

Reporte: 4 Casos de Mal Seco Equino en el Sector de Las Vizcachas, Región Metropolitana, Chile

Cristóbal Dörner SM, MV, MS(c), Dipl. Med. Eq

Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Casilla 2 Correo 15, La Pintana. Santiago, Chile.

Email: cdorner@veterinaria.uchile.cl

Resumen

El Mal seco (Disautonomía equina) es una enfermedad de los equinos que se presenta con alta mortalidad y que hasta la fecha no se ha identificado completamente. Este artículo describe la presentación de un brote de Mal seco equino en un sector de la Región Metropolitana en donde no sido descrito hasta la fecha según lo investigado en la literatura. Se presenta la signología clínica de 4 casos, los métodos diagnósticos y tratamientos disponibles en nuestro medio bajo condiciones de campo. Se hace hincapié en que los casos de Mal seco pueden estar siendo subestimados en la Región Metropolitana. Finalmente, es importante para los veterinarios que se desempeñan en condiciones de campo, considerar esta patología como diagnóstico diferencial para los casos de inapetencia y pérdida de peso y/o los cuadros de cólico que cursan con impactación de colon, atonía intestinal, sudoración en parches, hipersalivación, disfagia y/o reflujo gástrico espontáneo.

Palabras clave: Equino, Mal Seco, Las Vizcachas.

1. Introducción

El Mal seco o disautonomía equina, es una entidad fatal asociada al pastoreo y que ha sido reconocida hace muchos años en nuestro país (Uzal y Robles, 1993; Flores, 2005), además de Gran Bretaña (Wood et al., 1998; Wylie y Proudman, 2009), Chipre (Protopapas et al., 2012), Hungría (Schwarz et al., 2012), Argentina (Uzal y Robles, 1993), entre otros. Sin embargo, aún existen interrogantes sobre ella.

Si bien es cierto, aún no se conoce con exactitud cuál es el agente etiológico que la produce, se han propuesto varios posibles agentes causales. Por una parte, se ha sugerido la relación entre la enfermedad y la exposición a cianógenos (McGorum y Anderson, 2002; Schwarz, 2013); También se ha propuesto que el carbofurano (un carbamato), podría influenciar al sistema inmune y con ello predisponer al desarrollo de

Mal Seco (Schwarz et al., 2012). El *Clostridium perfringens* se ha asociado como agente causal de la disautonomía equina (Waggett et al., 2010). Por otro lado, mucho énfasis se ha dado al estudio del *Clostridium botulinum* y su relación con los casos de Mal Seco. Actualmente se ha demostrado una fuerte relación del *C. botulinum* tipo C y la toxina tipo C como agente etiológico de esta patología (Hunter et al., 1999; Böhnelt et al., 2003; McCarthy et al., 2004a; Newton et al., 2004). Recientemente, se ha encontrado evidencia de que el aumento de hierro, plomo y cromo en el suelo, además de la presencia de la planta *Ranunculus* sp. actuarían como factores gatillantes (Edwards et al., 2010; Schwarz, 2013).

Se han identificado varios factores de riesgo que influyen en la presentación del Mal seco. No se ha determinado predisposición racial, no obstante, las razas pesadas parecieran presentar un mayor riesgo.

Aparentemente, las hembras tienen una mayor predisposición que los machos (potros y caballos) (Wood et al., 1998). Por otro lado, Existe un mayor riesgo en animales jóvenes (2-7 años) (Wylie y Proudman, 2009), con caballos sobre los 10 años raramente afectados (Wood et al., 1998). Se ha encontrado como factor de riesgo para la presentación de Mal seco, el exceso de nitrógeno en el suelo y también cambios realizados en los potreros (instalación de tuberías, construcciones, entre otras) (McCarthy et al., 2004b). Suelos de arena tienen un mayor riesgo, al igual que las praderas con mayor carga animal debido al sobre pastoreo y debido a ello, la ingestión de sustancias desde el suelo (Newton et al., 2004).

