



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EFFECTOS DEL TRANSPORTE SOBRE INDICADORES SANGUÍNEOS
DE ESTRÉS EN POTRILLOS FINA SANGRE INGLÉS**

FRANCISCO JESÚS LEAL FERNÁNDEZ

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Fomento de la
Producción Animal.

PROFESOR GUÍA: DRA. TAMARA ALEJANDRA TADICH GALLO
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE

2015



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EFFECTOS DEL TRANSPORTE SOBRE INDICADORES SANGUÍNEOS
DE ESTRÉS EN POTRILLOS FINA SANGRE INGLÉS**

FRANCISCO JESÚS LEAL FERNÁNDEZ

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario

Departamento de Fomento de la
Producción Animal.

Nota Final

Prof. Guía Dra. Tamara Alejandra Tadich Gallo

Profesor Corrector Dra. María Sol Morales Silva

Profesor Corrector Dr. Víctor Hugo Parraguez Gamboa

SANTIAGO, CHILE

2015

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

A mis padres por su infinito apoyo, confianza y amor.

A mi hija Celeste por ser mi permanente motivación.

A mi pareja Daniela por sus consejos, apoyo, comprensión y amor.

A mis hermanos por su apoyo y compañía.

A mis profesores, especialmente a mi profesora guía, Dra. Tamara Tadich, por su infinita paciencia, ayuda y enseñanza.

A mis amigos y camaradas de estudio Natalia, Fernando y Leandro, por esas eternas jornadas de estudio.

A los Dres. Adolfo Godoy y Cristóbal Cantuarias por sus consejos y motivación.

A todas las personas que hicieron posible este estudio, en especial al Dr. Iván Castelblanco por su confianza y disposición.

A todos los que estuvieron y están.

Muchas Gracias.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del transporte sobre las concentraciones de indicadores sanguíneos de bienestar animal potrillos fina sangre inglés. Para esto se evaluó cortisol y la relación neutrófilos:linfocitos (N:L) como indicadores de estrés; las enzimas creatinfosfoquinasa (CK) y aspartatotransaminasa (AST) como indicadores de daño muscular; el volumen globular aglomerado (VGA%) y proteínas totales (PT) como indicadores de deshidratación. Puesto que el vehículo utilizado para el transporte poseía una capacidad máxima para nueve potrillos, se utilizaron dos grupos, V_1 y V_2 , de ocho y siete equinos respectivamente, los cuales fueron sometidos a un transporte de 850 Km, que demoró 15 horas aproximadamente. Se tomaron muestras de sangre previo al destete, previo al transporte y a la llegada a destino. Los resultados obtenidos mostraron que el transporte generó un alza significativa en las concentraciones de cortisol para V_2 y V_1+V_2 , mientras que las diferencias encontradas en N:L no fueron significativas en demostrar estrés post-transporte tanto para V_1 como V_2 , ya que el recuento de linfocitos se vio influenciado por el efecto de la vacunación con Pneumoabort K+1B[®] al destete. Por otro lado, tanto CK como de AST no fueron concluyente en demostrar un daño muscular post-transporte, no encontrándose diferencias significativas en V_1 como V_2 y V_1+V_2 . Por último, ambos indicadores de deshidratación mostraron alzas significativas post-transporte, tanto para V_1 , V_2 y V_1+V_2 . Quedando en evidencia la respuesta de estrés y deshidratación provocados por el transporte, y por ende, el efecto negativo que genera este sobre el bienestar de los potrillos.

Palabras claves: potrillos, indicadores sanguíneos, estrés, bienestar animal, transporte.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess, in thoroughbred foals, the effects of transport on levels of some blood indicators of animal welfare. For this cortisol and neutrophil:lymphocyte ratio (N:L) were considered as indicators of stress; the enzymes aspartate aminotransferase (AST) and creatine kinase (CK) as indicators of muscular damage; and packed cell volume (VGA%) and total protein (PT) as indicators of dehydration. Since the vehicle used to transport had a maximum capacity of nine foals, two groups, V_1 and V_2 , of eight and seven equines respectively, were subjected to a transport of 850 km, which took approximately 15 hours. Blood sampling was done before weaning, before transport and at arrival after transport. The results showed that transport generated a significant rise in cortisol concentrations for V_2 and V_1+V_2 , while the differences observed in N:L were not significant to demonstrate stress post-transport for V_1 and V_2 , since the lymphocyte count was influenced by the effect of vaccination with Pneumoabort K+1B® at weaning. Furthermore, CK and AST were inconclusive in demonstrating muscular damage post with no significant differences for V_1 , V_2 and V_1+V_2 . Finally, both indicators of dehydration showed significant increases after transport, V_1 , V_2 and V_1+V_2 . Being in evidence the stress response and dehydration caused by transportation, and hence the negative effect generated by this on the welfare of the foals.

Keywords: foals, blood indicators, stress, animal welfare, transport.

INTRODUCCIÓN

Los equinos son transportados por diversas razones, tales como deporte, recreación, reproducción, producción de carne y sacrificio (Waran *et al.*, 2007), proceso en el cual pueden ser sometidos a una amplia gama de potenciales estresores tales como el aislamiento, exposición a nuevos patógenos, restricción a los patrones de actividad normal, adopción forzada de posturas anormales, temperaturas extremas y privación tanto de agua como de alimento (Friend, 2001).

