

Grass disease: huidige kennis van zaken

Grass disease: current understanding

P. Berckmans, A. Dufourni, G. van Loon

Vakgroep Interne Geneeskunde, Voortplanting en Populatiegeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, België

Pauline.Berckmans@ugent.be

SAMENVATTING

“Equine grass sickness” (EGS), “grass disease” of equine dysautonomie is een verworven degeneratieve polyneuropathie die voorkomt bij uitsluitend grazende paardachtigen, maar waarvan de etiologie tot op heden nog niet volledig achterhaald is. Grass disease is het gevolg van een neuronale degeneratie van het autonome, somatische en enterische zenuwstelsel en geeft vaak aanleiding tot acute, erge koliek met vaak sterfte tot gevolg. Enkel chronische gevallen hebben een kleine kans op klinisch herstel. De hoge mortaliteit van deze aandoening onderstreept de noodzaak van verder onderzoek in verband met de etiologie, pathogenese, ante-mortem diagnostiek, behandeling en vooral preventie van deze fatale ziekte. In dit artikel wordt een update gegeven van de stand van zaken anno 2024 omtrent grass disease.

ABSTRACT

Equine grass sickness (EGS), grass disease or equine dysautonomia is an acquired degenerative polyneuropathy that occurs in exclusively grazing equine species, but whose etiology is not fully understood yet. Grass disease results from neuronal degeneration of the autonomic, somatic and enteric nervous systems and gives rise to acute, severe colic often resulting in mortality. Only chronic cases have a small chance of clinical recovery. The high mortality of this condition underscores the need for further research related to the etiology, pathogenesis, ante-mortem diagnosis, treatment and especially prevention of this fatal disease. In this article, an update of the state of grass disease anno 2024 is provided.

INLEIDING

Equine grass sickness (EGS), grass disease of equine dysautonomie is een vaak fataal aflopende aandoening die voorkomt bij grazende paarden. De eerste rapporteringen van EGS dateren van het begin van de 20e eeuw. De eerste uitbraak van EGS bij paarden werd in Schotland in 1909 beschreven. De rapportering betrof een groep paarden op een legerbasis (McCarthy, 2001). In hetzelfde tijdperk werd melding gemaakt van verscheidene gevallen van EGS in Engeland, Wales en Ierland (McCarthy, 2001). Deze beschrijvingen betroffen grazende paarden die plots stierven en waarbij op lijkschouwing een impactie ter hoogte van het colon werd waargenomen. De aandoening werd en wordt nog steeds voornamelijk gezien

in Noord-Europa. Schotland en Engeland kennen de hoogste prevalentie van EGS in Europa. Per jaar sterft 1 tot 2% van de Engelse paardenpopulatie aan deze aandoening.