El diagnóstico de esta patología se basa en la anamnesis, signos clínicos y la información recopilada desde los exámenes complementarios. Los exámenes sanguíneos de rutina no presentan anomalías patognomónicas para esta enfermedad (Doxey et al., 1991), sin embargo, se han estudiado algunas proteínas de fase aguda en caballos enfermos, y se ha sugerido que el estímulo para la síntesis de haptoglobina y orosomucoide, ocurre cuando comienza la signología clínica (Milne et al., 1991). Por otro lado, el urianálisis de caballos que presentan Mal seco presenta una mayor gravedad específica, aumento de proteínas y creatinina, un pH significativamente menor y una concentración de glucosa significativamente mayor (Fintl et al., 2003). Adicionalmente, se han propuesto como métodos complementarios la radiografía de esófago contrastada con bario (Greet y Whitwell), la administración ocular de fenilefrina (Hahn y Mayhew, 2000) y la biopsia ileal mediante laparotomía (Scholes et al., 1993b; Milne et al., 2010). El diagnóstico definitivo se realiza mediante la histopatología de los ganglios nerviosos autónomos, principalmente del ganglio celíaco-mesentérico (Uzal et al., 1992; Flores, 2005).

2. Detalle de los casos Clínicos

2.1. Historia

Este reporte relata la historia, diagnóstico y tratamiento de 4 caballos, ubicados en el sector de Las Vizcachas, Región Metropolitana, Chile. Los 4 ejemplares fueron consultados debido a la presentación de signología de dolor abdominal. Los casos se presentaron en los meses

de Julio-Agosto, en un período de 3 semanas. Los 4 caballos se encontraban alimentándose en pradera de alfalfa y rastrojo de maíz, siendo los únicos afectados de un total de 20 animales. La pradera se encontraba con una pendiente de aproximadamente 30° (Imagen 1) y era compartida con bovinos los cuales no presentaron ningún tipo de alteración. Por las noches, los caballos eran encerrados en pesebreras y alimentados con heno de alfalfa. Todos los animales se encontraban con sus desparasitaciones al día.



Imagen 1, Potrero de alfalfa en donde se presentaron los casos de Mal seco.

2.2. Hallazgos clínicos, procedimientos diagnósticos y tratamiento

2.2.1. Caso 1

Equino Fina Sangre Chileno, macho, 23 años de edad. Presentó signos de cólico 1 día previo a la consulta. El examen clínico reveló un aumento de la frecuencia cardiaca (FC) (80 latidos/minuto), tiempo de llenado capilar <2 seg. Pliegue cutáneo < 2 seg, mucosas rosadas pálidas, levemente secas y abdomen abultado. El caballo presentó buena condición corporal 6/9. A la auscultación abdominal no se detectaron movimientos intestinales y a la palpación rectal se detectó una impactación en la flexura pélvica. Al recuperar heces mediante la palpación rectal, éstas tenían una textura firme, dura y se encontraban envueltas en una mucosidad grisácea.

El animal fue derivado al Hospital Veterinario de la Universidad de Chile en donde se realizó una abdominocentesis. El líquido peritoneal macroscópicamente presentó un color amarillo turbio,

y microscópicamente, presentó características de obstrucción intestinal de acuerdo a su composición celular (predominio de neutrófilos no degenerados, menor cantidad de macrófagos y pocos linfocitos).

Se realizó lavado gástrico no existiendo reflujos espontáneos. Se ingresaron 7 litros de agua y se recuperaron 8 litros. Se administraron 3 litros de agua junto a 2 litros de vaselina líquida. Adicionalmente, se administraron 200 ml de simeticona (Teril®), 10 ml de Flunixin meglumine (1,1mg/kg), y 2 ml de Xilacina sin respuesta a la analgesia. Al día siguiente, se administraron 10 litros de suero fisiológico endovenoso junto a 250 cc de borogluconato de calcio, 10 cc de complejo D y 1 ampolla de KCl (empíricamente). No hubo mejoría ni tampoco se detectó paso de vaselina en el recto. Al 4to día de tratamiento, 10 litros de fluido fisiológico fueron administrados.