El transporte en general es un factor estresante en equinos que puede elevar los niveles séricos de cortisol (Stull y Rodiek, 2000) y generar deshidratación. Basado en las concentraciones plasmáticas de cortisol, un estudio realizado con veinte equinos sometidos a un transporte de 24 horas, evidenció diferencias significativas antes y después del transporte (pre-transporte: $55,8 \pm 6,0$ $\mu\text{g/L}$ y post-transporte: $78,1 \pm 6,0$ $\mu\text{g/L}$) (Guay *et al.*, 2009). Por otra parte, cabe considerar que la liberación de cortisol genera neutrofilia y linfopenia, resultando en un aumento de N:L, siendo este un indicador más confiable de estrés que el sólo alza de cortisol (Wong *et al.*, 1992; Rudolph y Villouta, 2003).

Cualquier desviación en la rutina de los equinos, como el transporte, puede desencadenar cambios en el balance de agua. Equinos que nunca han sido transportados pueden experimentar un estrés marcado, lo cual genera una disminución en el consumo de agua. Al mismo tiempo, el animal experimenta un aumento de los requerimientos hídricos debido al transporte (Mansmann y Woodie, 1995). La deshidratación puede desencadenar una serie de situaciones metabólicas graves para la salud del equino (Mansmann y Woodie, 1995). Las etapas iniciales de la deshidratación son difíciles de determinar clínicamente, ya que un equino podría presentar hasta un 5% de deshidratación sin mostrar signos clínicos. Se ha demostrado que una deshidratación moderada además de afectar el rendimiento deportivo del equino también afecta el flujo de sangre hacia los cascos, lo cual aumenta el riesgo de padecer infosura. Otro problema que puede ocurrir durante el transporte, debido a la deshidratación y al consumo de alimentos secos es la impactación de colon (Mansmann y Woodie, 1995).

Además, el transporte puede resultar en un daño físico para los equinos, que puede ocurrir a través de colisiones que implican al vehículo de transporte, paradas repentinas, fatiga muscular, pérdida del equilibrio o ataques de equinos agresivos (Friend, 2001). La actividad sérica de la enzima CK constituye el examen más usado como indicador de daño de los miocitos por su alta sensibilidad, aumentando en caso de lesión de músculo esquelético y cardíaco. La vida media de CK en equinos es de aproximadamente dos horas, por lo que tiende rápidamente a desaparecer posterior a una lesión volviendo a valores basales uno a dos días de terminada la injuria. La actividad sérica de AST también incrementa posterior a una lesión muscular (mayor a un 50% respecto a su basal) y con menos sensibilidad que CK, además de no ser específica de daño muscular. La AST también aumenta en animales con daño hepático, pero presenta una vida media plasmática más larga que CK, siendo así de utilidad en el estudio de la evolución de una lesión (Wittwer, 2012). Dada esta evidencia, un estudio comparó los efectos de dos transportes de diferentes longitudes (50 Km y 200 Km) y tiempos (1 hora y 3 horas respectivamente). Para esto se tomaron muestras de sangre seriadas en diferentes tiempos durante el proceso: en reposo (T_0), durante la carga de los animales en el vehículo de transporte (T_1), durante la descarga de los animales del vehículo de transporte (T_2), a las dos (T_3) y cuatro (T_4) horas después del viaje. En el viaje largo (200 Km) se encontró un aumento significativo en los niveles de creatinfosfoquinasa (CK) a las dos horas después del viaje (T_0 : 204,25 UI/L; T_1 : 206,58 UI/L; T_2 : 199 UI/L; T_3 : 225,75 UI/L; T_4 : 207,83 UI/L), mientras que para los valores de AST no se encontraron variaciones significativas durante el mismo estudio (Tateo *et al.*, 2012).

El transporte de animales de ganado en Chile se encuentra regulado por el Decreto N° 30, el cual aprueba el reglamento sobre la protección del ganado durante el transporte. Éste, a pesar de no ser específico para los equinos, establece las normas tanto para la carga, transporte y descarga de animales en todas las categorías animales que provean carne, pieles, plumas y otros productos. Según su artículo Número 11, no deberán ser transportados animales como: hembras preñadas que se encuentren en el último 10% de gestación o que puedan parir durante el transporte; animales que no puedan permanecer de pie sin ayuda; recién nacidos con el ombligo sin cicatrizar y animales con evidente

compromiso de su estado general, que no puedan ser transportados sin causarles dolor o sufrimiento, a menos que se justifique su traslado por motivos terapéuticos (Chile, 2013).

A pesar de que existen publicaciones respecto al efecto del transporte sobre variables indicadoras de un pobre bienestar en equinos adultos, es escasa la información en individuos jóvenes. Es por esto que el presente estudio propone evaluar, en ejemplares jóvenes recientemente destetados, los efectos de un transporte sobre la concentración de algunos indicadores sanguíneos relacionados con estrés, daño muscular y deshidratación y por ende de bienestar animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Dado que el vehículo utilizado para el transporte poseía una capacidad máxima para 9 potrillos, se conformaron dos grupos, viaje 1 (V_1) y viaje 2 (V_2), de ocho y siete potrillos Fina Sangre Inglés respectivamente. Para V_1 el peso vivo promedio al inicio del estudio fue de $238,6 \pm 16,6$ Kg, mientras que para V_2 fue de $184,4 \pm 12,9$ Kg. En relación a la edad, el promedio para V_1 al inicio del estudio fue de 163 ± 10 días, mientras que para V_2 fue de $120 \pm 12,9$ días.

