

INTERSEKSUALITEIT BIJ EEN VARKEN: IMPLICATIES VOOR HORMONENONDERZOEK

Intersexuality in a pig: implications for hormonal research

S. Van Cruchten¹, K. De Wasch², S. Impens², P. Lobeau², I. Desmedt³, P. Simoens¹, H. De Brabander²

¹Vakgroep Morfologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent

²Vakgroep Diergeneeskundig Toezicht op Eetwaren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

³Veterinaire Diensten, Ministerie van Middenstand en Landbouw
IJzerkaai 27, B-8500 Kortrijk

SAMENVATTING

Tijdens een routinecontrole op een varkensbedrijf werd in meststalen nortestosteron aangetroffen. Een interseksueel varken werd hiervoor verantwoordelijk geacht en een dergelijk dier werd na het slachten anatomisch, histologisch en chemisch verder onderzocht. Bij inspectie van de geslachtsorganen werd een overwegend vrouwelijke geslachtstractus vastgesteld met een vagina en uterus en aan de linkerkzijde een normaal ovarium met eileider. Aan de rechterzijde waren er echter een hypoplastische testis met een epididymis en een sterk ontwikkelde plexus pampiniformisachtige structuur aanwezig. Histologisch werden in deze testis geen spermatozoa maar wel duidelijke Leydigcellen vastgesteld. Bij de chemische analyse van urine, vet-, nier- en testisweefsel werd 17- β -nortestosteron aangetoond; ook de precursor norandrostenedion werd teruggevonden in de urine, de nieren en de testis. Aangezien interseksualiteit bij het varken vrij frequent voorkomt, moeten dierenartsen die controles uitvoeren op varkensbedrijven, op de hoogte zijn van deze problematiek die interfereert met de controle op de aanwezigheid van hormonale producten in het vlees.

ABSTRACT

During a routine inspection on a pig farm, nortestosterone was found in faecal samples. An intersexual pig held responsible for this finding was slaughtered and was later investigated anatomically, histologically and chemically. Macroscopic inspection revealed a mainly female reproductive tract consisting of a vagina, a uterus and on the left side a normal ovary and uterine tube. However, on the right side a hypoplastic testis with an epididymis was found together with a well-developed plexus pampiniformis-like structure. Histologically no spermatozoa were found in this testis, but Leydig cells were numerous. Chemical analysis showed the presence of 17- β -nortestosterone in the urine, fat, kidney and testicular tissue, as well as the precursor noradrenostenedione in the urine, kidney and testis. As intersexuality is a frequent phenomenon in pigs, veterinarians who are responsible for food safety, must be aware of this problem which interferes with the inspection of hormonal products in meat.

INLEIDING

De Europese Commissie regelt de controle van dieren en vlees op de aanwezigheid van residuen van diergeneesmiddelen en specifieke contaminanten in de Europese Unie (Richtlijn 86/469/EEC, naderhand vervangen door Richtlijn 96/23/EC). Deze regelgeving wordt in België geïmplementeerd door de wet van 15 juli 1985 betreffende het gebruik van stoffen

met een hormonale, anti-hormonale, β -adrenergische of productiestimulerende werking bij dieren. Concreet betekent dit dat op varkensbedrijven regelmatige controles worden uitgevoerd waarbij meststalen worden onderzocht. Tijdens een dergelijke routinecontrole op een varkensbedrijf werden stalen verdacht bevonden op de aanwezigheid van nortestosteron, dat behoort tot de groep A-substanties volgens bijlage 1 van de Richtlijn 96/23/EC. De bedrijfsleider ontken-

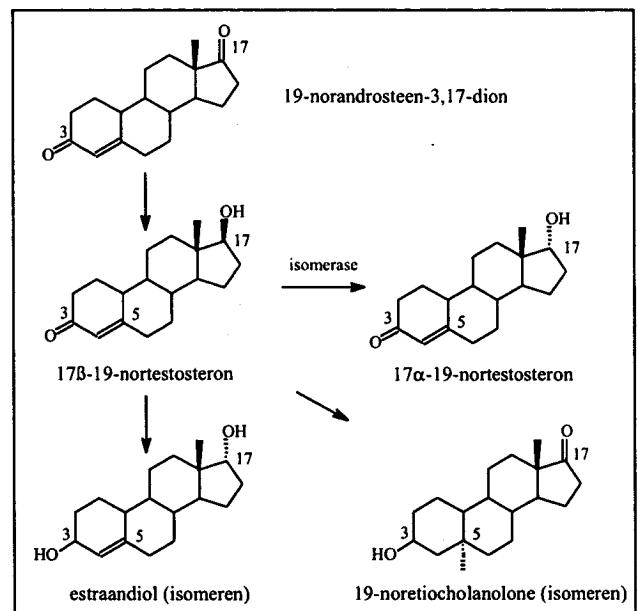
de echter formeel hormonale preparaten te hebben gebruikt op zijn bedrijf. Bij nader onderzoek werd een interseksueel varken op dit bedrijf vastgesteld, hetgeen mogelijk het positief resultaat kon verklaren. Er zijn immers verschillende studies verschenen waarin wordt aangetoond dat nortestosteron endogeen aanwezig is bij bepaalde huisdieren, waaronder de beer (Debruyckere *et al.*, 1990), de hengst (Houghton *et al.*, 1984) en het drachtige rund (Meyer *et al.*, 1992), maar niet bij de zeug.