Debido a la no mejoría de animal, se planteó al dueño la posibilidad de realizar la eutanasia, la cual no fue realizada por razones personales del propietario. El ejemplar fue dejado en potrero informándose de manera telefónica una mejoría al quinto día después de iniciado el cuadro, no obstante a ello, el caballo falleció al día 6.

2.2.2. Caso 2

Equino de Polo, mestiza, hembra, 3 años. La yegua fue evaluada después de 12 horas del comienzo del cuadro de dolor abdominal, el cual comenzó una semana después de la muerte del primer caso. Al momento de la consulta, presentó una condición corporal pobre 3/9, decaimiento y un aumento de la FC (80 latidos por minuto). Las mucosas se encontraban pálidas y secas, tiempo de llenado capilar de 3 segundos y repliegue cutáneo de 3 segundos. A la palpación rectal, se detectó un desplazamiento hacia posterior de las vísceras abdominales junto a una severa impactación de colon. Se realizó sondaje nasogástrico en el cual se obtuvieron 30 litros de reflujos espontáneos aprox. (Imagen 2). Posterior al lavado gástrico, la FC descendió a 60 latidos por minuto. Adicionalmente, este ejemplar presentó sudoración en parches, atonía intestinal, hipersalivación y disfagia (Imagen 3). Se trató con 10 ml de Flunixin meglumine (1,1mg/kg) y 2 ml de Xilacina sin respuesta a la analgesia. También se administraron 10 litros de suero fisiológico endovenoso junto a 250 cc de borogluconato de calcio, 10 cc de

complejo D. Al siguiente día, se repitió el lavado gástrico, recuperándose 20 litros de reflujos espontáneos. Al no evidenciarse mejoría a pesar del tratamiento, la yegua fue derivada a la clínica del Club Hípico de Santiago, pero lamentablemente el ejemplar falleció antes de llegar a las instalaciones.



Imagen 2, Reflujo espontáneo obtenido al momento del sondaje nasogástrico.



Imagen 3, Yegua de polo de 3 años de edad. Signos de depresión y sudoración en parches (zona escapular).

2.2.3. Caso 3 y Caso 4

Los casos 3 y 4 fueron derivados al Club Hípico de Santiago inmediatamente frente a la presentación de la signología clínica. Se presentó en una yegua mestiza de Polo de 10 años de edad con una condición corporal 5/9 y en una yegua mestiza de Polo de 18 años de edad con una condición corporal 5/9. Estos casos se

presentaron 1 semana después de la muerte del segundo animal. Presentaron signología similar a la presentada en los casos anteriores: signos de cólico, atonía intestinal, impactación de intestino grueso, reflujo nasogástrico leve, decaimiento e inapetencia. No presentaron sudoración en parches ni disfagia. No se evidenciaron anomalías importantes en el perfil bioquímico y hemograma. El estudio ecográfico de ambos animales confirmó la atonía intestinal y el aumento de contenido alimentario en el intestino grueso. No se evidenciaron signos ecográficos de inflamación intestinal u otra anomalía que pudiese estar produciendo el cuadro de dolor abdominal.

El tratamiento consistió en lavados gástricos, tratamiento analgésico con flunixin meglumine, dipirone, calcio, lidocaína en infusión continua, Bykahepar® y fluido terapia constante. Las yeguas permanecieron hospitalizadas por 3 días sin mejoría a pesar del tratamiento por lo cual se indicó la eutanasia.

2.3. HALLAZGOS POST MORTEM

La necropsia fue realizada solo en el segundo caso (por limitaciones económicas) y fue llevada a cabo 36 horas post mortem. La necropsia confirmó la gran impactación instaurada (Imagen 4). Además, se pudo apreciar que las serosas se encontraban bastante hemorrágicas y se evidenciaron múltiples lesiones hiperémicas en la mucosa intestinal. Al desprender la pared del colon, se observó un recubrimiento negro sobre la superficie de la ingesta impactada (Imagen 5).