Para el traslado de los potrillos se utilizó el protocolo de traslado rutinario de potrillos del haras. Es decir un vehículo (Ford® Cargo 1722) adaptado para el transporte de equinos, en donde cada animal fue encerrado de forma individual en un cajón de 80 x 240 cm, sin cabeza amarrada, con acceso a alimento (soiling de ballica) y libertad para interactuar visualmente a través de una rejilla con los demás potrillos. Durante el viaje los animales se encontraron privados de agua e imposibilitados para ponerse en decúbito.

Diseño de estudio

Se realizaron dos viajes. El primero se realizó con el primer grupo de ocho potrillos (V_1), y el segundo con el grupo de los siete restantes (V_2). Cada viaje demoró un tiempo aproximado de 15 horas, en donde el vehículo recorrió una distancia aproximada de 850 Km (desde Santiago a Los Lagos, Chile). El vehículo realizó detenciones cada dos horas por lapsos de quince minutos aproximadamente, en donde el conductor pudo inspeccionar y comprobar la integridad de los animales.

A cada potrillo se le extrajeron tres muestras de sangre de 8 mL cada una, en los siguientes tiempos:

$T_{\text{pre-destete}}$: Previo al destete, dentro de la pesebrera y en compañía de la madre.

T_0 : Cinco y trece días posterior al destete de los potrillos para V_1 y V_2 respectivamente, al interior de la pesebrera y previo a la subida al vehículo de transporte.

T₁₅: Inmediatamente llegado el vehículo de transporte al destino, al interior del camión y previa descarga del animal.

Cada muestra de sangre obtenida se utilizó para medir:

- Cortisol, neutrófilos y linfocitos como indicadores de estrés.
- CK y AST para la evaluación de daño muscular.
- VGA y proteínas totales para determinar nivel de deshidratación.

Cada muestra de sangre se extrajo con una jeringa de 10 mL (aguja 21G x 1 1/2”), a través de punción de la vena yugular derecha, desinfectando previamente la zona con alcohol desnaturalizado de 95°.

Análisis de Muestras

Cada muestra de sangre se separó en dos tubos de 4 mL cada uno. El primero con EDTA para el análisis de VGA (micro hematocrito), recuento de neutrófilos (impedancia volumétrica) y linfocitos (impedancia volumétrica) y el segundo sin aditivos de donde se extrajeron dos muestras de suero, una para la medición de cortisol (radio inmuno análisis) y otra para la medición de CK (técnica colorimétrica), AST (técnica colorimétrica) y proteínas totales (impedancia volumétrica).

Para las muestras obtenidas en T_{pre-destete} y T₀, todos los hemogramas se realizaron en el Laboratorio de Química Clínica Especializada Ltda., mientras que los análisis bioquímicos de suero para la medición de CK, AST y proteínas totales se llevaron a cabo en el Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad Austral de Chile. Por otro lado, tanto los hemogramas como los análisis bioquímicos de suero para la medición de CK, AST y proteínas totales de las muestras obtenidas en T₁₅ se realizaron en el Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad Austral de Chile.

Para la medición de cortisol, todas las muestras fueron centrifugadas y el suero fue congelado a -20° C para ser posteriormente analizadas en el Laboratorio de Fisiología

Animal y Endocrinología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Concepción.

Análisis Estadístico

Las variables sanguíneas de cada grupo se evaluaron para determinar la distribución de los datos mediante el test de Shapiro-Wilk. Dependiendo de la distribución de los datos de cada grupo, se llevaron a cabo las siguientes pruebas estadísticas paramétricas o no paramétricas:

- En aquellos datos en donde ambos grupos evidenciaron una distribución normal, se procedió a comparar entre ambos grupos para cada uno de los tiempos de muestreo a través de una prueba estadística de T-Student.
- En aquellos datos en donde uno o ambos grupos no evidenciaron una distribución normal, se procedió a comparar entre ambos grupos para cada uno de los tiempos de muestreo a través de una prueba estadística de Wilcoxon Rank Sum.

Para las variables sanguíneas en donde las comparaciones evidenciaron diferencias significativas, se procedió a analizar los datos entre tiempo para cada grupo por separado a través de los test de análisis de varianza (ANDEVA) para medidas repetidas o Kruskal Wallis según la distribución de los datos. Sin embargo, para las variables en donde las comparaciones no evidenciaron diferencias significativas entre grupos, se procedió a analizar los datos de ambos grupos de forma conjunta, para cada tiempo de muestreo, a través de las mismas pruebas estadísticas.

Se estableció un nivel de significancia de $p < 0,05$. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el programa Statistix 8.0®.

RESULTADOS

1. Indicadores de estrés

1.1. Cortisol

Las concentraciones séricas de cortisol ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en los distintos tiempos de muestreo para V_1 y V_2 se detallan en la Tabla Nro. 1. Sólo se encontraron valores significativamente más altos en el T_{15} del V_2 ($p < 0,05$).