EPIDEMIOLOGIE

Voorkomen

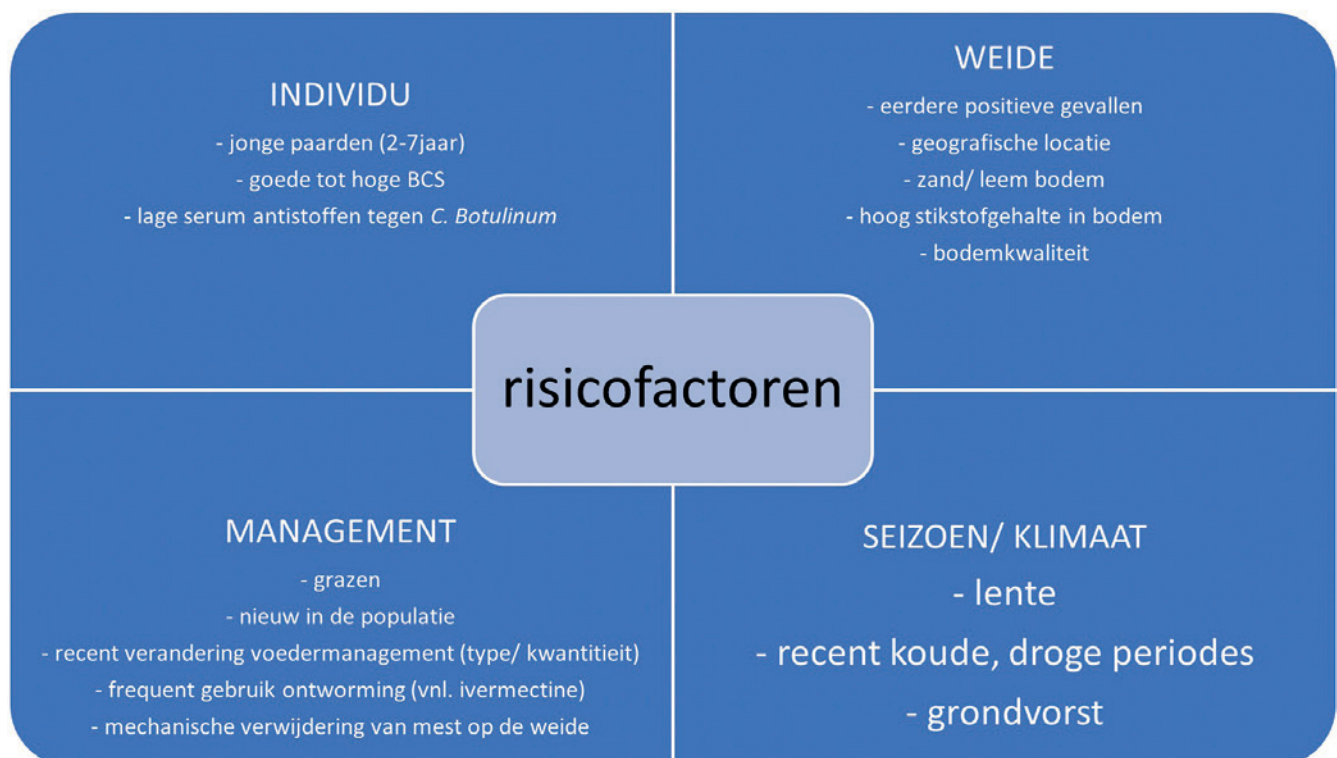
Equine grass sickness komt voornamelijk voor bij jong adulte paarden. De aandoening is sterk geassocieerd met grazen. De eerste gevallen werden beschreven in Engeland, Wales en Schotland. In Centraal-Europa werden de meeste gevallen gerapporteerd in Duitsland en België, maar ook in Denemarken,

Frankrijk, Nederland, Noorwegen en Zweden werden gevallen van EGS beschreven. Opvallend is een lage prevalentie van EGS in Ierland waar het eerste geval in 1941 beschreven werd. Wereldwijd werden er eveneens enkele gevallen beschreven in Australië en de Falklandeilanden (McCarthy, 2001). Tot op heden werd er nog geen rapportering gemaakt van gevallen in Spanje en Portugal. Een klinisch gelijkaardige aandoening met dezelfde histopathologische veranderingen wordt beschreven in Zuid-Amerika en 'mal secco' genoemd, wat 'droge ziekte' betekent. Er werden nog geen gevallen van EGS beschreven in Azië (Mair, 2012). Gezien de geografische verspreiding van de aandoening en de sterke relatie met grazen, wordt verondersteld dat het oorzakelijk agens gerelateerd is met het klimaat en/of bepaalde bodemelementen. Er werden reeds tal van epidemiologische onderzoeken uitgevoerd, maar tot op heden kon nog geen oorzakelijk agens gevonden worden. Door het nagaan van terugkerende elementen in deze studies, konden wel reeds enkele risicofactoren voor het ontwikkelen van de ziekte in kaart gebracht worden. Naast grazen konden ook jonge leeftijd, recente verandering naar een nieuwe weide, sterke populatiedichtheid en het voorjaarsseizoen als risicofactoren beschouwd worden. Ook kouder, droog weer en grondvorst zouden een groter risico inhouden (Aleman et al., 2018). Daarnaast wordt een aantal bodemafhankelijke risicofactoren beschreven. In een studie die werd uitgevoerd in Schotland werd aangetoond dat er significant hogere gehalten aan ijzer en zware metalen aangetroffen worden in gewassen die groeien op weides waar paarden

EGS ontwikkelden (Edwards et al., 2010). Wat de bodem betreft, worden ook leemachtige en zanderige bodems geassocieerd met een toenemend voorkomen van de ziekte. Een hoge concentratie aan stikstof in de bodem en een hoog titanium/ laag zinkgehalte en een hoog titanium/ laag chroomgehalte werden vastgesteld op weides waar zich gevallen van EGS hebben voorgedaan (Aleman et al., 2018). In Figuur 1 wordt een overzicht gegeven van de reeds gekende associatieve risicofactoren. Het vaststellen van deze factoren is uitermate belangrijk in het herkennen van de aandoening.

