

TWEELINGDRACHT BIJ DE MERRIE

M. Hoogewijs, J.L.J. Govaere, L. Paijmans, E. Van Hove, R. Deuchande, A. de Kruif

Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde
Faculteit Diergeneeskunde, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke
maarten.hoogewijs@UGent.be

SAMENVATTING

Tweelingdracht is lange tijd de belangrijkste oorzaak geweest van niet-infectieuze abortus bij de merrie. Dankzij betere diagnostische middelen en de verschillende beschikbare behandelingsmethoden kan men tweelingdracht proberen te herleiden tot een éénlingdracht om op deze manier toch een levend veulen te bekomen. Cruciaal voor het slagen van een behandeling is een vroege diagnose van de tweelingdracht. Vroeg in de dracht worden immers de beste resultaten bekomen bij embryoreductie.

INLEIDING

Tweelingdracht bij de merrie is ongewenst en is verantwoordelijk voor economische verliezen in de paardenfokkerij. Historisch gezien is tweelingdracht de belangrijkste niet-infectieuze oorzaak van abortus. Roberts en Myhre (1983) maken melding van het feit dat 10 tot 30% van alle abortusgevallen bij het paard te wijten zijn aan tweelingdracht. In een recentere studie van Giles *et al.* (1993) blijkt tweelingdracht verantwoordelijk te zijn voor 6% van de 3527 onderzochte abortusgevallen. Een vroege diagnose en een gepaste behandeling van tweelingdracht hebben het aantal abortussen ten gevolge van tweelingdracht doen afnemen, maar toch is het nog steeds de oorzaak van aanzienlijke verliezen in de fokkerij (Macpherson & Reimer, 2000). Deze beperken zich vaak niet tot één seizoen, het jaar nadien kunnen er zich eveneens nog problemen voordoen. Merries die aborteren van een tweeling hebben een grotere kans op retentio secundinarum waardoor ze moeilijker drachtig worden. Ook de drachtigheidsresultaten in het seizoen volgend op de abortus zijn aanzienlijk verminderd (Pascoe, 1983; Willinck *et al.*, 1997a).

Niet alleen zal 65% van alle gevorderde tweelingdrachten bij de merrie resulteren in abortus of vroeggeboorte maar tweelingdracht is ook de belangrijkste oorzaak van zwak geboren veulens en van neonatale veulensterfte. Het sterftepercentage voor neonatale tweelingveulens varieert van 47 tot 55% in tegenstelling tot 1% voor éénlingveulens (Jeffcott & Whitwell, 1973). Tweelingdracht bij de merrie is dus ongewenst gezien de belangrijke foktechnische en

economische verliezen en dient dus zoveel mogelijk te worden voorkomen.

ONTSTAAN VAN TWEELINGDRACHT

Theoretisch gezien kunnen tweelingembryo's ontstaan uit oöcyten afkomstig van verschillende follikels (= multipele ovulaties), uit oöcyten afkomstig van één follikel (polyovulaire follikel) of door de deling van een bevruchte eicel in een vroeg stadium van de dracht (ééneiige tweeling) (Ginther, 1989b). Er is bij het paard slechts één geval van een ééneiige tweeling beschreven (Jeffcott & Whitwell, 1973). Polyovulaire follikels werden reeds bij meerdere diersoorten beschreven, maar niet bij het paard (Ginther, 1989b).

Het voorkomen van multipele ovulaties varieert van 4 tot 43% en is afhankelijk van meerdere factoren, zoals het ras, de leeftijd, de fertiliteit van de merrie en de genetische predispositie (Ginther, 1982a; Squires *et al.*, 1987). Multipele ovulaties komen meer voor bij volbloeden (19%) dan bij Quarterhorses (9%), Appaloosa's (8%) en pony's (zeldzaam) (Miller & Woods, 1988). De incidentie van multipele ovulaties bij het warmbloedpaard bedraagt 26% (Willinck *et al.*, 1997a). Ook de voorgeschiedenis speelt een belangrijke rol. Volgens Miller & Woods (1988) is de kans op een dubbele ovulatie immers bijna tweemaal zo groot als dat de merrie in de voorgaande cyclus ook een dubbele ovulatie heeft gehad. Het belang van andere factoren, zoals lactatie en leeftijd, is minder éénzijdig (Woods en Hallowel, 1993; Perkins en Grim-

mett, 2001; Ginther, 1987; Veronesi *et al.*, 2003). De eerste ovulatoire cyclus van het seizoen zou volgens Perkins en Grimm (2001) minder vaak gepaard gaan met een dubbele ovulatie en aldus minder frequent aanleiding geven tot tweelingdracht.

Een dubbele ovulatie kan synchroon of asynchroon zijn (Ginther, 1982a). Synchrone ovulaties vinden plaats binnen 24 uur. Is het ovulatie-interval groter dan 24 uur dan spreken we van asynchrone ovulaties. Het ovulatie-interval kan zelfs oplopen tot 10 dagen, in aanwezigheid van zeer fertiel sperma behoort tweelingdracht ook bij zo'n groot ovulatie-interval tot de mogelijkheden (Willink *et al.*, 1997a). Met behulp van echografisch onderzoek is aangetoond dat tweelingen even vaak afkomstig zijn van een synchrone als van een asynchrone dubbele ovulatie (Ginther, 1987).

Daarnaast zou de mogelijkheid ook bestaan dat er één ovulatie optreedt tijdens de oestrus terwijl een tweede ovulatie plaats vindt in de daarop volgende dioestrus. De eicel die hierbij vrijkomt zou in aanwezigheid van fertiel sperma nog bevrucht kunnen worden, ondanks de progesteronfase (Hughes en Stabenfeldt, 1977).

De dubbele ovulaties kunnen unilateraal of bilateraal zijn (Ginther, 1987). Bij een unilaterale dubbele ovulatie vinden de ovulaties plaats op hetzelfde ovarium terwijl bij een bilaterale dubbele ovulatie de ovulaties op beide ovaria plaatsvinden. Een dubbele ovulatie kan even vaak unilateraal als bilateraal optreden (Squires *et al.*, 1987).