Imagen 4, Impactación de colon. Se observa una gran cantidad de contenido fecal de consistencia firme y dura.



Imagen 5, Ingesta impactada que presenta un recubrimiento de coloración negra.

Se tomaron muestras del ganglio celíaco-mesentérico ubicado cercano a la glándula adrenal, dorsal y axial a ella y levemente ventral a la aorta abdominal. Lamentablemente debido al tiempo post mortem, la muestra presentó exacerbada autólisis y hemorragia no evidenciándose células nerviosas para evaluar.

Las lesiones encontradas en el ganglio celíaco-mesentérico han sido estudiadas y son consideradas como patognomónicas en los casos de Mal Seco, encontrándose el citoplasma de las neuronas tumefacto, con coloración eosinofílica homogénea. Los cuerpos de Nissl están completamente o parcialmente perdidos. La mayoría de las neuronas degeneradas muestran contornos irregulares. Vacuolas citoplasmáticas son localizadas en el centro del citoplasma, el número y tamaño de las vacuolas es variable (Imagen 6). Se observan núcleos picnóticos y neurofagia (Imagen 7) (Flores, 2005).

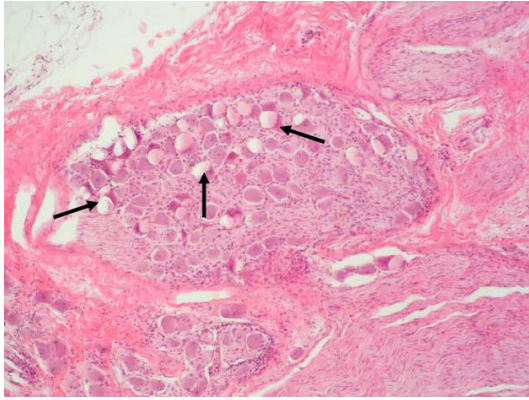


Imagen 6, Ganglio celíaco-mesentérico concordante con Mal Seco en el cual se observa severa vacuolización neuronal (Flechas negras). Hematoxilina-eosina 10x (Flores, 2005).

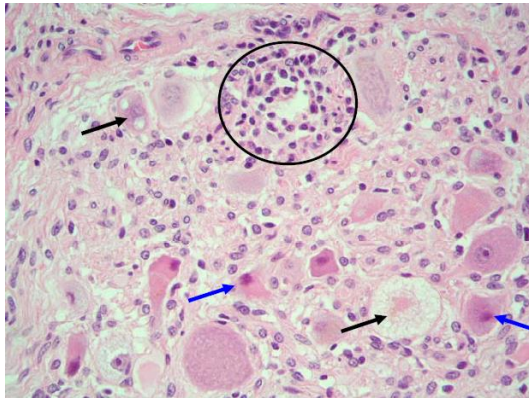


Imagen 7, Ganglio celíaco-mesentérico concordante con Mal Seco en el cual se observa severa la presencia de neurofagia (circulo), pérdida de la sustancia de Nissl (flecha negra) y núcleos picnóticos (flecha azul). Hematoxilina-eosina 40x (Flores, 2005).

3. Discusión

Los casos de Mal seco en Chile se han descrito principalmente en el sur del país (Uzal y Robles, 1993; Flores, 2005). Interesantemente, en el sector de Las Viscachas de la Región Metropolitana, no se han descrito casos hasta la fecha.

Se conocen 3 formas de presentación de Mal seco: aguda, sub aguda y crónica (Pirie, 2006). De acuerdo a su duración, Los casos de este reporte presentaron la forma subaguda (1) y la forma aguda (2, 3 y 4).