Clostridium botulinum

Verskillende hypothesen omtrent de etiologie van EGS werden in het verleden aangehaald en worden nog steeds verder onderzocht. Er werd reeds meermaals beschreven dat er een mogelijke associatie zou bestaan tussen EGS en *Clostridium botulinum*. In 1919 werd voor de eerste maal *C. botulinum* aangehaald als mogelijke agens voor het ontwikkelen van EGS nadat deze sporenvormende bacterie werd geïsoleerd uit het gastro-intestinale stelsel van een paard met deze aandoening (Hunter et al., 1999). Ook werd er uit de melk van enkele paarden met EGS *C. botulinum* geïsoleerd, waardoor deze hypothese aan waarschijnlijkheid won (Hunter et al., 1999). In de studie van Hunter (1999) werden hoge gehalten *C. botulinum*-toxines ter hoogte van het ileum gevonden tijdens post-mortem onderzoek bij paarden met EGS. Ook ante mortem werden hoge gehalten van dergelijke toxines aangetroffen in



Figuur 1. Associatieve risicofactoren.

feces van zieke paarden. In 2004 werd er een studie uitgevoerd door McCarthy et al. om een associatie aan te tonen tussen de antistoflevels tegen *C. botulinum* en het voorkomen van EGS. Uit deze studie bleek dat een laag gehalte aan dergelijke antistoffen een risicofactor is voor het ontwikkelen van EGS. Er wordt gespeculeerd dat dit te wijten is aan de geringe protectie tegen *C. botulinum* bij lage antistofgehalten en dat bijgevolg onder bepaalde omstandigheden deze bacterie de kans heeft om type C toxines te produceren. Deze toxines kunnen bijdragen tot de ganglionopathie die zich voordoet ter hoogte van het autonome zenuwstelsel bij paarden met EGS (McCarthy et al., 2004). Naar aanleiding van deze studie werd er in de UK een grootschalige vaccinatietrial opgestart. Deze studie had als doel om na te gaan of een vaccinatie met geïnactiveerd *C. botulinum* type C-toxine een beschermend effect zou hebben ten opzichte van de klinische presentatie van EGS. De nationale vaccinatietrial werd in de UK echter gelimiteerd door een te laag aantal klinische gevallen van EGS in de studiepopulatie, waardoor er geen conclusies met betrekking tot het vaccin gemaakt konden worden (Halliwell en Carslake, 2022). Reeds in 1920 werd een gelijkaardige vaccinatiestudie uitgevoerd met geneutraliseerde *C. botulinum*-toxines, waarbij een significante daling van het voorkomen van EGS ten opzichte van een controlepopulatie werd aangetoond (Tocher, 1924).

De acute vorm van EGS vertoont veel gelijkenissen met klinische gevallen van *C. botulinum*-infecties. Verschillende neuromusculaire symptomen die typisch worden waargenomen bij botulisme, worden echter niet waargenomen bij paarden met EGS. Dit zou te wijten zijn aan het feit dat botulisme voornamelijk door reeds gevormd toxine veroorzaakt wordt. In geval van EGS wordt eerder vermoed dat de toxines in vivo in het gastro-intestinale stelsel worden geproduceerd door intestinale kolonisatie van *C. botulinum* (Hunter et al., 1999). Deze kolonisatie zou getriggert kunnen worden door bepaalde voederaanpassingen, zoals het veranderen van weide. Op pathologisch vlak is er ook een verschil tussen EGS en botulisme, aangezien er bij deze laatste geen typische histopathologische veranderingen worden waargenomen die wel aanwezig zijn bij EGS. Dit gaat onder meer over de neurodegeneratie van autonome en enterische zenuwen (Pirie en McGorum, 2018). De hypothese omtrent een mogelijke associatie tussen een *C. botulinum*-infectie en EGS dient nog verder onderzocht te worden.