Tabla Nro. 1: Concentraciones séricas de cortisol ($\mu\text{g/L}$) de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestreo y evento de transporte (V_1 y V_2). V_1 : $n=8$ y V_2 : $n=7$ (medianas y rangos).

		V_1 ($n=8$)	V_2 ($n=7$)
Cortisol ($\mu\text{g/L}$)	$T_{\text{pre-destete}}$	36,5 (16 – 87,5)	38,1 (22,6 – 85,1) ^{ab*}
	T_0	38,8 (16,5 – 59,8)	36,1 (17,9 – 45,6) ^b
	T_{15}	55,2 (35,8 – 86,6)	58,5 (28,9 – 87,7) ^a

*Datos analizados a través de prueba estadística Wilcoxon Rank Sum. Letras distintas denotan diferencias significativas entre tiempos. V_1 : $p=0,1052$; V_2 : $p=0,0225$.

Al no existir diferencias significativas entre V_1 y V_2 se procedió a analizar los datos de cortisol como una sola población (V_1+V_2).

Las concentraciones séricas de cortisol ($\mu\text{g/L}$) obtenidos en los distintos tiempo de muestreo para V_1+V_2 se detallan en la Tabla Nro. 2. Los valores de cortisol se encontraron significativamente más altos en T_{15} ($p < 0,05$).

Tabla Nro. 2: Concentraciones séricas de cortisol ($\mu\text{g/L}$) de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestreo y evento de transporte (V_1+V_2). V_1+V_2 : $n=15$ (medianas y rangos).

		V_1+V_2 ($n=15$)
Cortisol ($\mu\text{g/L}$)	$T_{\text{pre-destete}}$	37,9 (16,0 – 87,5) ^b
	T_0	37,6 (16,5 – 59,8) ^b
	T_{15}	58,1 (28,9 – 87,7) ^a

Letras distintas denotan diferencias significativas entre tiempo. Dado que no existe una distribución normal de los datos se realizó una prueba de Kruskal Wallis en donde se evidenció un alza significativa entre los tiempos ($p=0,0012$).

1.2. Relación neutrófilos:linfocitos

El recuento de neutrófilos (neutrófilos/mm³), linfocitos (linfocitos/mm³) y N:L [(neutrófilos/mm³)/(linfocitos/mm³)] obtenidos en los distintos tiempos de muestreo para V₁ y V₂ se detallan en la Tabla Nro. 3. La N:L se encontró significativamente más alta en T_{pre-destete} para ambos grupos (p<0,05).

Tabla Nro. 3: Recuento de neutrófilos (neutrófilos/mm³), linfocitos (linfocitos/mm³) y N:L [(neutrófilos/mm³)/(linfocitos/mm³)] de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestreo y evento de transporte (V₁ y V₂). V₁: n=8 y V₂: n=7 (medianas y rangos).

V ₁ (n=8)			
	N (N/mm ³)	L (L/mm ³)	N:L[(N/mm ³)/(L/mm ³)]
T _{pre-destete}	7023 (5562 – 8550)	2506,5 (1566-5436)	2,8 (1,2 – 4,1) ^a
T ₀	6288,5 (4815 – 8512)	5082 (4066-5776)	1,3 (0,9 – 1,5) ^b
T ₁₅	6021 (4500 – 7332)	4378 (3600-6627)	1,2 (0,8 – 1,6) ^b
V ₂ (n=7)			
	N (N/mm ³)	L (L/mm ³)	N:L[(N/mm ³)/(L/mm ³)]
T _{pre-destete}	7869 (5452 – 8625)	2486 (1498 – 3612)	3,3 (1,9 – 5,7) ^a
T ₀	5184 (4272 – 8555)	3612 (2936 – 7396)	1,4 (0,7 – 2,5) ^b
T ₁₅	7412 (6760 – 11352)	3875 (3161 – 5120)	2,0 (1,4 – 2,8) ^b

Letras distintas denotan diferencias significativas entre tiempos. N:L (V₁): p=0,0007; N:L (V₂): p=0,0037.

Al existir diferencias significativas entre V₁ y V₂ se procedió a no analizar los datos de cortisol como una sola población (V₁+V₂).

2. Indicadores de daño muscular

2.1. Creatinfosfoquinasa

Las concentraciones séricas de CK (U/L) obtenidos en los distintos tiempos de muestreo para V₁ y V₂ se detallan en la Tabla Nro. 4. No se encontraron diferencias significativas entre tiempos de muestreo en ambos grupos para la enzima CK (p>0,05).

Tabla Nro. 4: Concentraciones séricas de CK (U/L) de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestro y evento de transporte (V_1 y V_2). V_1 : n=8 y V_2 : n=7 (medianas y rangos).

		V_1 (n=8)		V_2 (n=7)	
CK (U/L)	T_{pre-destete}	252	(210 – 313)	247	(217 – 382)*
	T₀	208,5	(171 – 321)	226	(182 – 262)
	T₁₅	217	(179 – 330)	251	(179 – 683)*

*Datos analizados a través de prueba estadística Wilcoxon Rank Sum. V_1 : p=0,2928; V_2 : p= 0,4270.

Al no existir diferencias significativas entre V_1 y V_2 se procedió a analizar los datos como una sola población (V_1+V_2).