El agente causal del Mal seco es aún desconocido, sin embargo, los estudios realizados durante la última

década hacen suponer que la participación del *Clostridium botulinum* tipo C y la neurotoxina tipo C, son parte preponderante en la etiología de la enfermedad (Hunter et al., 1999; Böhnelt et al., 2003; McCarthy et al., 2004a; Newton et al., 2004). No obstante a lo anterior, no cabe duda que esta patología corresponde a una entidad multifactorial y no solo a un agente puntual. Lamentablemente, en los casos presentados no fue posible establecer una relación entre la enfermedad y algún agente causal. Sin embargo, llama la atención que los caballos afectados hayan presentado la enfermedad mientras se encontraban pastoreando en praderas de alfalfa y rastrojo de maíz, situación no descrita hasta la fecha. Lo anterior, sugiere que el agente causal debiese encontrarse en el suelo propiamente tal y no así en el forraje.

Un factor de riesgo que se ha identificado para la presentación de los cuadros de Mal seco, es la edad. Se ha reportado que animales jóvenes son más propensos en presentar la patología (Wylie y Proudman, 2009). En este artículo, los ejemplares afectados presentaron diferentes edades (23, 3, 10 y 18 años respectivamente.), no siendo concordante con lo descrito por Wylie y Proudman (2009), generando la interrogante de la real importancia de la edad como factor de riesgo en los casos de Mal seco. Por otro lado, también se ha sugerido que las hembras son más propensas a presentar la patología (Wood et al., 1998), situación que concuerda con lo observado en los animales de este reporte (3 hembras y 1 macho).

La signología predominante en los casos reportados en este artículo, fueron impactación intestinal, aumento de la FC, atonía intestinal generalizada, disfagia, hipersalivación, sudoración en parches, signos clínicos ampliamente descrito para esta patología (Flores, 2005; Pirie, 2006).

Los casos presentados fueron diagnosticados presuntivamente con Mal Seco de acuerdo a la signología clínica, a sus características epidemiológicas y a la información macroscópica recopilada desde la necropsia. Como se mencionó anteriormente, la única manera de confirmar el diagnóstico certeramente, es mediante la histopatología de ganglios nerviosos autónomos (Uzal et al., 1992; Flores, 2005). Recientemente, se ha evaluado la Sinaptofisina como marcador inmunohistoquímico de Mal seco permitiendo un diagnóstico aún más certero (Waggett

et al., 2010). Desafortunadamente, el estudio histopatológico de los ganglios nerviosos periféricos implica la muerte del animal, es por eso que en la actualidad, se ha dado énfasis a buscar la manera de lograr un diagnóstico certero ante mortem. Es así, que la biopsia ileal ya sea mediante laparotomía o laparoscopia ha adquirido importancia ya que, en los equinos afectado de Mal seco, existe depleción nerviosa entérica y también de las células de Cajal, tanto en el plexo mioentérico como en la musculatura circular de muestras de intestino obtenidas desde fleon y colon (flexura pélvica) (Hudson et al., 2001; Hudson et al., 2002). En los casos agudos, la neuropatía intestinal se presenta de manera difusa mientras en los casos crónicos se presenta de manera localizada principalmente en la porción distal del intestino delgado (Scholes et al., 1993a).

No existe tratamiento efectivo para el Mal seco, sobre todo para los casos agudos y subagudos, por lo tanto, la eutanasia debe ser indicada. Algunos casos crónicos responden al tratamiento de soporte empírico y sintomático (Wylie y Proudman, 2009). El tratamiento instaurado en estos equinos fue principalmente de soporte hasta que se identificó Mal seco como diagnóstico presuntivo, momento en el cual que se indicó la eutanasia. Autores han evaluado alternativas terapéuticas para los casos de Mal seco, entre ellas destacan el uso de la cisaprida (Milne et al., 1996), brotizolam (estimulante del apetito), acetilcisteína (antioxidante) y aloe vera en gel (Fintl y McGorum, 2002), sin embargo, no se han encontrado efectos beneficiosos de estas terapias y por lo tanto, no son usadas rutinariamente. El manejo que se instauró en el predio afectado consistió en el cambio de los otros caballos a un potrero diferente y aumento de la dieta en base a heno para evitar el sobre pastoreo de la pradera. En conclusión, existe una fuerte asociación entre el Mal seco y el pastoreo, siendo sin duda, una entidad multifactorial. El Mal seco es una patología que se ha identificada en nuestro país principalmente en la zona sur. Este reporte describe un brote de Mal Seco en la Región Metropolitana en un sector que no se había presentado anteriormente.