Vroeger was het gangbaar om merries waarbij via rectale palpatie twee of meer preovulatoire follikels werden vastgesteld, niet te dekken. Het dekken werd in deze gevallen uitgesteld tot 24 uur na de eerste ovulatie (Ginther *et al.*, 1982). Deze strategie resulteerde in een verlies van 17% van de beschikbare oestri (Ginther 1982a en 1982b) terwijl toch bij 4,5% van de aldus gedekte merries tweelingdracht werd vastgesteld (Ginther *et al.*, 1982). Tevens hebben dergelijke merries tijdens de volgende hengstigheid frequent weer een dubbele ovulatie (Miller en Woods, 1988). Uitstellen heeft daarom geen zin. Tegenwoordig wordt daarentegen aangeraden de merrie te laten dekken, onafhankelijk van het aantal aanwezige follikels. Bij dubbele ovulaties heeft men immers een veel hoger drachtigheidspercentage aangetoond (83%) dan na één ovulatie (54%) (Ginther, 1982a). Het onderkennen van een dubbele ovulatie is wel van belang om de kans op het vroegtijdig diagnosticeren van een tweelingdracht te vergroten. Daardoor kan men tijdig

van een tweelingdracht een éénlingdracht maken. Helaas wordt in de praktijk een dubbele ovulatie vaak gemist omdat na de eerste ovulatie geen verdere follikelcontrole meer gebeurt ofwel omdat er sprake is van een tweede ovulatie in de dioestrus (Willink *et al.*, 1997a).

Omdat het voortplantingsseizoen van de merrie beperkt is tot enkele maanden en veel fokkers een vroeg veulen ambiëren, wordt frequent gebruik gemaakt van hormoonpreparaten om de cyclus van de merrie te controleren en te optimaliseren. Zo wordt er vaak gebruik gemaakt van prostaglandinen F₂α (PGF₂α) om oestrus op te wekken als er een actief corpus luteum aanwezig is. Ook human Chorionic Gonadotropin (hCG) wordt frequent toegediend om het tijdstip van ovulatie te versnellen en beter te kunnen voorspellen. Uit een onderzoek van Veronesi *et al.* (2003) is duidelijk gebleken dat deze therapieën een grote invloed hebben op het ontstaan van multiële ovulaties. Merries die behandeld werden met PGF₂α of hCG, hadden bijna drie keer meer kans op tweelingdracht dan niet-behandelde merries. Bij merries die zowel met PGF₂α als met hCG behandeld werden, was de kans zelfs zes keer zo groot op tweelingdracht. Het verhoogd risico op tweelingdracht bij gebruik van deze preparaten weegt niet op tegen het voordeel ervan, namelijk het beter kunnen benutten van het voortplantingsseizoen. Het is dus belangrijk dat de dierenarts bij drachtigheidsonderzoek altijd bedacht is op tweelingdracht.

UNILATERALE OF BILATERALE TWEELINGDRACHT

De bevruchting van geovuleerde eicellen is mogelijk tot ongeveer 12 uur na de ovulatie en vindt plaats in de eileider (Woods *et al.*, 1990). Het transport van het embryo doorheen de oviduct duurt ongeveer 5 á 6 dagen. Bij het paard komen enkel de bevruchte eicellen in de uterus aan, de onbevruchte eicellen worden in de eileider "gevangen" gehouden (Flood, 1993). Als het embryo eenmaal in de uterus is aangekomen, verplaatst het zich door de baarmoeder onder invloed van uteriene contracties. In geval van tweelingdracht kunnen beide vruchtblaasjes zich onafhankelijk van elkaar bewegen (Ginther, 1989b). Rond dag 16 na de ovulatie komt de mobiliteitsfase tot een einde door de toenemende grootte van de groeiende vruchtblaas en door de grotere tonus van de baarmoeder. Uiteindelijk kan het embryo niet meer bewegen ondanks de voortdurende contracties van de baarmoeder (Ginther, 1985).

Bij synchrone, dubbele ovulaties zullen de vruchtblazen min of meer op hetzelfde moment gefixeerd raken. Bij asynchrone ovulaties zit er enige tijd tussen de fixatiemomenten. Hierdoor kan na fixatie van de eerste vrucht de tweede vrucht nog maar beperkt bewegen, namelijk tussen het uiteinde van één van de uterushoornen en de reeds gefixeerde vruchtblaas. De reeds gefixeerde vruchtblaas kan immers niet meer gepasseerd worden (Ginther, 1984a). Hierdoor loopt de nog mobiele vruchtblaas vaak vast tegen de reeds gefixeerde vruchtblaas (Ginther, 1984b). Op het moment dat beide vruchtblazen vastgelopen zijn, wordt het fixatietype bepaald. Fixatie van tweelingen kan unilateraal (beide vruchtblazen in dezelfde baarmoederhoorn) of bilateraal (één vruchtblaas in elke baarmoederhoorn) plaats vinden. Unilaterale fixatie komt frequenter voor (70%) dan op basis van toeval kan verklaard worden (50%) (Ginther, 1989b). Ongelijkheid in de vruchtblaasgrootte of asynchrone ovulaties zijn de belangrijkste redenen voor de verhoogde frequentie van unilaterale fixatie (Ginther, 1987). Het bevorderend effect van ongelijke grootte van de vruchten op unilaterale tweelingdracht zou het resultaat kunnen zijn van de geremde beweeglijkheid van één vrucht als de andere reeds gefixeerd is, waardoor beide vruchtblaasjes op dezelfde plaats gefixeerd worden. Zo bleek uit onderzoek van Ginther (1989b) dat bij een verschil in vruchtblaasgrootte van meer dan 3 millimeter vóór de fixatie, in 85% van de gevallen unilaterale tweelingdrachten voorkwamen en slechts 15% bilaterale. Bedroeg het verschil in grootte maar 3 mm of minder vóór de fixatie, dan kwamen 62% unilaterale en 38% bilaterale tweelingdrachten voor.

BEHANDELING

In de loop der jaren werden verschillende therapieën en behandelingsstrategieën uitgetoetst en met wisselend succes toegepast. Zo kan men opteren om niets te doen en natuurlijke embryoreductie af te wachten in de hoop een éénlingdracht te bekomen. Een andere mogelijkheid is in te grijpen en zo tweelingdracht manueel te reduceren tot een éénlingdracht. Tot slot kan men ook de tweelingdracht volledig beëindigen door een vroege abortus op te wekken.

Natuurlijke embryoreductie

Reeds lange tijd bestond het vermoeden dat er een mechanisme moest bestaan dat ervoor zorgt dat tweelingdracht wordt gereduceerd tot éénlingdracht. Pas