In deze casuïstiek zal eerst de problematiek rond nortestosteron worden toegelicht. Vervolgens zal er dieper worden ingegaan op het begrip interseks en op de anatomische, histologische en chemische kenmerken van het onderzochte interseksueel varken. Hierbij zal voornamelijk worden benadrukt hoe een dergelijk dier op het bedrijf en in het slachthuis kan worden herkend.

DE NORTESTOSTERONPROBLEMATIEK

Nortestosteron (17β NT), ook vaak nandrolone genoemd, is één van de krachtigste stoffen met androgene werking, die meestal als "anobole steroïden" worden aangeduid. Het prefix "nor-" verwijst naar het ontbreken van een 19-methylgroep in vergelijking met testosteron. In het verleden werd nortestosteron vaak gebruikt voor vetmestingsdoeleinden, omwille van de verhoogde gewichtstoename en een verbeterde voedselconversie. Het werd ook gebruikt in de sportdoping. Wanneer residuen van nortestosteron of zijn metabolieten aangetroffen werden in de urine van runderen, renpaarden of atleten werd de exogene toediening bewezen geacht. In de literatuur werden immers lange tijd geen aanwijzingen gevonden van het endogeen karakter van deze molecule bij het rund, het paard en de mens. Tuinstra *et al.* (1986) beschreven 17α -nortestosteron (17α NT) en de estraandiolen als de belangrijkste metabolieten van nortestosteron bij het rund (Figuur 1). Deze producten konden enkel worden gedetecteerd bij dieren die behandeld werden met nortestosteron of zijn derivaten (bijvoorbeeld esters van nortestosteron, zoals Laurabolin of Durabolin).

Bij paarden toonden Houghton *et al.* (1984) echter aan dat nortestosteron normaal aanwezig is in de urine van de hengst. Korte tijd nadien vonden Belgische en Nederlandse onderzoekers dat 17β NT voorkomt in de urine en in eetbare delen van het intacte mannelijke varken (de beer). Deze bevindingen werden eerst besproken in werkgroepen (Veterinaire Inspectie, BENELUX) en later werden ze gepubliceerd door



Figuur 1. Metabolieten van nortestosteron (bij het rund en de mens) en zijn precursor norandrosteeendion.

Maghuin-Rogister *et al.* (1988), van Ginkel *et al.* (1989) en Debruyckere *et al.* (1990). Rizzo *et al.* (1993) rapporteerden later de endogene origine van 17β NT door analyse van berentestikels. Hierbij dient gewezen te worden op de afwezigheid van een isomerase bij het varken, waardoor 17β NT niet wordt omgezet in 17α NT, zoals dit bij het rund wel het geval is. Bij de controle op stoffen met estrogene, gestagene en androgene werking (EGA's) worden sindsdien geen beren meer bemonsterd voor nortestosteronanalyse. Varkensvlees en vleesproducten op basis van varkensvlees (zoals bijvoorbeeld ravioli) kunnen niet meer worden gecontroleerd op exogene toediening van 17β NT bij handel tussen EU-lidstaten, aangezien berenvlees nog steeds mag verwerkt worden voor humane consumptie.

Bij runderen heeft de nortestosteronproblematiek veel aandacht gekregen. De eerste waarneming van de endogene aanwezigheid van nortestosteron bij kalveren was gebaseerd op een analytisch artefact door verwisseling van 17α -testosteron en 17α NT (De Ridder, 1989). Rapp en Meyer beschreven in 1989 dat nortestosteron aanwezig kon zijn in niet-behandelde vleeskalveren door voeding met melkvervangers die met nortestosteron gecontamineerd waren. Vandenbroeck *et al.* (1991) suggereerden als eersten de endogene aanwezigheid van nortestosteron (17β NT maar niet 17α NT) in de urine van het drachtige rund. Meyer *et al.* (1992) rapporteerden de aanwezigheid van 17α NT in relatief hoge gehalten in de urine van de koe in de periode rond het kalven en bij het pasge-

boren kalf. Deze bevindingen konden worden bevestigd en aangevuld gedurende een grootschalig experiment van verschillende Belgische en Nederlandse laboratoria in samenwerking met het RIVM, het Europees referentielaboratorium voor EGA's (De Brabander *et al.*, 1994).

Na een korte periode van stilte kwam er in 1999 plots opnieuw een nortestosteronprobleem opduiken. Twee lange-afstandszwimmers werden beschuldigd van het misbruik van nortestosteron gedurende een wedstrijd in Brazilië. Beide atleten beweerden niets te hebben gebruikt en schreven het positief zijn van hun urine toe aan de consumptie van "sarapatel". Dit is een typische Braziliaanse schotel op basis van varkensvlees, dat ook weefsel van intacte beren kon bevatten. De advocaten van de zwimmers riepen de hulp in van experts, die een reeks experimenten uitvoerden. In één van deze testen consumeerden drie proefpersonen vlees en organen van een volwassen beer en werd hun urine getest op de metaboliëten van nortestosteron (Le Bizec *et al.*, 2000). Gedurende ongeveer 1 dag waren de drie proefpersonen positief op nortestosteronmetaboliëten volgens de officiële IOC-normen ($> 2 \mu\text{g/l}$). Het vlees en de organen van de geconsumeerde beer en van andere beren werden onderzocht en positief bevonden op 17 β NT en zijn precursor norandrostendion (De Wasch *et al.*, 2001).