Las concentraciones séricas de CK (U/L) obtenidos entre los distintos tiempo de muestreo para V_1+V_2 se detallan en la Tabla Nro. 5. No se encontraron diferencias significativas entre tiempos de muestreo para la enzima CK ($p>0,05$).

Tabla Nro. 5: Concentraciones séricas de CK (U/L) de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestro y evento de transporte (V_1+V_2). V_1+V_2 : n=15 (medianas y rangos).

		V_1+V_2 (n=15)	
CK (U/L)	T_{pre-destete}	250	(210 – 382)
	T₀	218	(171 – 321)
	T₁₅	230	(179 – 683)

Dado que no existe una distribución normal de los datos se realizó una prueba de Kruskal Wallis en donde no se evidenciaron diferencias entre los tiempos ($p=0,0687$).

2.2. Aspartatotransaminasa

Las concentraciones séricas de AST (U/L) obtenidos en los distintos tiempos de muestreo para V_1 y V_2 se detallan en la Tabla Nro. 6. Se encontraron valores significativamente más altos en T_{15} en relación a $T_{pre-destete}$ del V_2 ($p<0,05$).

Tabla Nro. 6: Concentraciones séricas de AST (U/L) de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestro y evento de transporte (V_1 y V_2). V_1 : n=8 y V_2 : n=7 (medianas y rangos).

		V_1 (n=8)	V_2 (n=7)
AST (U/L)	T_{pre-destete}	277 (245 – 303)	286 (238 – 307) ^b
	T₀	279,5 (229 – 313)	301 (284 – 368) ^{ab*}
	T₁₅	268,5 (229 – 392)	326 (305 – 379) ^{a*}

*Datos analizados a través de prueba estadística Wilcoxon Rank Sum. Letras distintas denotan diferencias significativas entre tiempos. V_1 : p=0,8314; V_2 : p=0,0004.

Al no existir diferencias significativas entre V_1 y V_2 se procedió a analizar los datos como una sola población.

Los valores estadísticos de las concentraciones séricas de AST (U/L) obtenidos en los distintos tiempo de muestreo para V_1+V_2 se detallan en la Tabla Nro. 7. No se encontraron diferencias significativas entre tiempos de muestreo para la enzima AST ($p>0,05$).

Tabla Nro. 7: Concentraciones séricas de AST (U/L) de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestro y evento de transporte (V_1+V_2). V_1+V_2 : n=15 (medianas y rangos).

		V_1+V_2 (n=25)
AST (U/L)	T_{pre-destete}	286 (238 – 307)
	T₀	296 (229 – 368)
	T₁₅	308 (229 – 392)

Dada la distribución normal de los datos se realizó un ANDEVA en donde no se evidenciaron diferencias entre los tiempos ($p=0,0987$).

3. Indicadores de deshidratación

3.1. Volumen globular aglomerado

El VGA obtenido en los distintos tiempos de muestreo para V_1 y V_2 se detalla en la Tabla Nro.8. Se encontraron valores significativamente más altos para ambos grupos en T_{15} ($p<0,05$).

Tabla Nro. 8: Volumen globular aglomerado (%) de potrillos FSI según tiempo de muestreo y evento de transporte (V_1 y V_2). V_1 : n=8 y V_2 : n=7 (medianas y rangos).

		V_1 (n=8)	V_2 (n=7)
VGA (%)	T_{pre-destete}	32 (30,9 – 35) ^b	33,5 (30,3 – 34,5) ^b
	T₀	36,5 (33 – 41) ^b	33,5 (25 – 38) ^b
	T₁₅	43,5 (40 – 51) ^a	45,2 (43,8 – 49,1) ^a

Letras distintas denotan diferencias significativas entre tiempos. V_1 : p=0; V_2 : p=0.

3.2. Proteínas totales

Para las PT (g/L) sólo se evidenció un aumento significativo en T_{15} del V_1 ($p < 0,05$) (Tabla Nro. 9).

Tabla Nro. 9: Concentraciones séricas de PT (g/L) de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestreo y evento de transporte (V_1 y V_2). V_1 : n=8 y V_2 : n=7 (medianas y rangos).

		V_1 (n=8)	V_2 (n=7)
PT (g/L)	T_{pre-destete}	54 (41 – 60) ^b	56 (52 – 61)
	T₀	58 (52 – 61) ^b	60 (53 – 68)
	T₁₅	65,5 (58 – 70) ^a	62 (58 – 66)

Letras distintas denotan diferencias significativas entre tiempos. V_1 : p=0,0002; V_2 : p=0,0856.

Al no existir diferencias significativas entre V_1 y V_2 se procedió a analizar los datos de las PT como una sola población.

Los valores de las concentraciones séricas de PT (g/L) obtenidos en los distintos tiempos de muestreo para V_1+V_2 se detallan en la Tabla Nro. 10, encontrándose concentraciones significativamente más altas en T_{15} ($p < 0,05$).

Tabla Nro. 10: Concentraciones séricas de PT (g/L) de potrillos fina sangre inglés según tiempo de muestro y evento de transporte (V_1+V_2). V_1+V_2 : n=15 (medianas y rangos).