Finalmente, y considerando las limitantes diagnósticas que existen en nuestro medio, es importante para los veterinarios realizar una buena anamnesis y examen clínico al momento de enfrentarse a un equino con

“signología de cólico”. Se debe considerar esta patología, como diagnóstico diferencial para los casos de inapetencia y pérdida de peso y/o los cuadros de cólico que cursan con impactación de colon, atonía intestinal, sudoración en parches, hipersalivación, disfagia y/o reflujo gástrico espontáneo.

4. Referencia

1. Böhnel, H.; Wernery, U.; Gessler, F. 2003. Two cases of equine grass sickness with evidence for soil-borne origin involving botulinum neurotoxin. *J Vet Med B* 50 (4): 178-182.
2. Doxey, D.L.; Milne, E.M.; Gilmour, J.S.; Pogson, D.M. 1991. Clinical and biochemical features of grass sickness (equine dysautonomia). *Equine Vet J* 23 (5): 360-364.
3. Edwards, S.; Martz, K.; Rogge, A.; Heinrich, M. 2010. Edaphic and phytochemical factors as predictors of equine grass sickness cases in the UK. *Front Pharmacol* 1: 1-13.
4. Elspeth, M.; Milne, E.M.; Pirie, R.S.; McGorum, B.C.; Shaw, D.J. 2010. Evaluation of formalin-fixed ileum as the optimum method to diagnose equine dysautonomia (grass sickness) in stimulated intestinal biopsies. *J Vet Diagn Invest* 22: 248-252.
5. Fintl, C.; McGorum, B.C. 2002. Evaluation of three ancillary treatments in the management of equine grass sickness. *Vet Rec* 151 (13):381-383.
6. Fintl, C.; Milne, E.; McGorum, B.C. 2003. Evaluation of urinalysis as an aid in the diagnosis of equine grass sickness. *Vet Rec* 151 (24): 721-724.
7. Flores, P. 2005. Mal Seco: Evaluación Histológica del Ganglio Nervioso Celíaco-Mesentérico de Equinos, Obtenidos en el Matadero de Galvarino IX Región, Chile. Memoria. Universidad Austral de Chile. Valdivia. pp 55.
8. Greet, T.R; Whitwell, K.E. 1986. Barium swallow as an aid to the diagnosis of grass sickness. *Equine Vet J* 18 (4): 294-297.
9. Hanh, C.N.; Mayhew, I.G. 2000. Phenylephrine eyedrops as a diagnostic test in equine grass sickness. *Vet Rec* 147 (21): 603-606.
10. Hudson, N.; Mayhew, I.; Pearson, G. 2001. A reduction in interstitial cells of Cajal in horses with equine dysautonomia (grass sickness). *Auton Neurosci* 92 (1-2): 37-44.
11. Hudson, N.; Mayhew, I.; Pearson, G. 2002. Presence of in vitro electrical activity in the ileum