HET BEGRIP INTERSEKS

Interseksualiteit is de aanwezigheid van zowel mannelijke als vrouwelijke geslachtskenmerken bij eenzelfde individu. Dit verschijnsel komt voor bij alle soorten huisdieren en in het bijzonder bij het rund, de

geit en het varken (Koch, 1961). Men maakt bij interseksexen een onderscheid tussen echte hermafrodieten (*Hermaphroditismus verus*), die de gonaden van beide geslachten hebben, en pseudo-hermafrodieten (*Pseudohermaphroditismus*), die de gonaden van slechts één geslacht hebben terwijl de rest van het geslachtsapparaat tot het andere geslacht behoort. Men spreekt respectievelijk van *Pseudohermaphroditismus masculinus* en *Pseudohermaphroditismus femininus* als de gonaden testes of ovaria zijn (Cribiu en Chaffaux, 1990). In de literatuur vindt men ook vaak de term "Freemartinism" terug. Deze vorm van interseksualiteit komt bijna uitsluitend bij runderen voor. Freemartins ofkwenen zijn geviriliseerde vrouwelijke dieren die afkomstig zijn van tweelingen die bestaan uit een mannelijk en een vrouwelijk individu en waarbij de mannelijke foetus via vaat Anastomosen in de chorioallantoïes XY-leukocyten en mannelijke geslachtshormonen aan zijn tweelingzus heeft doorgegeven (Ladds, 1993).

Bij de geit hebben interseksexen meestal een vrouwelijk genotype (XX), terwijl XX/XY chimeren zoals vastgesteld bij runderkwenen zeer zeldzaam zijn. Interseksualiteit bij de geit wordt veroorzaakt door een autosomaal recessief gen dat gelokaliseerd is in de onmiddellijke nabijheid van het autosomaal dominant gen dat instaat voor hoornloosheid. Men heeft namelijk vastgesteld dat geiten (60, XX) die homozygoot zijn voor hoornloosheid nagenoeg altijd interseksexen zijn (Ladds, 1993; Vaiman *et al.*, 1996; Pailhoux *et al.*, 2001).

Bij het varken komen interseksexen frequent voor, gaande van 0,1% tot zelfs 2% in sommige varkenspopulaties (Hunter *et al.*, 1982). De exacte oorzaak van

Figuur 2. Dorsaal aanzicht van de geslachtstractus van de interseks. De vrouwelijke componenten zijn het vestibulum vaginae (a), de vagina (b), de cervix uteri (c), het corpus uteri (d), de beide cornua uteri (e), het linker ovarium (f) en de linker eileider (k - pijltje). De mannelijke componenten bestaan uit een hypoplastische rechter testikel (g) en epididymis (h) en een plexus pampiniformis-achtige structuur (i). De urineblaas (j) is ook nog aanwezig (maatstreef = 10 cm).

Figuur 3. Detailopname van het ovarium (f) en de eileider (k). Het ovarium heeft een normale grootte en vertoont een paar vesiculair follikels (pijltjes) (maatstreef = 1 cm).

