel hyperimmuun plasma. Een andere optie is het verstrekken van koebiest met extra suiker of kunstbiest voor paarden. Deze biest-verters voor paarden bevatten echter doorgaans ook koebiest met runderantilichamen. Deze worden niet optimaal door een veulen opgenomen en geven het veulen geen bescherming tegen specifieke paardenziektekiemen.

Bij de UKP hebben we de ervaring dat de kans op een transfusiereactie bij het toedienen van hyperimmuunserum groter is bij veulens die eerder al (gedroogde) koebiest hebben gekregen.

Conclusie

Neonatale isoerythrolysis komt waarschijnlijk vaker voor dan we denken. Sommige veulens zullen na een vlotte start heel goed biest drinken en dan onverwacht snel sterven waarbij de diagnose NI lang niet altijd wordt gesteld. Andere veulens hebben wel wat problemen maar verliezen niet zoveel ery's dat ze in levensgevaar komen en ook in deze groep wordt de diagnose NI niet altijd gesteld.

Bij de groep veulens daar tussenin kan het ziekteverloop sneller of minder snel verlopen. Het is in ieder geval van groot belang de diagnose te stellen niet alleen voor het veulen van dit jaar maar vooral ook voor de veulens van de betreffende merrie in volgende jaren. De JFA-test kan op relatief eenvoudige wijze helpen NI te voorkomen.

Dankwoord

Graag willen de auteurs dr. Ellen Roelfsema hartelijk danken voor het kritisch lezen van de tekst.

Literatuur

Literatuur is op te vragen bij de auteurs. ■

Voor beschikbare informatie over dit artikel: www.dier-en-arts.nl >

DIER • EN • ARTS online of scan de onderstaande QR-code