Mycotoxines en microbiom

Naast de hypothese over een associatie met *C. botulinum*, werd reeds in de jaren negentig van de vorige eeuw de hypothese omtrent een mogelijke associatie met weide-afhankelijke mycotoxines aangehaald. Deze hypothese wordt ondersteund door het seizoensgebonden karakter van de aandoening en door de as-

sociatie met bepaalde geografische zones en klimaatomstandigheden. Deze route werd echter nog niet verder onderzocht door de beperkt beschikbare analysemethoden. De interesse voor deze denkpiste is tegenwoordig terug aangewakkerd (Pirie en McGorum, 2018). Recent wordt er heel wat onderzoek verricht naar het micro- en mycobioom van het gastro-intestinale stelsel bij het paard. McGorum (2021) onderzocht de verschillen in mycobioom van gezonde paarden en van paarden met EGS. In de mycobiota van paarden met EGS komen verschillende phylotypes voor die geïdentificeerd worden als extremofiel met de capaciteit om cytotoxische en/of neurotoxische extrolieten te produceren (McGorum et al., 2021). Er dient echter nog verder onderzoek verricht te worden om aan te tonen of deze neurotoxische extrolieten een rol spelen in de etiologie van EGS. Daarnaast rijst de vraag of er effectief een causaal verband bestaat tussen bepaalde phylotypes en het ontstaan van EGS of dat de verandering in het mycobioom eerder een gevolg is van deze aandoening.

Ook het microbiom van paarden met EGS werd onderzocht (Leng et al., 2018). Er werd aangetoond dat paarden met EGS een uitgesproken dysbiose vertonen met een relatieve toename van het phylum *Bacteroidetes*. Bacteriën van de stam *Firmicutes* nemen in relatieve frequentie af in geval van EGS. Vergelijkbare veranderingen worden ook waargenomen in de microbiota van paarden met colitis. De studie van Leng et al. (2018) naar het microbiom van paarden met EGS werd uitgevoerd in het kader van een onderzoek naar mogelijke metabole biomarkers voor de diagnostiek van deze aandoening. Tijdens de analyses van deze studie werd een lagere concentratie van bacteriën van de clostridiumfamilie aangetoond in het microbiom van paarden met EGS. Bijgevolg kan deze studie geen bewijs leveren voor de betrokkenheid van *C. botulinum* in de ontwikkeling van EGS. In een onderzoek van Garrett et al. (2002) naar het microbiom van paarden met EGS werd echter aangetoond dat er wel degelijk een relatieve toename is van *Clostridia*-species die meer uitgesproken lijkt bij chronische gevallen. Het blijft echter onduidelijk of het relatief voorkomen van bepaalde *Clostridia*-species de oorzaak of eerder een gevolg is van EGS (Garrett et al., 2002).

KLINISCHE PRESENTATIE

Equine grass sickness is een verworven degeneratieve polyneuropathie met voornamelijk een effect op het autonome en enterische zenuwstelsel en kan onderverdeeld worden naargelang de ernst van zenuwdegeneratie in een acute, subacute en chronische vorm (McGorum en Pirie, 2018).

Door de degeneratie van de zenuwen is er een verminderde motiliteit van het gastro-intestinale stelsel en ontstaat er ileus. Door deze afname van motiliteit

kunnen de gastro-intestinale vloeistoffen minder naar caudaal doorschuiven. Zo ontstaat er ter hoogte van de dunne darmen een opstapeling van vocht. Dit kan leiden tot het ontwikkelen van reflux, waarbij er zelfs spontane reflux kan optreden. Indien de afname van motiliteit zich voornamelijk ter hoogte van het colon afspeelt, zal dit ervoor zorgen dat er zeer veel vocht onttrokken wordt aan de darminhoud, met een impac-tie van het colon tot gevolg. Deze manifestaties zullen ervoor zorgen dat de paarden kolieksymptomen vertonen. Overige belangrijke symptomen die gezien worden bij iedere vorm van EGS zijn tachycardie en dysfagie.

Acute vorm

De symptomen die worden waargenomen zijn het gevolg van acute gastro-intestinale ileus. Bij de acute vorm worden er bijgevolg ernstige kolieksymptomen, grote hoeveelheden reflux en tachycardie met frequenties tot 100 en zelfs tot 120 slagen per minuut vastgesteld. Deze parameter kan een belangrijk punt zijn in het opstellen van een differentiaaldiagnose. Via een elektrocardiogram kan vastgesteld worden dat het om een sinustachycardie gaat. Zoals eerder gezegd kan de reflux veroorzaakt worden door afname van de motiliteit en bijgevolg ileus van de dunne darmen. Er wordt echter vastgesteld dat sommige gevallen van acute grass disease eerst een episode met spastische activiteit van de dunne darmen en/of slokdarm door-maken, waarbij er slechts later paralyse optreedt.