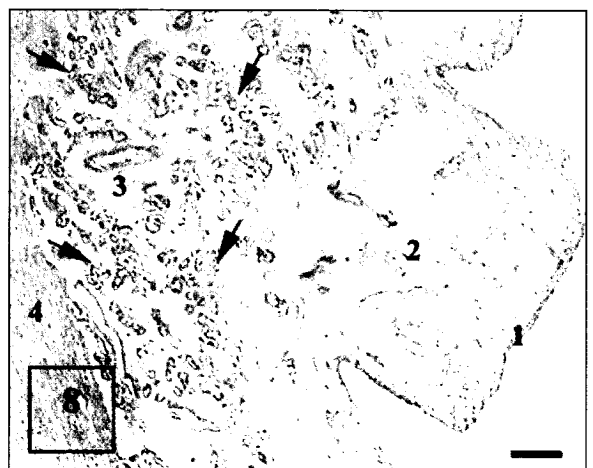
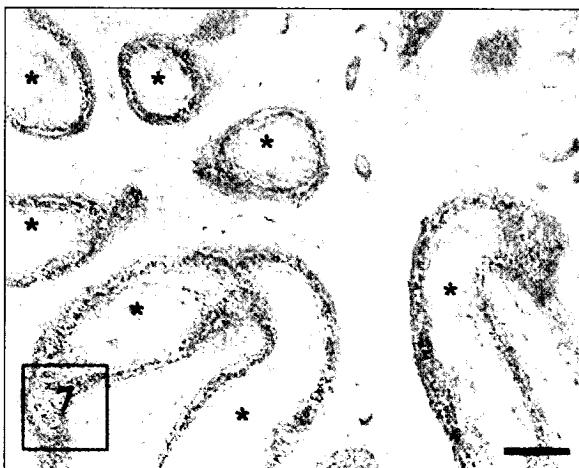
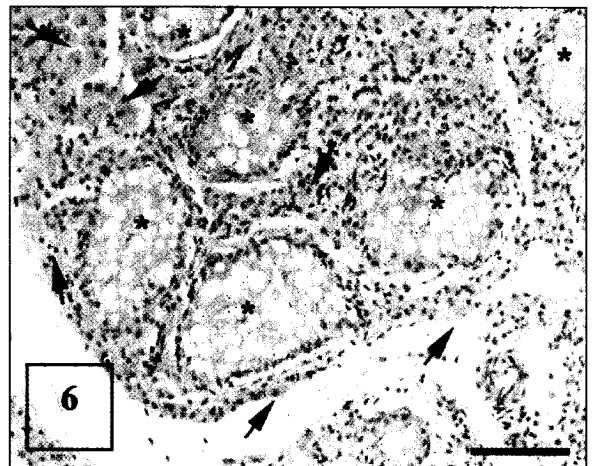
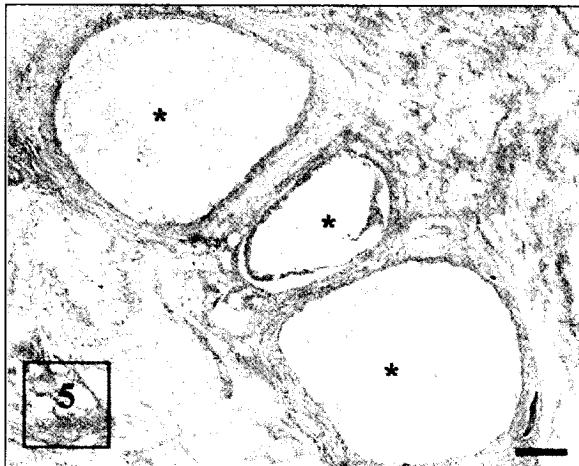
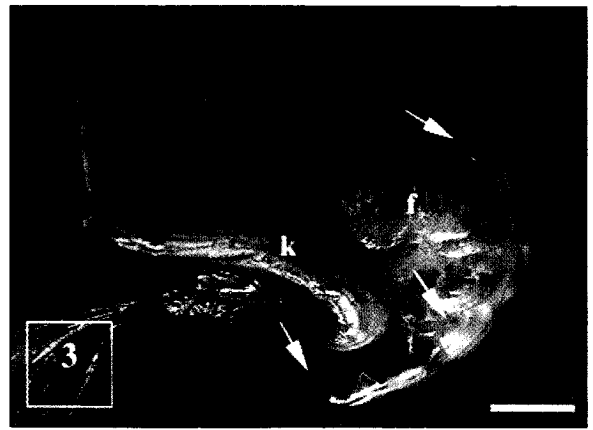
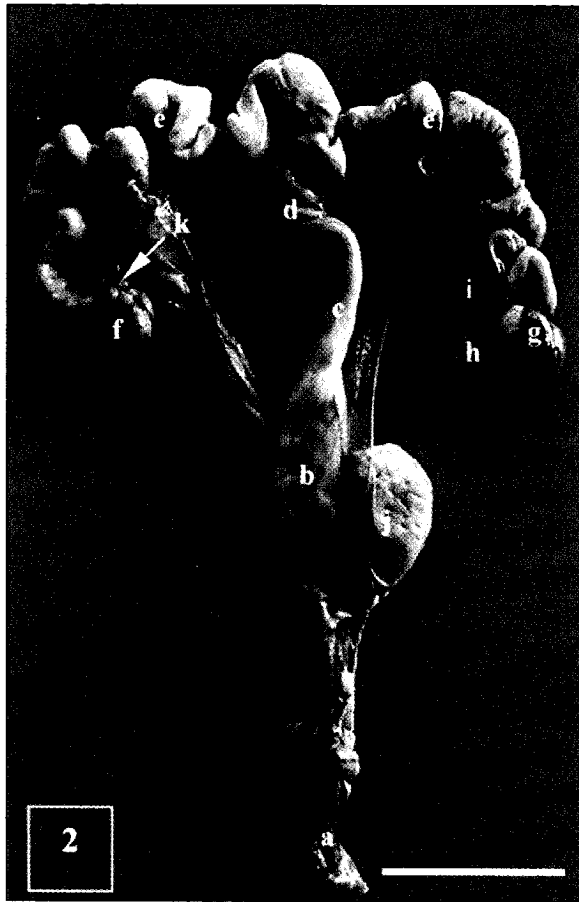
Figuur 4. Detailopname van de testis (g), de epididymis (h) en de dunne buisvormige structuur (pijltjes) tussen beide organen (maatstreef = 1 cm).

Figuur 5. Histologisch beeld van de cortex van het ovarium. Bemerkt de drie atretische follikels (sterretjes) (H.E., maatstreef = 250 μm).