later werd bekend in welk drachtstadium deze reductie optrad (Ginther, 1984a) en werd er een verklaring voor deze reductie gegeven door Ginther (1989a), namelijk de 'deprivatie-theorie'. Natuurlijke embryoreductie is dus een manier om overtollige embryo's te reduceren zodat er uiteindelijk één embryo overblijft dat het foetaal stadium kan bereiken (Ginther, 1989b). Dit mechanisme treedt pas op na de fixatie (Ginther, 1984a). Tijdens de oriëntatiefase zakt de embryonale pool, het zwaartste deel van de vruchtblaas, ventraal onder invloed van uteriene contracties en door het proportioneel verdikken van de dorsale uteruswand. Vanuit deze embryonale pool zal later het allantoïs gevormd worden dat van belang is voor het overleven van de vruchtblaas en daarom goed in contact moet staan met het endometrium. Wanneer dit deel voor een groot stuk in contact komt met de andere vruchtblaas in plaats van met het endometrium dan leidt dit tot de onthouding (deprivatie) van voedingsstoffen en uiteindelijk tot het afsterven van de vrucht. Deze 'deprivatie-hypothese' (Ginther, 1989a) verklaart dus het verband tussen de onderlinge positie van de vruchtblazen en het tijdstip van het natuurlijk afsterven van één van de vruchtblazen. Het overlevende embryo ondervindt geen nadelen van deze reductie. De groeisnelheid en de kans op het alsnog verliezen van de andere vrucht zijn namelijk dezelfde als voor een éénlingdracht (Miller en Woods, 1988). Het optreden van natuurlijke embryoreductie vóór de fixatie is van geen belang. Dit bleek uit de studie van Ginther en Bergfelt (1988) waarin aangetoond werd dat natuurlijke embryoreductie vóór dag 11 niet optreedt. Volgens Ginther (1987) komt er tussen dag 11 en dag 16 ook geen natuurlijke embryoreductie voor. De kans op het verliezen van een embryo tijdens de mobiliteitsfase wordt daarom even groot geacht voor éénling- als voor tweelingdracht (Ginther, 1989b). Vooral het fixatietype en het eventuele verschil in vruchtblaasgrootte zijn dus van belang bij het optreden van natuurlijke embryoreductie na dag 16 (fixatie) (Ginther, 1989c).

Uit een studie van Ginter (1988) blijkt dat in geval van bilaterale tweelingdracht tussen dag 16 en dag 40 slechts 6% natuurlijke embryoreductie voorkomt, hetgeen overeen komt met de normale kans op vroeg-embryonale sterfte bij éénlingdracht. Gezien de lage kans op spontane reductie tot een éénlingdracht bij bilaterale tweelingdracht is afwachten altijd tegen-aangewezen en moet er zo snel mogelijk worden ingegrepen.

Bij unilateraal gefixeerde tweelingdrachten daarentegen komt tussen dag 16 en dag 40 in 74–89% van de gevallen natuurlijke embryoreductie voor (Ginther, 1984a). Dit percentage is sterk afhankelijk van het verschil in grootte tussen de beide vruchtblazen. Zo bleek dat in 100% van de unilaterale tweelingdrachten natuurlijke embryoreductie optrad als op het moment van fixatie het verschil in grootte tussen de beide vruchtblazen meer dan 3 mm bedroeg (Ginther, 1989c). Als het verschil in grootte daarentegen 3 mm of minder bedroeg, was er slechts in 73% van de gevallen natuurlijke embryoreductie. Bovendien bleek dat het proces van natuurlijke embryoreductie vlugger begint (rond dag 20) en sneller voltooid is (binnen 1 dag) als er een verschil in vruchtblaasgrootte bestaat (Ginther, 1984a).

Over de kans op reductie na 40 dagen dracht is veel minder geweten. Ginther en Griffin (1994) volgden echografisch 15 pony's op die op dag 40 bilateraal drachtig waren van een tweeling. Tijdens de tweede en de derde maand van de graviditeit verloren 10 merries één (20%) of beide (80%) veulens. Tot de achtste maand van de dracht gebeurde er niets meer. Tussen de achtste en de elfde maand verloren twee merries één foetus en twee merries verloren beide foeti. Slechts één merrie (7%) bracht een levende tweeling ter wereld.

Manuele reductie van tweelingdracht

Manuele embryoreductie

Wanneer de diagnose van tweelingdracht gesteld wordt vóór de fixatie van de embryo's is ingrijpen altijd geïndiceerd. In dit geval gaat men het best over tot manuele embryoreductie. Dit is het stukknippen van één van de beide embryo's. Deze methode werd voor het eerst beschreven door Ginther (1983) en werd door meerdere auteurs (Roberts, 1982; Pascoe, 1983; Pascoe *et al.*, 1987) met meer dan 90% succes toegepast indien ze uitgevoerd werd vóór dag 16. De techniek bestaat erin één van de twee vruchtblaasjes stuk te knippen nadat deze door middel van echografische controle gelokaliseerd werden. Liggen de vruchtblazen goed gescheiden van elkaar dan kan men onmiddellijk tot reductie overgaan. In 50% van de gevallen liggen de vruchtblazen echter te dicht bij elkaar waardoor de kans te groot is op beschadiging van de andere vruchtblaas. In dat geval kan men na een tiental minuten opnieuw een echografische controle uitvoeren waarbij de vruchtblazen zich vaak reeds herverdeeld hebben. Minder tijdrovend is het

om de beide vruchtblazen via rectale palpatie in de uterus te verplaatsen en zo manueel te scheiden. De te verwijderen vruchtblaas wordt naar de top van de baarmoederhoorn geduwd door deze tussen duim en wijsvinger dicht te drukken, waarbij de vruchtblaas vervolgens in de top wordt kapotgedrukt. Soms ruptuureert de vruchtblaas reeds bij het opschuiven naar de top van de hoorn. Kleinere vruchtblazen (9-11 mm) zijn moeilijker te ruptureren dan grotere (12-17 mm) en er is meer kracht voor nodig (Ginther, 1983). Daarom is het aan te raden om het drachtigheidsonderzoek uit te voeren in de late (dag 13-15) mobiliteitsfase. Op deze manier kan immers redelijk zeker de diagnose van tweelingdracht gesteld worden, ook indien deze afkomstig is van asynchrone ovulaties (Ginther, 1988). Als de vruchtblaas zich in het corpus uteri bevindt, kan deze het best naar de cervix worden gebracht en daar worden stukgeknepen (Pascoe, 1992). Een gewijzigde techniek bestaat erin de beide vruchtblazen te scheiden met behulp van de kop van de echografiesonde. Aldus kan men één van de beide vruchtblazen in beeld houden en tegen de sonde ruptureren (McKinnon *et al.*, 1993).

Manuele reductie van unilateraal gefixeerde tweelingen is zeer moeilijk zonder de overblijvende vrucht te beschadigen. Als bij unilaterale tweelingdracht tussen dag 17 en 20 de beide vruchtblazen kunnen gescheiden worden, dan kan met manuele embryoreductie (m.e.r.) een slaagpercentage van 90 tot 95% behaald worden (McKinnon en Rantanen, 1998). Deze techniek is veel minder succesvol als de vruchtblazen niet kunnen gescheiden worden of als de dracht verder gevorderd is dan 20 dagen (Macpherson en Reimer, 2000). Bij bilaterale tweelingdracht zijn de resultaten van m.e.r., indien uitgevoerd vóór 30 dagen dracht, 75%. Reductie daarentegen in een verder drachtstadium heeft meer kans om te eindigen in de abortus van beide vruchten (Pascoe *et al.*, 1987).