- of horses with enteric nervous system pathology: equine dysautonomia (grass sickness). *Auton Neurosci* 99 (2): 119-126.
12. Hunter, L.C.; Miller, J.K.; Poxton, I.R. 1999. The association of *Clostridium botulinum* type C with equine grass sickness: a toxicoinfection?. *Equine Vet J* 31 (6): 492-499.
 13. McCarthy, H.E.; Proudman, C.J.; French, N.P. 2001. Epidemiology of equine grass sickness: a literature review (1909-1999). *Vet Rec* 149 (12): 293-300.
 14. McCarthy, H.E.; French, N.P.; Edwards, G.B.; Poxton, I.R.; Kelly, D.F.; Payne-Johnson, C.E.; Miller, K.; Proudman, C.J. 2004a. Equine grass sickness is associated with low antibody levels to *Clostridium botulinum*: a matched case-control study. *Equine Vet J* 36 (2): 123-129.
 15. McCarthy, H.E.; French, N.P.; Edwards, G.B.; Miller, K.; Proudman, C.J. 2004b. Why are certain premises at increased risk of equine grass sickness? A matched case-control study. *Equine Vet J* 36 (2): 130-134.
 16. McGorum, B.C.; Anderson, R.A. 2002. Biomarkers of exposure to cyanogens in horses with grass sickness. *Vet Rec* 151: 442-445.
 17. Newton, J.R.; Hedderson, E.J.; Adams, V.J.; McGorum, B.C.; Proudman, C.J.; Wood, N. 2004. An epidemiological study of risk factors associated with the recurrence of equine grass sickness (dysautonomia) on previously affected premises. *Equine Vet J* 36 (2): 105-112.
 18. Milne, E.M.; Doxey, D.L.; Kent, J.E.; Pemberton, A. 1991. Acute phase proteins in grass sickness (equine dysautonomia). *Res Vet Sci* 50 (3): 273-278.
 19. Milne, E.M.; Doxey, D.L.; Woodman, M.P.; Cuddeford, D.; Pearson, R.A. 1996. An evaluation of the use of cisapride in horses with chronic grass sickness (equine dysautonomia). *British Vet J* 152 (5): 537-549.
 20. Milne, E.M.; Pirie, R.S.; McGorum, B.C.; Shaw, D.J. 2010. Evaluation of formalin-fixed ileum as the optimum method to diagnose equine dysautonomia (grass sickness) in stimulated intestinal biopsies. *J Vet Diagn Invest* 22: 248-252.
 21. Pirie, R.S. 2006. Grass sickness. *Clin Tech Equine Pract* 5 (1): 30-36.
 22. Protopapas, K.; Spanoudes, K.A.; Diakakis, N.; Brellou, G. 2012. Equine grass sickness in Cyprus: a case report. *J Vet Anim Sci* 36 (1): 85-87.
 23. Scholes, S.F.; Vaillant, C.; Peacock, P.; Edwards, G.B.; Kelly, D.F. 1993a. Enteric neuropathy in horses with grass sickness. *Vet Rec* 132 (26): 647-651.
 24. Scholes, S.F.; Vaillant, C.; Peacock, P.; Edwards, G.B.; Kelly, D.F. 1993b. Diagnosis of grass sickness by ileal biopsy. *Vet Rec* 133 (1): 7-10.
 25. Schwarz, B.; Brunthaler, R.; Hahn, C.; van den Hoven, R. 2012. Outbreaks of equine grass sickness in Hungary. *Vet Rec* 170: 75.
 26. Uzal, F.A.; Robles, C.A.; Olaechea, F.V. 1992. Histopathological changes in the coeliacomesenteric ganglia of horses with 'mal seco', a grass sickness-like syndrome, in Argentina. *Vet Rec* 130 (12): 244-246.
 27. Uzal, F.A.; Robles, C.A. 1993. Mal seco, a grass sickness-like syndrome of horses in Argentina. *Vet Res Commun* 17 (6): 449-457.
 28. Waggett, B.E.; McGorum, B.C.; Shaw, D.J.; Pirie, R.S.; MacIntyre, N.; Wernery, U.; Milne, E.M. 2010. Evaluation of Synaptophysin as an immunohistochemical marker for equine grass sickness. *J Comp Path* 142: 284-290.
 29. Waggett, B.E.; McGorum, B.C.; Wernery, U.; Shaw, D.J.; Pirie, R.S. 2010. Prevalence of *Clostridium perfringens* in faeces and ileal contents from grass sickness affected horses: comparisons with 3 control populations. *Equine Vet J* 42 (6): 494-499.
 30. Wood, J.L.; Milne, E.M.; Doxey, D.L. 1998. A case-control study of grass sickness (equine dysautonomia) in the United Kingdom. *Vet J* 156 (1): 7-14.
 31. Wylie, C.E.; Proudman, C.J. 2009. Equine grass sickness: epidemiology, diagnosis, and global distribution. *Vet Clin Equine* 25: 381-399