Figuur 6. Histologisch beeld van de testikel. De tubuli seminiferi (sterretjes) zijn opgebouwd uit een éénlagig epitheel waarbij spermatogoniën moeilijk van Sertolicellen kunnen worden onderscheiden. Leydigcellen (pijltjes) zijn talrijk aanwezig in het interstitium (H.E., maatstreef = 100 μm).

Figuur 7. Histologisch beeld van de epididymis. Talrijke doorsneden van de ductus epididymidis (sterretjes) zijn aanwezig en tonen een normaal pseudo-tweelagig epitheel (H.E., maatstreef = 100 μm).

Figuur 8. Histologisch beeld van de buisvormige structuur tussen de testis en de epididymis. Deze structuur is opgebouwd uit een éénlagig afgeplat epitheel (1), een subepitheliale laag bindweefsel waarvan de oppervlakkige laag losmazig is (2) en de diepere laag (3) gekronkelde celstrengen en -buisjes (pijltjes) bevat, en een laag gladde spiercellen (4) (H.E., maatstreef = 250 μm).



interseksualiteit bij deze diersoort is echter nog onduidelijk. De meeste interseksuele varkens hebben een vrouwelijk genotype (XX) zoals interseksuele geiten en XX/XY chimere varkens zijn zeer zeldzaam (< 5% van de intersekse) (Hunter en Greve, 1996). Recente studies suggereren dat één of meerdere autosomaal recessieve genen de interseksualiteit bij het varken bepalen (zie verder). Aangezien de meeste interseksuele varkens onvruchtbaar zijn, vaak agressief gedrag vertonen en een berengeur in hun karkas kunnen meedragen, vormen zij een belangrijk economisch verlies. Daarenboven kunnen deze dieren verhoogde gehalten steroidale hormonen vertonen die kunnen verward worden met exogeen toegediende hormonen, met ernstige sancties voor het bedrijf tot gevolg.

CASUÏSTIEK

Materiaal en methoden

Het interseksueel varken werd op het bedrijf geslacht en de inwendige genitaliën werden geresceerd voor nader laboratoriumonderzoek. Bij het slachten werden de vulva en de clitoris weggesneden, zodat deze structuren niet meer konden beoordeeld worden. Na macroscopische digitale fotografie van de geslachtstractus werden de verschillende onderdelen van het geslachtsapparaat (vagina, cervix, linker baarmoederhoorn, ovarium, eileider, testis, epididymis en de dunne buisvormige structuur gelegen tussen beide laatste organen) bemonsterd voor histologisch onderzoek. Deze stalen werden gedurende 24 uren gefixeerd in een fosfaatgebufferde 3,5% paraformaldehydeoplossing. Na fixatie werden de stalen geparaffineerd in een geautomatiseerd systeem (Shandon Citadel Tissue Processor, Cheshire, UK) en vervolgens gesneden in 10 µm dikke coupes en gekleurd met hematoxyline en eosine (H.E.), PAS en Van Gieson. Deze coupes werden onderzocht met een Leitz Diaplan lichtmicroscop (Leitz, Westlar, Duitsland).

De chemische analyses van nortestosteron en nordrenosteendion in vetweefsel, urine en feces enerzijds en in lever, nieren, spier vlees en testis anderzijds werden respectievelijk uitgevoerd met gas- en vloeistofchromatografie gekoppeld aan multipele massaspectrometrie (GC-MSⁿ en LC-MSⁿ).

Resultaten

Anatomische en histologische kenmerken

Bij inspectie van de vrouwelijke geslachtsorganen (Figuur 2) werden een duidelijk vestibulum vaginae en een goed ontwikkelde vagina vastgesteld. Ook was een normale baarmoeder aanwezig, bestaande uit een cervix uteri, een corpus uteri en twee baarmoederhoornen. Aan de linkerzijde werd een goed ontwikkeld ovarium met normale eileider vastgesteld (Figuur 3) maar rechts was er een testis aanwezig samen met een epididymis en een structuur die erg leek op een zaadstreng met een volumineuze plexus pampiniformisachtige weefselmassa (Figuren 2 en 4). Tevens werd een dunne buisvormige structuur waargenomen tussen de testis en de epididymis (Figuur 4). Aan de rechterzijde werden geen macroscopisch zichtbaar ovarieel weefsel noch een eileider vastgesteld. De inwendige structuur van deze organen werd histologisch verder onderzocht. Het ovarium was opgebouwd uit een perifeer gelegen cortex met veel atretische en een paar normale vesiculaire follikels en een centrale medulla met een normale histologische structuur (Figuur 5). De vagina, de cervix, de baarmoederhoorn en de eileider vertoonden een normale histologische opbouw. Op de weefselcoupe van de testikel (Figuur 6) werden duidelijke tubuli seminiferi teruggevonden maar deze waren minder talrijk dan bij een normale beer. De wand van de zaadbuisjes bestond slechts uit één cellaag, waarbij Sertolicellen moeilijk van spermatogoniën konden worden onderscheiden. De tubuli seminiferi bevatten geen spermatozoa. In het stroma tussen de tubuli seminiferi werden duidelijke, vaak gegroepeerde Leydigcellen vastgesteld. Histologie van de ductus epididymidis toonde een normaal pseudo-tweelagig epitheel, maar er werden geen spermatozoa aangetroffen (Figuur 7). De dunne buisvormige structuur gelegen tussen de testis en de epididymis was opgebouwd uit een éénlagig afgeplat epitheel, een dikke laag losmazig subepitheliaal bindweefsel met in de diepte talrijke gekronkelde PAS-negatieve celstrengen, die soms voorzien waren van een lumen en een uitwendige gladde spierlaag (Figuur 8).