Willink *et al.* (1997b) zijn van mening dat m.e.r. vandaag de dag geïndiceerd is tot dag 35 aangezien men nu meer ervaring heeft met de techniek. In dit stadium van de dracht vormt de hoeveelheid vruchtwater die vrijkomt bij de reductie een ernstige bedreiging omdat dit het contact tussen het endometrium en de allantoïs van de overblijvende vrucht in het gedrang brengt, waardoor de kans op overleving sterk afneemt. McKinnon en Rantanen (1998) proberen het vrijkomen van vruchtwater te omzeilen, niet door de vruchtblaas te ruptureren maar door een 'sneeuwvlokken-effect' te creëren. Hiertoe wordt er met de hand of met de echografiesonde lichtjes op de

vruchtblaas getikt. Daardoor zouden er cellen van het chorioallantoïs loskomen waardoor het embryo meestal binnen 48 uur afsterft. Op deze manier is het echter niet altijd mogelijk voldoende schade toe te brengen om de vrucht te doen afsterven. De kans op succes is ongeveer 50%.

Heeft men te maken met een unilaterale tweelingdracht met vruchtblaascontact waarbij de vruchtblazen niet meer gescheiden kunnen worden, dan kan het beter zijn af te wachten tot 25 dagen dracht. De kans op natuurlijke embryoreductie is in die periode volgens Willink *et al.* (1997b) immers groter dan het succes van m.e.r. (respectievelijk $\pm 60\%$ en $\pm 30\%$). Tussen dag 25 en dag 30 draaien deze percentages om, waardoor het volgens deze auteurs beter is stuk te knippen op dag 30 als de tweelingdracht nog steeds aanwezig is.

Transvaginale punctie

Transvaginale punctie is een tamelijk recent ontwikkelde techniek om tweelingdracht bij de merrie te reduceren. Ze werd het eerst beschreven door Bracher *et al.* (1993). Het punteren van één van de beide vruchten via de vagina heeft een redelijke kans op succes indien de punctie uitgevoerd wordt vóór 40 dagen dracht. Bij een verder gevorderde dracht dalen de resultaten sterk (Bergman *et al.*, 1998).

De techniek vergt de nodige voorbereiding en de resultaten zijn sterk afhankelijk van de ervaring van de operatoren. De merrie dient 30 minuten vóór de ingreep behandeld te worden met 350 – 500 mg flunixin meglumine (Finadyne®, Schering-Plough N.V., Brussel, België) om de prostaglandinevrijstelling door manipulatie van de baarmoeder tegen te gaan. Na het plaatsen in een opvoelbox wordt de merrie gesedeerd met detomedine hydrochloride (Domosedan®, Pfizer Animal Health, Zaventem, België) en buprenorfine (Temgesic®, Schering-Plough N.V., Brussel, België). De uterusrelaxatie die optreedt als gevolg van de sedatie, bemoeilijkt een goede fixatie van de vrucht in de uterus. De darmperistaltiek van de endeldarm kan verminderd worden door 60 ml xylocaine 2% via een slangetje in het rectum te brengen. Door middel van echografisch onderzoek wordt bepaald welke vrucht gepuncteerd zal worden. Indien er een grootteverschil bestaat, moet de kleinste vrucht gepuncteerd worden aangezien deze mogelijk een achterstand in groei heeft. De staart van de merrie wordt gebandageerd en het perineum wordt grondig gewassen met joodzeep en vervolgens afgedroogd. De punctie wordt uitgevoerd met een toestel dat voor

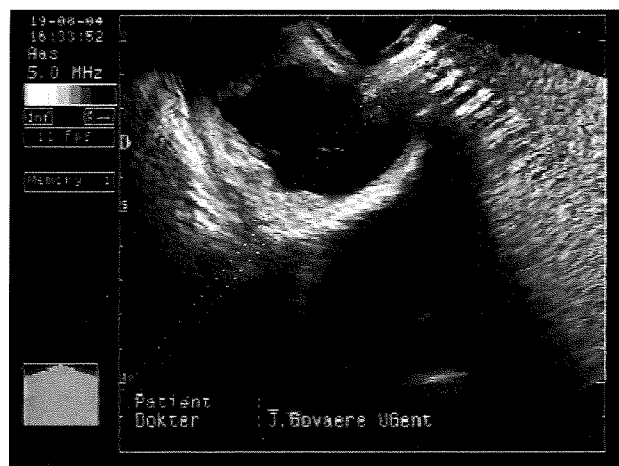


Fig. 1. Echografisch beeld van een transvaginale punctie. In de baarmoeder zijn de beide vruchtblazen met de scheidingwand zichtbaar ter hoogte van de biopsielijn.

Ovum-Pick-Up bij de koe werd ontworpen. Het bestaat uit een 50 cm lange, roestvrij stalen buis met daarop een naaldgeleidingssysteem dat tevens voorzien is van een handgreep om manipulatie te vereenvoudigen. In deze buis plaatst men een sectoriële sonde die op het echografisch beeld een biopsielijn aangeeft. In het naaldgeleidingssysteem past een naaldgeleider met daarop een naald die via een connector verbonden is met een siliconeslang die op haar beurt verbonden is met een vacuümpomp. Op de top van de sectoriële sonde wordt steriele gel aangebracht waarna het gehele systeem in een steriele handschoen geschoven wordt om bevuiling van het toestel tegen te gaan. Aan de buitenkant wordt ook een kleine hoeveelheid steriel glijmiddel aangebracht. De sonde wordt vervolgens in de vagina geschoven tot naast de portio vaginalis van de cervix. Een rechtshandige dierenarts houdt de sonde met de linkerhand in positie terwijl met de rechterhand de baarmoeder onder rectale begeleiding op het dak van de vagina geplaatst wordt. De baarmoeder wordt dusdanig gepositioneerd dat de aan te prikken vruchtblaas in beeld gebracht wordt ter hoogte van de biopsielijn (Bergman *et al.*, 1998). Het nauwkeurig positioneren en aldus het stabiliseren van de baarmoeder worden moeilijker bij toenemende dracht (meer dan 45 – 50 dagen dracht) en bij oudere multipare merries wegens het zwaarder worden van de baarmoeder (Macpherson en Reimer, 2000). Vervolgens wordt door een tweede persoon de naaldgeleider met de naald in het toestel gebracht. De naald wordt met een korte, snelle beweging tot in de vruchtblaas gebracht waarna men kan opteren om ofwel vruchtwater te aspireren of om de vrucht zelf aan te prikken. Om het trauma aan het geslachtsapparaat tot een minimum te beperken,

wordt de baarmoeder bij voorkeur slechts één keer doorboord (Bergman *et al.*, 1998). Door de vrucht aan te prikken in plaats van vruchtwater te aspireren wordt de duur van de ingreep sterk verkort en is er minder kans op bijkomend trauma. Door echter zoveel mogelijk vruchtwater te aspireren is er minder kans op lekkage waardoor er minder reactie van het endometrium zou zijn. Ook de diameter van de naald is hierbij van belang. Een dikkere naald laat vlottere aspiratie van het vruchtwater toe, terwijl voor het aanprikken van de eigenlijke vrucht een dunnere naald kan volstaan en tot minder lekkage zou leiden (Pascoe *et al.*, 1987; Bergman *et al.*, 1998).