		V_1+V_2 (n=15)
PT (g/L)	T_{pre-destete}	54 (41 – 61) ^b
	T₀	60 (52 – 68) ^b
	T₁₅	62 (58 – 70) ^a

Letras distintas denotan diferencias significativas entre tiempos. Dado que no existe una distribución normal de los datos se realizó una prueba de Kruskal Wallis en donde se evidenció un alza significativa entre los tiempos ($p=0$).

DISCUSIÓN

El bienestar de los animales es un tema de interés público, complejo y multifacético, que incluye importantes aspectos de índole científico, ético-valórico, económico-comercial y político. Por ser un asunto de relevancia creciente en la sociedad, las prácticas asociadas al bienestar animal deben sustentarse sobre bases científicas objetivas. Esta condición es esencial, ya que no se debe subjetivizar el tema considerando sólo aspectos ético-ambientales y religiosos, así como tampoco netamente económicos (Bahamonde, 2004).

La única manera de eliminar todos los riesgos de origen humano que afectan el bienestar de los equinos, es no utilizarlos. Sin embargo, en vez de eliminar su uso, se debe tratar de crear un ambiente óptimo en el que puedan estar saludables y cómodos (Houpt, 2012).

En el presente estudio se evaluó el bienestar de potrillos recientemente destetados y transportados a través de indicadores de estrés, daño muscular y deshidratación. Resultados que se discuten a continuación.

1. Indicadores de estrés

1.1 Cortisol

Al analizar las concentraciones séricas de cortisol de ambos grupos por separados, cabe destacar que se encontró un aumento significativo (Tabla Nro. 1) en el último tiempo de muestreo (T₁₅) sólo para el V₂, efecto que también se observó al comparar ambos grupos en conjunto (Tabla Nro. 2). Esto coincide con el estudio de Stull y Rodiek (2002), en donde señalan que las concentraciones de cortisol en equinos aumentan drásticamente con el transporte.

Por otra parte, Alberghina *et al.* (2000) encontraron que un transporte corto (50 Km) es suficiente para actuar como estímulo estresor y producir un aumento significativo de la concentración de cortisol en equinos. Considerando que en el presente estudio los potrillos fueron sometidos a un transporte prolongado (850 Km), podríamos asumir que las alzas encontradas se deben al transporte y a la suma de otros factores como el confinamiento y la carga de los animales al vehículo, lo cual se vio reflejado en T₁₅.

Por último, es importante señalar que no se encontraron diferencias significativas en $T_{pre-destete}$ y T_0 , tanto para el análisis de los resultados en grupos por separados como en conjunto, lo cual sugiere que probablemente ya no existía un efecto importante de respuesta al estrés debido al destete sobre las concentraciones séricas de cortisol al momento del inicio del transporte (5 días post destete para V_1 y 13 días post destete para V_2).

1.2 Relación neutrófilos:linfocitos

A pesar de que se ha reportado que cambios en la relación neutrófilos:linfocitos podrían ser un mejor indicador de estrés que el sólo uso de cortisol (Wong *et al.*, 1992; Rudolph y Villouta, 2003), en el presente estudio no se evidenciaron cambios significativos que permitan demostrar el estrés provocado por el transporte, encontrándose en ambos grupos valores, tanto en T_0 como en T_{15} , inferiores a los observados en $T_{pre-destete}$ (Tabla Nro. 3). Cabe destacar que esta situación en particular está dada por el fuerte incremento en la cantidad de linfocitos en T_0 y T_{15} , fenómeno que podría estar explicado por el efecto de la vacunación (con Pneumoabort K + 1B[®]) aplicada a los ejemplares al momento del destete como parte de los manejos rutinarios del haras. En relación a esto se ha demostrado que al cabo de 24 horas los equinos ya experimentan un aumento significativo tanto en el recuento de linfocitos como en el título de anticuerpos contra herpes virus tipo 1 y 4 (Goundasheva *et al.*, 2005), fenómeno que podría explicar la linfocitosis observada en el presente estudio y la disminución en la relación neutrófilos:linfocitos observada en T_0 y T_{15} .

2. Indicadores de daño muscular

2.1 Creatínfosfoquinasa

En un estudio realizado en equinos sometidos a un transporte de 24 horas (Stull y Rodiek, 2000), los valores más altos de CK registrados se produjeron posterior al transporte. En el presente estudio se encontró un leve aumento, pero no significativo, entre T_0 y T_{15} para ambos grupos (Tabla Nro. 4).

A pesar de no haber diferencias significativas en ninguno de los tiempos de muestreo, es importante señalar que los valores superiores en $T_{\text{pre-destete}}$ respecto de T_0 (Tabla Nro.4) podrían atribuirse a la mayor actividad física experimentada por los ejemplares previo al destete. Esto debido a que durante este periodo los ejemplares se encontraban sueltos en el corral de maternidad, en donde tenían libertad para interactuar con las madres y otros potrillos a través del juego. Durante el juego los potrillos suelen tener mayor actividad física, lo cual podría de algún modo significar en un ejercicio de carácter moderado. Se ha demostrado que equinos sometidos a ejercicio moderado pueden aumentar levemente las concentraciones sanguíneas de CK (Stull y Rodiek, 2000).