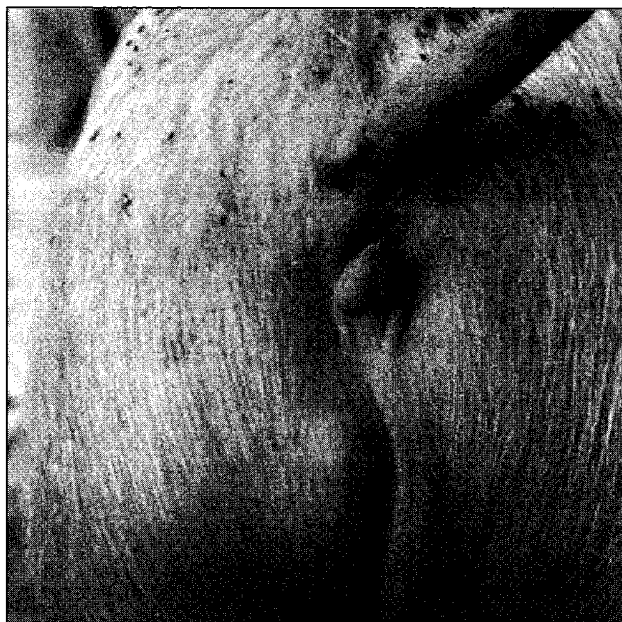
Chemische analyse

Nortestosteron werd aangetroffen in het vetweefsel en in de urine, de nieren en de testis. De hoogste concentratie werd gevonden in de urine, namelijk 27 µg/l. Ook in de testis was de concentratie vrij hoog (ca. 5 µg/kg). In het vet en de nieren waren de concentraties lager en liggen op de grens van de aantoonbaar-

Tabel 1. Analyseresultaten van matrices van de onderzochte interseks.

Monster	BNT ($\mu\text{g/kg}$)	NAED ($\mu\text{g/kg}$)	Methode
Vet	+ (ca 0,3)	-	GC-MS
Urine	+ (ca 27)	+ (ca 0,5)	GC-MS
Feces	-	-	GC-MS
Lever	-	spoor	LC-MS
Nier	+ (ca 1,6)	+ (ca 1,1)	LC-MS
Vlees	-	-	LC-MS
Testikel	+ (ca 5,3)	+ (ca 0,9)	LC-MS

(BNT = 17-beta-19-nortestosteron; NAED = 19-norandrosteeendion)



Figuur 9. Dorsale oriëntatie van de vulva bij een interseksueel varken (foto-archief vakgroep Morfologie).

heid. In de feces, de lever en het spiervlees werd geen nortestosteron teruggevonden. De precursor van nortestosteron, norandrosteeendion, werd in lage concentraties gedetecteerd in de urine, de nieren en de testis. Het niervet, de feces en het spiervlees bevatten geen aantoonbare concentraties van norandrosteeendion (Tabel 1).

DISCUSSIE

Het anatomisch beeld en het histologisch beeld van de geslachtstractus van de onderzochte interseks stemmen overeen met de kenmerken van een echte

hermafrodiet (Bäckström en Henricson, 1971; Halina *et al.*, 1984). Interseksuele varkens hebben uitwendig bijna altijd een vrouwelijk fenotype. Het eerste wat meestal opvalt, is dat de vulvaopening in meer dan 80% van deze gevallen naar boven is gericht (Figuur 9), waardoor deze dieren in een opwaartse boog urineren (Hunter en Greve, 1996). Wanneer de vulva nader bekeken wordt, treft men bij het openen van de vulvalippen meestal een (sterk) vergrote clitoris aan (Hunter en Greve, 1996). Hypertrofie van de clitoris kan echter ook ontstaan door exogene toediening van androgenen (Lauwers *et al.*, 1986), zodat men bij een hoge frequentie van dit uiterlijke kenmerk moet beducht zijn voor malafide praktijken. Soms wordt ook een driehoekige huidplooi ter hoogte van de liesstreek als kenmerkend voor interseksuele varkens beschouwd (Bäckström en Henricson, 1971). Interseksuele varkens zijn vaak ook sterker behaard dan zeugen, hebben een veel hardere huid en kunnen vanaf de puberteit ook een berengeur verspreiden (Hunter en Greve, 1996). De gedragingen van deze interseksen kunnen sterk variëren. Sommige dieren hebben een staande oestrus zoals een zeug, terwijl andere interseksen een typisch mannelijk gedrag vertonen bestaande uit enerzijds agressie en sterk speekselen bij de aanwezigheid van een mannelijke soortgenoot en anderzijds paringsgedrag bij de aanwezigheid van een vrouwelijk dier. Verder kan men ook nog een rectaal toucher overwegen om de mogelijk aanwezige bulbo-urthrale klieren van Cowper te voelen. Indien er dan nog twijfel bestaat over de natuur van deze dieren, dan kunnen ze bij het slachten of eventueel door chirurgische exploratie verder morfologisch onderzocht worden en kan interseksualiteit met zekerheid worden

vastgesteld zoals gebleken is uit de bevindingen van deze casuïstiek.