De meeste auteurs zijn de mening toegedaan dat na de punctie progesteronsupplementatie aangewezen is (40 mg altrenogest (Regumate[®], Intervet, Mechelen, België) per os per dag). Deze therapie zou zorgen voor minder vochttopstapeling in de baarmoeder en minder contactverlies tussen de overblijvende vrucht en het endometrium door een verhoogde tonus van de uterus (Squires *et al.*, 1994; Macpherson *et al.*, 1995). Een mogelijk alternatief, om het loslaten van de vrucht door het endometrium te voorkomen, zou erin kunnen bestaan om in de vruchtblaas een toxisch product te spuiten waardoor de vrucht toch afsterft, maar zonder verandering van de vorm van de vruchtblaas (Macpherson en Reimer, 2000). Ook het preventief gebruik van antibiotica tijdens en enkele dagen na de ingreep is volgens meerdere auteurs gewenst (Squires *et al.*, 1994; Macpherson *et al.*, 1995).

De slaagpercentages voor transvaginale punctie zijn sterk uiteenlopend en afhankelijk van het fixatietype. Bij verschillende onderzoekers variëren de slaag-

percentages van 16 tot 56 %. Uit Tabel 1 kan men opmaken dat de resultaten in het algemeen beter zijn na punctie van een bilaterale tweelingdracht. Bij transvaginale punctie van een unilaterale tweeling worden de resultaten immers beïnvloed door de nabijheid van de andere embryo/foetus en de bijhorende vruchtvliezen. Bij het inbrengen van de naald is het namelijk niet mogelijk alle placentale vliezen te visualiseren en is het risico reëel dat bij het opschuiven van de naald de vruchtvliezen van de naburige vrucht ook geraakt worden, waardoor ook deze vrucht kan afsterven. Bij toenemende drachtduur worden de vruchtvliezen groter, het contact intenser en is er dus meer risico om bij een punctie de vruchtvliezen van de beide vruchten te beschadigen. Bovendien is het bij verder vorderende dracht door het toenemend gewicht en volume van de vruchtblazen veel moeilijker om de baarmoeder te fixeren.

Uit de resultaten van deze studies kwam naar voren dat punctie vaker succesvol is indien ze uitgevoerd wordt vóór de 36^e dag van de dracht, zeker als men te maken heeft met een unilaterale dracht. Heeft men te maken met een unilaterale tweelingdracht dan kan anderzijds eventueel gewacht worden tot dag 40 alvorens in te grijpen. Tot dag 40 is de kans op natuurlijke embryoreductie immers reëel (Ginther, 1989a). Bij unilaterale tweelingdrachten waarbij natuurlijke embryoreductie optreedt, kan men doorgaans tussen dag 25 en 30 reeds een grootteverschil tussen de beide vruchten waarnemen (Ginther, 1984a). Macpherson en Reimer (2000) zijn dan ook de mening toegedaan dat bij merries drachtig van een unilaterale tweeling, waarbij vóór dag 40 een duidelijk verschil in grootte tussen de twee vruchtblazen bestaat, ingrijpen onno-

Tabel 1. Punctieresultaten van de verschillende onderzoekers.

Auteur	Totaal		Unilateraal		Bilateraal	
	N	N succes (%)	N	N succes (%)	N	N succes (%)
Bracher <i>et al.</i> , 1993	13	6 (46)	9	3 (33)	4	3 (75)
Jonker <i>et al.</i> , 1995	16	9 (56)	16	9 (56)	0	0 (-)
Morris <i>et al.</i> , 1999	6	2 (33)	2	0 (0)	4	2 (50)
Macpherson en Reimer, 2000	19	3 (16)	11	1 (9)	8	2 (25)
Totaal	54	20 (37)	38	13 (34)	16	7 (44)

dig is. Zijn de beide vruchtblazen even groot tussen de 25^e en 30^e dag van de dracht, dan is transvaginale reductie wel dé aangewezen behandeling.

Transabdominale punctie

Transabdominale punctie van een paardenfoetus onder echografische controle werd voor het eerst uitgevoerd in 1985. Het betrof een merrie die ongewenst drachtig was waarbij men via deze techniek de vrucht wou doden. De merrie werd twee maal gepuncteerd (op dag 60 en dag 84) waarbij een fysiologische zoutoplossing en lucht werden geïnjecteerd in de vrucht. De vrucht bleef echter leven en de merrie aborteerde na 7 maanden dracht van een veulen met gastroschisis: de maag was vermoedelijk geruptureerd ten gevolge van het groot volume fysiologische oplossing die in het abdomen geïnjecteerd werd. In een volgende fase probeerde men bij merries die in een vergevorderd stadium (tussen 66 en 168 dagen dracht) drachtig waren van een tweeling, één van de twee vruchten te doden en zo de tweelingdracht te reduceren tot een éénlingdracht.

De procedure van de transabdominale tweelingpunctie is in de loop der jaren grotendeels ongewijzigd gebleven. Na controle van de beide vruchten wordt de best bereikbare uitgekozen om te doden tenzij er een grootteverschil aanwezig is; in dat geval wordt de kleinste vrucht gedood. Het ventrale abdomen van de merrie wordt geschoren en aseptisch voorbereid als voor een standaard chirurgische procedure. Een sectoriële echosonde wordt op een biopsieapparaat bevestigd en de afstand van de huid tot het hart van de te reduceren vrucht wordt bepaald om zo een naald van gepaste lengte te kiezen. De beide vruchten worden gescand en de exacte lokalisatie van de punctieplaats wordt nagegaan en lokaal geïnfiltriseerd met 2 % lidocaïne. Over de echokop wordt een steriele rectaal handschoen geschoven en met steriele gel maakt men contact met de huid. De naald wordt in één beweging door de huid en door de buikwand opgeschoven. De top van de naald wordt dan met de echo bepaald en de naald wordt vervolgens opgeschoven door de baarmoederwand tot in de thorax van het veulen. In een vlotte beweging wordt de naald opgeschoven tot in het hart van het veulen waarna het stylet verwijderd wordt. Als de naald correct gepositioneerd is, stroomt er bloed uit de naald; als dit niet het geval is, wordt de naald geherpositioneerd tot dit wel het geval is en vervolgens wordt KCl intracardiaal geïnjecteerd bij de vrucht totdat de hartslag wegvalt (Rantanen en Kincaid, 1988). Volgens Mac-

pherson en Reimer (2000) mag tot 32mEq KCl (2 mEq/ml) intracardiaal geïnjecteerd worden zonder dat de overblijvende vrucht hierdoor beïnvloed wordt.