Dado el aislamiento y la restricción de movimiento a la cual fueron sometidos los potrillos posteriormente al destete (ya que estos fueron encerrados en pesebreras individuales sin posibilidad para interactuar físicamente con otros individuos) es esperable que ocurriera una disminución en la concentración sérica de CK en T_0 (Tabla Nro. 4).

Por último, para el análisis de los datos de ambos grupos en conjunto (V_1+V_2) la tendencia de los resultados fue la misma, no encontrándose diferencias significativas para ninguno de los tiempos de muestreo, pero sí una tendencia a incrementar la concentración de CK entre T_0 y T_{15} (Tabla Nro. 5).

2.2 Aspartatotransaminasa

A pesar de no ser una enzima específica de daño muscular, su actividad sérica suele ser tardía y su vida media bastante larga, de modo que sólo resulta útil medir esta enzima en el estudio de la evolución de una lesión muscular (Wittwer, 2012) y en conjunto con CK. En relación a estas consideraciones, cabe destacar que a pesar de no encontrarse diferencias significativas en ninguno de los tiempos de muestreo para este indicador de daño muscular en el análisis en grupos por separados (Tabla Nro. 6) como en conjunto (Tabla Nro. 7), los datos siempre manifestaron una tendencia similar a la evidenciada por CK. Esta variación en la concentración de la enzima podría relacionarse con cierto grado de catabolismo

muscular motivado por el evento de transporte al igual como ocurrió en el estudio realizado por Stull y Rodiek (2000).

Dado el desgaste físico que implica el transporte para los equinos, un estudio realizado por Tateo *et al.* (2012) analizó los efectos de un transporte de 200 Km y 3 horas de duración, en el cual tampoco se encontraron diferencias significativas en los valores de CK en las muestras obtenidas inmediatamente transcurrido el transporte sino que sólo dos horas después de este, mientras que para los valores de AST no se encontraron variaciones significativas para ninguno de los tiempos de muestreo. A pesar de que estos últimos datos coinciden con los obtenidos en el presente estudio, es importante señalar que tanto CK como AST no fueron contundentes en demostrar que el transporte genera un daño evidente a nivel muscular en potrillos, lo cual sugiere que al igual como lo hicieron Tateo *et al.* (2012) debió haberse tomado una cuarta muestra (dos horas o más) después de transcurrido el evento de transporte, para así contar con una mayor cantidad de datos que permitan explicar de forma más fehaciente la dinámica de ambas enzimas.

3. Indicadores de deshidratación

3.1 Volumen globular aglomerado y proteínas totales

En los equinos utilizados para este estudio, los valores obtenidos de VGA en T_{15} (tanto para V_1 como V_2), fueron significativamente mayores que los valores obtenidos en $T_{\text{pre-destete}}$ y T_1 (Tabla Nro. 8), superando los valores del rango normal para la edad y especie en estudio (30-41%) (Ricketts *et al.*, 2006). Sin embargo, es importante señalar que, al igual como ocurrió en un estudio realizado por Stull y Rodiek (2000), este aumento significativo podría deberse a una contracción esplénica por estimulación simpática más que por una deshidratación, o bien podría significar el efecto acumulado de una contracción esplénica y la deshidratación experimentada por el transporte, de modo que es importante analizar de forma conjunta los resultados obtenidos tanto para el VGA como para las PT.

En relación a las concentraciones séricas de PT medidas en los distintos tiempos de muestreos, sólo se encontraron diferencias significativas en T_{15} para el V_1 , lo cual coincide con los resultados obtenidos por Ferlazzo *et al.* (1993), en donde los valores de proteínas totales aumentaron en aquellos equinos que fueron transportados por más de 120 Km.

Cabe destacar que en el análisis de PT para V_1+V_2 la tendencia de los datos fue la misma que para el V_1 , observándose un aumento desde $T_{\text{pre-destete}}$ hasta T_{15} , lo cual deja de manifiesto el fenómeno de deshidratación.

A diferencia de como ocurrió con los valores de VGA, los valores de PT no fueron suficientes para superar el rango referencial para la edad y especie en estudio (50-70 g/L) (Ricketts *et al.*, 2006), de modo que no sólo se consideró el rango referencial sino que también la variación en términos porcentuales desde T_0 a T_{15} para ambos indicadores.

Al considerar los resultados obtenidos de VGA y PT en conjunto, ambos grupos experimentaron al menos un 6% de deshidratación posterior al transporte, dejando en evidencia un déficit hídrico para V_1 de 8,5 L y para V_2 de 6,6 L. En otro estudio realizado por Mansmann y Woodie (1995) se demostró que con un 2-3% de deshidratación, no sólo se ve afectado el rendimiento deportivo de los equinos, sino que también el flujo sanguíneo hacia las porciones distales de los miembros, predisponiendo a padecer enfermedades como infosura.

CONCLUSIÓN

En el presente estudio, los cambios manifestados en las concentraciones séricas de cortisol, PT y VGA señalan una respuesta frente al estrés y deshidratación posterior al transporte, quedando en evidencia que este genera un efecto negativo sobre el bienestar de los potrillos.

En cuanto a los indicadores de daño muscular, sería útil considerar en estudios posteriores un mayor número de muestras durante el evento de transporte, que permitan reflejar de mejor manera como ocurren estos cambios, así como también una vez efectuado el evento de transporte.