Interseksualiteit kan ook serologisch worden nagegaan. Interseksuele varkens hebben vaak een verhoogd gehalte mannelijke geslachtshormonen in vergelijking met normale zeugen en vertonen meestal geen oestriscie cyclus na PMSG-stimulatie (Hunter *et al.*, 1982).

Bij het rund wordt karyotypering frequent aangewend om interseksten te detecteren, maar dit is bij het varken niet zinvol, aangezien meer dan 96% van de interseksten een normaal vrouwelijk genotype (38, XX) heeft (Hunter en Greve, 1996). Er is echter wel een genetische predispositie voor interseksualiteit in sommige foklijnen, aangezien bij de nakomelingen van bepaalde fokberen een significant hoger percentage interseksten wordt aangetroffen dan bij andere (Bäckström en Henricson, 1971). De normale seksuele differentiatie is echter complex. Het XY-karyotype voor het mannelijk dier en het XX-karyotype voor het vrouwelijk dier worden bepaald op het moment van de bevruchting. De aanwezigheid van het Y-chromosoom en meer bepaald van het SRY-gen (Sex Region of the Y chromosome) leidt tot de differentiatie van de gonade tot de testis. Bij de afwezigheid van het SRY-gen wordt de gonade een ovarium. De differentiatie van de overige geslachtsorganen wordt voornamelijk hormonaal geregeld (Ladds, 1993; Vaiman *et al.*, 1996). Aangezien de meeste interseksuele varkens echter een vrouwelijk karyotype (38, XX) hebben, kan het SRY-gen dus geen rol spelen in de virilisatie van deze dieren. Er wordt gesuggereerd dat een autosomaal recessief gen de hoofdoorzaak is van deze aandoening (Parma, 1999; Pailhoux *et al.*, 2001; Pinton *et al.*, 2002; Switonski *et al.*, 2002). Pinton *et al.* (2002) toonden bij interseksuele varkens een afwijking aan op het chromosoom 9 die gelinkt is met interseksualiteit, maar verder onderzoek is noodzakelijk om deze bevindingen te bevestigen.

Bij chemische analyse van het onderzochte interseksuele varken werden nortestosteron en norandrostendion in diverse matrices aangetroffen. De hoogste concentratie nortestosteron werd duidelijk gevonden in de urine en ook in de testis was de concentratie vrij hoog. De precursor van nortestosteron, norandrostendion, werd eveneens in de urine, de nieren en de testis teruggevonden, maar de concentraties waren lager dan deze voor nortestosteron. Het niervet, de feces en het spier vlees bevatten geen aantoonbare hoeveelheden van beide producten, waarschijnlijk omdat de concentraties lager waren dan de detectielimiet van de methode. Bij beren werden hogere concentraties

nortestosteron en norandrostendion in al deze matrices teruggevonden, maar ook hier werden duidelijke verschillen tussen de onderzochte weefsels waargenomen (De Wasch *et al.*, 2001). Deze weefselspecifieke bevindingen zijn van belang wanneer men stalen van een verdacht dier wil onderwerpen aan een chemische analyse voor het opsporen van hormonen.

We kunnen concluderen dat dierenartsen die op varkensbedrijven monsters nemen voor hormonenonderzoek de mogelijke aanwezigheid van interseksten moeten indachtig zijn en kennis moeten hebben van hun anatomische karakteristieken en gedragskenmerken, waardoor deze dieren kunnen herkend worden. De vermoedelijke diagnose van interseksualiteit kan dan verder door chemisch en/of serologisch onderzoek bevestigd worden. Wanneer op een bedrijf een hoge frequentie van interseksuele varkens vastgesteld wordt, dan moet de oorzaak waarschijnlijk gezocht worden bij een bepaalde fokbeer en dient men de gepaste zoötechnische maatregelen te nemen om de zware economische gevolgen te voorkomen.

LITERATUUR

- Bäckström L., Henricson B. (1971). Intersexuality in the pig. *Acta Veterinaria Scandinavica* 12, 257-273.
- Cribiu E.P., Chaffaux S. (1990). L'intersexualité chez les mammifères domestiques. *Reproduction Nutrition Development Suppl. 1*, 51-61.
- De Brabander H.F., Van Hende J., Batjoens P., Hendriks L., Raus J., Smets F., Pottie G., van Ginkel L., Stephany R.W. (1994). Endogenic nortestosterone in cattle? *The Analyst* 119, 2581-2586.
- Debruyckere G., Van Peteghem C., De Brabander H.F., Debackere M. (1990). GC-MS confirmation of 19-nortestosterone in the urine of non-treated boars. *The Veterinary Quarterly* 12, 247-51.
- De Ridder E. (1989). Het gebruik van anabolica, o.m. van nortestosteron, in de kalvermestery, en meer bepaald zijn problematiek van detectie. Scriptie Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent.
- De Wasch K., Le Bizec B., De Brabander H.F., Andre F., Impens S. (2001). Consequence of boar edible tissue consumption on urinary profiles of nandrolone metabolites. II. Identification and quantification of 19-norsteroids responsible for 19-norandrostosterone and 19-noretiocholanolone excretion in human urine. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 15, 1442-1447.
- Halina W.G., Barrales D.W., Partlow G.D., Fisher K.R.S. (1984). Intersexes in swine: a problem in descriptive anatomy. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 48, 313-321.
- Houghton E., Copsy J., Dumassia M.C., Haywood P.E., Moss M.S., Teale P. (1984). The identification of C-18 neutral steroids in normal stallion urine. *Biomedical Mass Spectrometry* 11, 96-99.