Bij een licht gewijzigde techniek maakt men gebruik van 10 tot 20 ml procaïne penicilline om te injecteren in de vrucht. Deze techniek heeft aanzienlijke voordelen: (1) door een antibioticum in te spuiten wordt het risico op iatrogene contaminatie verminderd, (2) het groter geïnjecteerd volume laat betere visualisatie toe, en (3) de vrucht sterft zelfs af als de vloeistof niet exact intracardiaal gespoten wordt. Het volstaat immers de procaïne penicilline intrathoracaal of intra-abdominaal te spuiten om de vrucht te doden. In deze laatste gevallen duurt het wel iets langer alvorens de vrucht afsterft (Macpherson en Reimer, 2000).

De resultaten van deze transabdominale tweelingpunctie zijn redelijk. Rantanen en Kincaid (1988) slaagden erin om bij 7 van de 18 merries (40 %) de tweelingdracht succesvol te reduceren tot een éénlingdracht. Rantanen stelde vast dat deze techniek de beste resultaten opleverde als men kon ingrijpen tussen dag 115 en 130 van de dracht. Van 59 merries die langer dan 115 dagen drachtig waren, konden McKinnon en Rantanen (1998) er 29 (49 %) succesvol tot een éénlingdracht reduceren. Ook de gewijzigde techniek waarbij procaïne penicilline wordt geïnjecteerd kan met goed gevolg aangewend worden. Zo kregen 8 van de 13 (62 %) op deze manier behandelde merries één levend veulen (Macpherson en Reimer, 2000).

Chirurgische verwijdering van één foetus

Een zeer ingrijpende techniek om tweelingdracht bij de merrie te behandelen is de chirurgische verwijdering van één van de twee vruchten. Dit wordt omwille van de kostprijs en de omslachtigheid niet vaak toegepast en deze techniek is vanzelfsprekend enkel uitvoerbaar onder kliniekomstandigheden (Bruyas *et al.*, 1997).

Vóór de operatie wordt eerst echografisch bepaald welke van de twee vruchten men chirurgisch gaat verwijderen. Indien er een verschil in grootte bestaat tussen beide dan opteert men voor de kleinste van de twee. Wanneer één van de twee vruchten afwijkend is, zal men uiteraard de afwijkende vrucht wegnemen. De merries worden 48 uur vóór de operatie uitgevast. Op deze manier wordt het buikvolume gereduceerd en is de expositie gemakkelijker. De merrie wordt onder algemene (gas)anesthesie gebracht waarna de buik voorbereid wordt voor een chirurgische ingreep.

Er wordt een incisie gemaakt in de linea alba, van caudaal van de navel tot craniaal van de uier. Heeft men te maken met een bilaterale tweelingdracht dan brengt men de hoorn met de te verwijderen vrucht in de wonde. Een assistent neemt dan voorzichtig de uterus vast tussen de vrucht en de bifurcatie zodat de vrucht niet naar de andere hoorn kan migreren. Door voorzichtige palpatie van de hoorn kan men verifiëren of de vrucht aanwezig is in de geselecteerde hoorn. Gaat het om een unilaterale tweelingdracht dan wordt de drachtige hoorn tot in het operatieveld gebracht. Na het plaatsen van twee poolhechtingen in de serosa maakt men met behulp van een elektrische bistouri een incisie van 3 cm in de serosa en de muscularis in een zo min mogelijk gevasculariseerd deel van de uterus. Met een 16 gauche naald (en een 60 ml spuit) die men doorheen het endometrium en het allantochorion duwt, aspireert men zoveel mogelijk vruchtwater. Dit varieert meestal tussen 120 en 365 ml. Na het verwijderen van het vruchtwater snijdt men door het endometrium, wordt het allantochorion gefixeerd en verwijdert men indien mogelijk het vruchtje. Nadien neemt men het allantochorion weg door er lichte trekkracht op uit te oefenen. Het endo- en myometrium worden gesloten met een doorlopende, niet-penetrerende hechting zonder achterhaling. De serosa wordt gesloten in 2 lagen: een eerste doorlopende hechting zonder achterhaling en de tweede laag door middel van een Cushing. Na het sluiten van de uterus wordt de buikholte gespoeld met een fysiologische zoutoplossing en wordt de uterus terug in de buikholte gebracht. De buikholte wordt lege artis gesloten. Postoperatief worden flunixin meglumine, exogeen progesteron en een antibioticum toegediend.

Pascoe en Stover (1989) pasten deze methode toe op 15 merries tussen 41 en 65 dagen dracht en concludeerden dat deze techniek het best toepasbaar is, indien men te maken heeft met een bilaterale tweelingdracht tussen de 41 en 57 dagen. Geen enkele operatie (0/7) was succesvol als het een unilaterale tweeling betrof. Van de overige 8 merries met een bilaterale tweelingdracht brachten er 5 één levend veulen voort. Twee merries aborteerden van de overgebleven vrucht en de laatste merrie werd vier dagen na de operatie geëuthanaseerd wegens een femurfractuur opgelopen bij de recovery. Het veulen leefde nog toen de merrie geëuthanaseerd werd. Dertien van deze merries werden in het volgende seizoen opgevolgd om de vruchtbaarheid na te gaan en ze werden alle 13 opnieuw drachtig.

Opwekken van abortus

Door bij een merrie die drachtig is van een tweeling abortus te induceren, wordt de merrie opnieuw hengstig op voorwaarde dat de abortus opgewekt is voordat de endometriale cups gevormd zijn. Het opwekken van abortus is vooral aangewezen indien men te maken heeft met een gefixeerde tweelingdracht die vroeg in het voorjaar wordt gediagnosticeerd. Dergelijke merries kunnen dan immers gemakkelijk in het lopende seizoen opnieuw drachtig worden. Later in het seizoen is het beter af te wachten en na te gaan of er geen natuurlijke embryoreductie optreedt. De kans is dan immers groter dat de merrie hetzelfde seizoen niet meer drachtig geraakt. Als er toch geen natuurlijke embryoreductie optreedt, kan men alsnog punteren of abortus opwekken (Miller en Woods, 1988).

Zolang de endometriale cups nog niet gevormd zijn (tussen dag 36 en dag 40) en er nog geen productie van eCG is, kan de dracht beëindigd worden met behulp van één enkele injectie PGF2 α . De merrie zal 2 tot 5 dagen later opnieuw hengstig worden. Aan een injectie van PGF2 α zijn geen grote nadelen verbonden, de fertiliteit van de geïnduceerde hengstigheid is dezelfde als bij een normale hengstige merrie. Nevenwerkingen die te verwachten zijn, zijn zweten en milde koliek.