Además, es importante considerar tratamientos previos que puedan alterar los datos de los indicadores que se pretendan evaluar, como ocurrió en el presente estudio con N:L, la cual se vio fuertemente afectada por la vacunación con Pneumoabort K+1B® al momento del destete.

Por último, dada la evidencia de este estudio y de otros de similares características, es necesario que las nuevas normativas nacionales consideren mejores condiciones durante el transporte de los equinos, como por ejemplo la entrega de agua.

BIBLIOGRAFÍA

- **ALBERGHINA, D.; MEDICA, P.; CUSUMANO, F.; FAZIO, E.; FERLAZZO, A.** 2000. Effects of transportation stress and age depend on distance on β -endorphin, ACTH and cortisol levels of horses. **In:** Proceedings of the 34th International Congress of the International Society for Applied Ethology. Florianópolis, Brazil. October 2000. pp. 108.
- **BAHAMONDE, F.** 2004. La institucionalización del bienestar animal, un requisito para su desarrollo normativo, científico y productivo. **In:** La institucionalización del Bienestar Animal, un Requisito para su desarrollo Normativo, Científico y Productivo. Chile. 11-12 Noviembre 2004. Servicio Agrícola y Ganadero. pp. 15-16.
- **CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA.** 2013. Decreto N° 30 Aprueba reglamento sobre protección del ganado durante el transporte. 16 Mayo 2013.
- **FAZIO, E.; MEDICA, P.; GRASSO, L.; MESSINEO, C.; FERLAZZO, A.** 2009. Changes of circulating β -endorphin, adrenocorticotrophin and cortisol concentrations during growth and rearing thoroughbred foals. *Livest. Sci.* 125: 31-36.
- **FERLAZZO, A.; FAZIO, E.; MURANIA, C.; PICCIONE, G.** 1993. Physiological responses of stallions to transport stress. **In:** Proceedings 3rd International Congress on Applied Ethology. Berlin, Germany. 1993. pp. 544-546.
- **FRIEND, T. H.** 2001. A review of recent research on the transportation of horses. *J. Anim. Sci.* 79: 32-40.
- **GOUNDASHEVA, D.; CHENCHEV, I.; KATSAROVA, R.; KARADJOV, T.; TSACHEV, I.; BARZEV, G.** 2005. Changes in leukocyte and antibody response following exercise in horses with booster vaccination against influenza and equine herpes virus 4/1. *Revue Méd. Vét.* 156: 527-532.
- **GUAY, K.; BRADY, H.; SUTHERLAND, M.; POND, K.; JANECKA, L.; ALLEN, V.** 2009. Effects of a 24-hour transport on stress response in horses. *J. Equine Vet. Sci.* 29: 424-425.
- **HOUPT, K. A.** 2012. Equine Welfare. [en línea] <http://www.ivis.org/advances/Behavior_Houpt/houpt3/chapter.asp?LA=1> [consulta: 28-03-2014].
- **MANSMANN, R. A.; WOODIE, B.** 1995. Equine transportation problems and some preventives. **In:** 2nd international conference on equine rescue. Southern Pines, North Carolina, USA. 11-12 February 1995. pp. 141-144.
- **RICKETTS, S.; BARRELET, A.; MARR, C.; STONEHAM, S.; WITHWELL, K.; CASH, R.; ASHPOLE, M.** 2006. Guide to equine clinical pathology, Rossdale and Partners. Newmarket, UK. 62 p.

- **RUDOLPH, W.; VILLOUTA, G.** 2003. Hematología y citología clínica animal. 2ª ed. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Santiago, Chile. 44 p.
- **STULL, C. L.; RODIEK, A. V.** 2000. Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *J. Anim. Sci.* 78: 1458–1466.
- **STULL, C. L.; RODIEK, A.V.** 2002. Effect of cross-tying horses during 24 hours of road transport. *Equine Vet. J.* 34: 550-555.
- **TATEO, A.; PADALINO, B.; BOCACCIO, M.; MAGGIOLINO, A.; CENTODUCATI, P.** 2012. Transport stress in horses: effects of two different distances. *J. Vet. Behav.* 7: 33-42.
- **WARAN, N.; LEADON, D.; FRIEND, T.** 2007. The effect of transportation on the welfare of horses. In: Waran, N. (Ed.). *The welfare of horses.* Kluwer Academic Publisher. Países Bajos. pp. 125-150.
- **WITTWER, F.** 2012. Manual de patología clínica veterinaria. 2ª ed. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. Valdivia, Chile. 126 p.
- **WONG, C.; SMITH, S.; THONG, Y.** 1992. Effects of exercise stress on various immune functions in horses. *Am. J. Vet. Res.* 53: 1414-1417.

ANEXOS

Tabla Nro. 11: Intervalo de referencia según indicador sanguíneo y autor.

Variable	Intervalo de referencia	Autor
Cortisol (μ/L)	21,3 ± 12,4	(Fazio <i>et al.</i> , 2009)
AST (U/L)	381 (323 – 441)	(Ricketts <i>et al.</i> , 2006)
CK (U/L)	267 (190 – 370)	(Ricketts <i>et al.</i> , 2006)
PT (g/L)	59 (50 – 70)	(Ricketts <i>et al.</i> , 2006)
VGA (%)	35 (30 – 41)	(Ricketts <i>et al.</i> , 2006)