- Hunter R.H.F., Baker T.G., Cook B. (1982). Morphology, histology and steroid hormones of the gonads in intersex pigs. *Journal of Reproduction and Fertility* 64, 217-222.
- Hunter R.H.F., Greve T. (1996). Intersexuality in pigs: clinical, physiological and practical considerations. *Acta Veterinaria Scandinavica* 37, 1-12.
- Koch W. (1961). Intersexualität bei Säugetieren. In: Overzier C. (editor). *Die Intersexualität*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, p. 42-47.
- Ladds P.W. (1993). Congenital abnormalities of the genitalia of cattle, sheep, goats and pigs. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 9, 127-144.
- Lauwers H., De Wilde R., Simoens P. (1986). Hormonally induced alterations in the genital tract of young pigs. Part 1: Gilts and Boars. *Agri-practice* 7, 11-15.
- Le Bizec B., Gaudin I., Monteau F., Andre F., Impens S., De Wasch K., De Brabander H.F. (2000). Consequence of boar edible tissue consumption on urinary profiles of nandrolone metabolites. I. Mass spectrometric detection and quantification of 19-norandrosterone and 19-noretiocholanolone in human urine. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 14, 1-8.
- Maghuin-Rogister G., Bosseloire A., Gaspar P., Dasnois C., Pelzer G. (1988). Identification de la 19-nortestosterone (nandrolone) dans l'urine de verrats non castrés. *Annales de Médecine Vétérinaire* 132, 437-440.
- Meyer H.D., Falckenberg D., Janowski T., Rapp M., Rosel E., Van Look L., Karg H. (1992). Evidence for the presence of endogenous 19-nortestosterone in the cow peripartum en in the neonatal calf. *Acta Endocrinologica* 126, 369-373.
- Pailhoux E., Vigier B., Vaiman D., Schibler L., Vaiman A., Cribiu E., Nezer C., Georges M., Sundström J., Pelliniemi L.J., Fellous M., Cotinot C. (2001). Contribution of domestic animals to the identification of new genes involved in sex determination. *Journal of Experimental Zoology* 290, 700-708.
- Parma P., Pailhoux E., Cotinot C. (1999). Reverse Transcription-Polymerase Chain reaction analysis of genes involved in gonadal differentiation in pigs. *Biology of Reproduction* 61, 741-748.
- Pinton A., Pailhoux E., Piumi F., Rogel-Gaillard C., Darré R., Yerle M., Ducos A., Cotinot C. (2002). A case of intersexuality in pigs associated with a *de novo* paracentric inversion 9. *Animal Genetics* 33, 69-71.
- Rapp M., Meyer H.D.D. (1989). Determination of hormone contaminants in milk replacers by HPLC and immunoassay. *Journal of Chromatography* 489, 181-190.
- Rizzo A., Alitupa E., Berg S., Hirvi T. (1993). Confirmation of endogenous origin of 19-nortestosterone in boars by analysis of testis tissues. *Proceedings Euroresidue II, Veldhoven*, 581-85.
- Switonski M., Jackowiak H., Godynicki S., Klukowska J., Borsiak K., Urbaniak K. (2002). Familial occurrence of pig intersexes (38,XX; SRY-negative) on a commercial fattening farm. *Animal Reproduction Science* 69, 177-124.
- Tuinstra T., Kienhuis P., Van Mazijk R.G., Traag W. (1986). Determination of 19-nortestosterone and metabolites in urine in order to prove the administration to cattle. *Proceedings International Symposium of Veterinary Laboratory Diagnosticans, Amsterdam*, 765-767.
- Vaiman D., Koutita O., Oustry A., Elsen J.-M., Menfredi E., Fellous M., Cribiu E.P. (1996). Genetic mapping of the autosomal region involved in XX sex-reversal and horn development in goats. *Mammalian Genome* 7, 133-137.
- Vandenbroeck M., Van Vyncht G., Gaspar P., Dasnois C., Delahaut P., Pelzer G., De Graeve J., Maghuin-Rogister G. (1991). Identification and characterization of 19-nortestosterone in urine of meat-producing animals. *Journal of Chromatography* 564, 405-412.
- van Ginkel L.A., Stephany R.W., Zoontjes P.W., van Rossum H.J., van Blitterswijk H., Zuidendorp J. (1989). Het voorkomen van nortestosteron in eetbare delen van niet gecasteerde varkens. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 114, 311-314.