Na de vorming van de endometriale cups is de respons op een éénmalige injectie met PGF2 α variabel. Meerdere injecties zijn doorgaans wel effectief om abortus te induceren. Als er ook dan nog geen abortus optreedt, kan men proberen abortus op te wekken door de baarmoeder te spoelen met een fysiologische zoutoplossing waaraan een antibioticum toegevoegd is. De vrucht kan dan onmiddellijk of binnen 24 uur afkomen. Is dit niet het geval dan wordt aangeraden de procedure na 24 uur te herhalen. Ook bij deze methode blijven de endometriale cups intact. Het dagelijks toedienen van PGF2 α na de abortus zal wel resulteren in oestrus en ovulaties; zolang de endometriale cups echter functioneel blijven, zullen deze ovulaties niet fertiel zijn (Pacamonti, 1991).

EXOGENE PROGESTERONSUPPLEMENTATIE

In geval van een laattijdige diagnose van tweelingdracht (270 dagen en verder) zijn de mogelijke opties zeer beperkt. Er wordt verondersteld dat de nutritionele stress van één van de twee vruchten uiteindelijk resulteert in het afsterven van deze vrucht waardoor corticosteroiden en prostaglandinen worden vrijgesteld. Daardoor zou vervolgens een proces

in gang worden gezet dat gelijkaardig is aan de normale partus en uiteindelijk resulteert in abortus. De toediening van exogeen progesteron zou deze uteriene prostaglandinevrijstelling kunnen tegengaan. Ook NSAID's, zoals butazolidines of flunixin meglumine, zouden als prostaglandineantagonisten hun nut kunnen bewijzen in het tegengaan van zo'n prostaglandinesynthese.

Het toedienen van progesteron om abortus bij merries die drachtig zijn van een tweeling te voorkomen, is aan veel kritiek onderhevig. De gebruikte hoeveelheden exogeen progesteron zouden volgens de tegenstanders van deze therapie immers niet volstaan om voldoende hoge plasmaprogesteronspiegels te verkrijgen. Om plasmaprogesteronspiegels te verkrijgen die hoger liggen dan 4 ng/ml (noodzakelijk om de dracht bij de merrie in stand te houden) moet men dagelijks 22 tot 44 mg altrenogest per os geven als er een totaal verlies van endogeen progesteron is. Bij merries die dreigen te aborteren van een tweeling, valt echter niet noodzakelijk alle endogene progesteron weg. In deze gevallen zou een gedeeltelijke exogene supplementatie kunnen volstaan. In elk geval zijn er geen nadelige effecten vastgesteld als exogeen progesteron wordt gegeven aan merries die tussen 40 en 320 dagen drachtig zijn (Roberts en Myhre, 1983). Daels *et al.* (1994) onderzochten de beschermende werking van flunixin meglumine, progesteron (intra-musculair) en altrenogest (per os) ten opzichte van prostaglandine-inwerking op een drachtige baarmoeder. Vier groepen drachtige merries (tussen de 82 en 152 dagen) werden dagelijks ingespoten met PGF₂ α waarna het optreden van abortus werd nagegaan bij de verschillende groepen. Flunixin meglumine was niet in staat abortus te voorkomen terwijl behandeling met progesteron of altrenogest in het merendeel van de gevallen wel efficiënt was bij de preventie van abortus.

RANTSOENBEPERKING

Tot slot is er nog een oude behandelingsmethode die nu niet meer wordt toegepast en ook niet wordt aanbevolen (Waldow, 1996). Het gaat om rantsoenbeperking (Merkt *et al.*, 1982) om zo tweelingdrachten te reduceren tot een éénlingdracht. Deze methode is ethisch niet verantwoord en een wetenschappelijk bewijs van een gunstig effect van voederbeperking werd nooit geleverd.

BESLUIT

Indien tweelingdracht vroeg gediagnosticeerd wordt (tussen dag 13 en 15), zijn de resultaten van manuele embryoreductie, indien vroeg uitgevoerd, zeer goed (90 %). Daarom is een tijdige diagnose uitermate belangrijk. De andere behandelingsmogelijkheden moeten dan ook als noodmaatregelen beschouwd worden.

LITERATUUR

- Bergman H.J., Vanroose G., Vervaeke P., Beeckman D., de Kruif A. (1998). Transvaginale punctie van een tweelingvrucht bij een merrie. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 67, 123-127.
- Bracher V., Parlevliet J.M., Pieterse M.C., Vos P.L.A.M., Wiemer P., Taverne M.A.M., Colenbrander B (1993). Transvaginal ultrasound-guided twin reduction in the mare. *The Veterinary Record* 133, 478-479.
- Bruyas J.F., Battut I., Fieni F., Tainturier D. (1997). Gestation gémellaire chez la jument : une cause majeure d'avortement. *Le Point Vétérinaire* 28 (183), 1261-1271.
- Daels P.F., Besognet B., Hansen B., Odensvik K., Kindahl H. (1994). Efficacy of treatments to prevent abortion in pregnant mares at risk. *Proceedings of the 40th Annual Convention of the American Association of the Equine Practitioners, Vancouver, British Columbia*, p 31-32.
- Flood P.F. (1993). Fertilization, early development, and the establishment of the placenta. In: McKinnon A.O., Voss J.L. *Equine Reproduction*. Williams en Wilkins, Baltimore, p473-485.
- Giles R.C., Donahue J.M., Hong C.B., Tuttle P.A., Petrites-Murphy M.B., Poonacha K.B., Roberts A.W., Tramontin R.R., Smith B., Swerczek T.W. (1993). Causes of abortion, stillbirth, and perinatal death in horses: 3,527 cases (1986-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 203, 1170-1175.
- Ginther O.J. (1982a). Twinning in mares: a review of recent studies. *Journal of Equine Veterinary Science* 2, 127-135.
- Ginther O.J. (1982b). Effect of reproductive status on twinning and on side of ovulation and embryo attachment in mares. *Theriogenology* 20, 383-395.
- Ginther O.J. (1983). The twinning problem: from breeding to day 16. *Proceedings of the 29th Convention of the American Association of Equine Practitioners, Las Vegas, Nevada*, p11-26.
- Ginther O.J. (1984a). Postfixation embryo reduction in unilateral and bilateral twins in mares. *Theriogenology* 22, 213-223.
- Ginther O.J. (1984b). Mobility of twin embryonic vesicles in mares. *Theriogenology* 22, 83-95.

- Ginther O.J. (1985). Dynamic physical interactions between the equine embryo and uterus. *Equine Veterinary Journal, Supplement 3*, 41-47.
- Ginther O.J. (1987). Relationships among number of days between multiple ovulations, number of embryos, and the type of embryo fixation in mares. *Journal of Equine Veterinary Science 7*, 82-88.
- Ginther O.J. (1988). Using a twinning tree for designing equine twin-prevention programs. *Journal of Equine Veterinary Science 8*, 101-107.
- Ginther O.J. (1989a). The nature of embryo reduction in mares with twin conceptuses: deprivation hypothesis. *American Journal of Veterinary Research 50*, 45-53.
- Ginther O.J. (1989b). Twin embryos in mares I: from ovulation to fixation. *Equine Veterinary Journal 21*, 166-170.
- Ginther O.J. (1989c). Twin embryo's in mares II: post fixation embryo reduction. *Equine Veterinary Journal 21*, 171-174.
- Ginther O.J., Bergfeldt D.R. (1988). Embryoreduction before day 11 in mares with twin conceptuses. *Journal of Animal Science 66*, 1727-1731.
- Ginther O.J., Douglas R.H., Lawrence J.R. (1982). Twinning in mares: A survey of veterinarians and analyses of theriogenology records. *Theriogenology 18*, 333-347.
- Ginther O.J., Griffin P.G. (1994). Natural outcome and ultrasonic identification of equine fetal twins. *Theriogenology 41*, 1193-1199.
- Hughes J.P., Stabenfeldt G.H. (1977). Conception in a mare with an active corpus luteum. *Journal of the American Veterinary Medical Association 170*, 733-734.
- Jeffcott L.B., Whitwell K. (1973). Twinning as a cause of fetal and neonatal loss in the Thoroughbred mare. *Journal of Comparative Pathology 83*, 91-106.
- Jonker F., Parlevliet J., Pycocock J., Vos P. (1995). Twin reduction in 16 mares by transvaginal ultrasound-guided puncture of the embryonic vesicle. *Proceedings of the British Equine Veterinary Association, Annual Congress*. In: Macpherson en Reimer (2000).
- Macpherson M.L., Homco L.D., Varner D.D., Blanchard T.L., Harms P.G., Flanagan M.N., Forrest D.F. (1995). Transvaginal ultrasound-guided allanto-centesis for pregnancy elimination in the mare. *Biology of Reproduction Monograph series 1*, 215-223, in Equine Reproduction VI.
- Macpherson M.L., Reimer J.M. (2000). Twin reduction in the mare: current options. *Animal Reproduction Science 60-61*, 233-244.
- McKinnon A.O., Rantanen N.W. (1998). Twins. In: Rantanen N.W., McKinnon A.O. (Eds.). *Equine Diagnostic Ultrasonography*. Williams en Wilkins, Baltimore, p141-156.
- McKinnon A.O., Voss J.L., Squires E.L., Carnevale E.M. (1993). Diagnostic ultrasonography. In: McKinnon A.O., Voss J.L. *Equine reproduction*. Williams en Wilkins, Baltimore, p266-302.
- Merkt H., Jungnickel S., Klug E. (1982). Reduction of early twin pregnancy to single pregnancy in the mare by dietetic means. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 32*, 451-452.
- Miller A., Woods G.L. (1988). Diagnosis and correction of twin pregnancy in the mare. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice 4*, 215-220.
- Morris L.H.A., Greenwood R.E.S., Allen W.R. (1999). Transvaginal ultrasound-guided reduction of twin conceptuses in the mare. *Pferdeheilkunde 15*, 614-617.
- Pacamonti D.L. (1991). Elective termination of pregnancy in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association 198*, 683-689.
- Pascoe D.R. (1992). The origin and management of twin pregnancy between 14 and 60 days. *Veterinary Continuing Education, Massey-University 143*, 23-33.
- Pascoe D.R., Pascoe R.R., Hughes J.P., Stabenfeldt G.H., Kindalh H. (1987). Comparison of two techniques and three hormone therapies for management of twin conceptuses by manual embryonic reduction. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 35*, 701-702.
- Pascoe D.R., Stover S.M. (1989). Surgical removal of one conceptus from fifteen mares with twin concepti. *Veterinary Surgery 18*, 141-145.
- Pascoe R.R. (1983). Methods for the treatment of twin pregnancy in the mare. *Equine Veterinary Journal 15*, 40-42.
- Perkins N.R., Grimmet J.B. (2001). Pregnancy and twinning rates in Thoroughbred mares following the administration of human chorionic gonadotropin (hCG). *New Zealand Veterinary Journal 49*, 94-100.
- Rantanen N.W., Kincaid B. (1988). Ultrasound guided fetal cardiac puncture: a method of twin reduction in the mare. *Proceedings of the 34th Convention of the American Association of Equine Practitioners, San Diego*, p173-179.
- Roberts C.J. (1982). Termination of twin gestation by blastocyst crush in the broodmare. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 32*, 447-449.
- Roberts S.J., Myhre G. (1983). A review of twinning in horses and the possible therapeutic value of supplemental progesterone to prevent abortion of equine twin fetuses the latter half of the gestation period. *Cornell Veterinarian 73*, 257-264.
- Squires E.L., McClain M.G., Ginther O.J., McKinnon (1987). Spontaneous multiple ovulation in the mare and its effect on the incidence of twin embryo collections. *Theriogenology 28*, 609-613.
- Squires E.L., Tarr S.F., Shideler R.K., Cook N.L. (1994). Use of transvaginal ultrasound-guided puncture for elimination of equine pregnancies during days 50 to 65. *Journal of Equine Veterinary Science 14*, 203-206.
- Veronesi M.C., Battocchio M., Faustini M., Gandini M., Cairoli F. (2003). Relationship between pharmacological induction of estrous and/or ovulation and twin pregnancy in the Thoroughbred mares. *Domestic Animal Endocrinology 25*, 133-140.

- Waldow D. (1996). Management of twin pregnancy in mares. *The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 18, 808-811.
- Willink D.L., Smeenk L.A.J., van Oijen P.W.C.M., de Kruif A. (1997a). De incidentie van dubbele ovulaties bij het Nederlands warmbloedpaard. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 122, 277-279.
- Willink D.L., Smeenk L.A.J., van Oijen P.W.C.M., de Kruif A. (1997b). Natuurlijke versus manuele embryo-reductie van tweelingdracht bij de merrie resulterend in

een tweelingpreventie programma. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 122, 363-368.

- Woods G.L., Hallowell A.L. (1993). Management of twin embryos and twin foetuses in the mare. In: McKinnon A.O., Voss J.L. *Equine Reproduction*. Williams en Wilkins, Baltimore, p 532-535.

- Woods J., Bergfelt D.R., Ginther O.J. (1990). Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic-loss rate in mares. *Equine Veterinary Journal* 22, 410-415.

Uit het verleden

Veterinair Verleden in de Vitrine (Thema Tuberculosebestrijding). Zie pag. 373

Uit de brochure 'Kent U wel de longtering' tijdens het Interbellum verspreid onder de bevolking (collectie Diergeneeskundig Verleden, UGent, Merelbeke).