Subacute vorm

Ook bij de subacute vorm worden er kolieksymp-tomen waargenomen, maar vaak zijn deze minder uitgesproken dan bij de acute vorm. Het ziekteverloop is trager dan bij de acute vorm en duurt een drie tot zevental dagen (Aleman et al., 2018). Deze paarden vertonen net zoals bij de acute gevallen duidelijk tachycardie, al is de frequentie eerder tussen de 60 tot 80 slagen per minuut. Bij de subacute gevallen wordt er geen reflux vastgesteld. Er treedt echter wel vertraagde motiliteit ter hoogte van het colon en het ce-cum op, met een mogelijke impac-tie als gevolg.

Chronische vorm

Het ziekteverloop van de chronische vorm kan weken tot maanden duren. Cachexie en de typerende opgetrokken buik zijn de meest uitgesproken kenmerken van chronische gevallen (Aleman et al., 2018) (Figuur 2). De chronische vorm vertoont over het algemeen subtielere symptomen, zoals verminderde eetlust, gewichtsverlies, rhinitis sicca en matige tachycardie (Laus et al., 2021). Rhinitis sicca wordt enkel gezien bij chronische gevallen omdat deze tijd nodig heeft om zich te ontwikkelen. Er wordt vermoed dat dit tot stand komt door uitdroging van de

neusmucosae wegens aantasting van het autonome zenuwstelsel. Ook de typerende opgetrokken buik en ptosis kunnen bij deze gevallen waargenomen worden. Typisch hierbij is dat de ptosis bilateraal voorkomt door aantasting van het autonome zenuwstelsel; dit in tegenstelling tot de meeste andere aandoeningen, waarbij zich het hornersyndroom voordoet en de ptosis unilateraal is. Een ander klinische presentatie van een chronisch geval van EGS is het overmatig speeksel. Dit kenmerk wordt regelmatig aangetroffen bij allerlei aandoeningen die faryngale dysfagie veroorzaken, zoals botulisme. Echter, bij EGS ziet men eerder een pooling van speeksel ter hoogte van de mond door een overmatige productie, in tegenstelling tot een verminderde afvoer van speeksel die gezien wordt bij faryngale dysfagie. Dit verschijnsel is ook bekend bij humane infantiele dysautonomie. Spiertremoren kunnen worden waargenomen bij aangetaste dieren. Opvallend hierbij is dat deze ook kunnen waargenomen worden bij het liggende paard. Dit laatste is niet het geval bij spiertremoren bij andere aandoeningen, waar deze meestal louter veroorzaakt worden door vermoeidheid van de spiervezels. Dit is bijvoorbeeld het geval bij “equine motor neuron disease” (EMND). In Tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de klinische symptomen die zich voordoen bij de verschillende vormen van EGS.

PATHOLOGISCHE BEVINDINGEN

Bij de autopsie van een paard met EGS worden voornamelijk bevindingen gezien die overeenkomen



Figuur 2. Een ‘opgetrokken buik’ is een typische klinische presentatie van een paard met de chronische vorm van grass disease. Vaak gaat het gepaard met spiertremoren. Paarden met “equine motor neuron disease” kunnen er gelijkaardig uitzien en ook spiertremoren vertonen. Bij deze laatste is er echter een normale eetlust terwijl dit niet het geval is bij een paard met grass disease.

Tabel 1. Klinische tekenen van EGS.

Klinisch teken	Acute vorm	Subacute vorm	Chronische vorm
Suf	✓	✓	✓
Tachycardie	100-120/ min	60-80/ min	40-60/ min
Dysfagie	✓	✓	✓
Speekselen	✓	✓	✓
Reflux	✓	-	-
Bilaterale ptosis	✓	✓	✓
Droge mest	-	✓	✓
Zwarte mest	-	✓	✓
Mucus op mest	-	✓	✓
Algemeen zweten	✓	-	-
Lokaal zweten	-	✓	✓
Opgetrokken buik	-	✓	✓
Anorexie	-	✓	✓
Penisprolaps	-	-	✓
Rhinitis sicca	-	✓	✓
Spiertremoren	✓	✓	✓

met de dysfunctie van het gastro-intestinale stelsel. In acute gevallen wordt een grote, vloeistofge vulde maag aangetroffen en opgezette dunne darmen die veroorzaakt worden door ileus. Andere bevindingen bij acute gevallen zijn splenomegalie en erosies van het slokdarmepitheel. Bij de subacute gevallen zijn de bevindingen minder uitgesproken. Hierbij wordt voornamelijk een impactie van het colon vastgesteld. Indien het gaat om een chronisch geval, kan er eventueel bijkomend rhinitis sicca worden opgemerkt (Aleman et al., 2018).

HISTOPATHOLOGISCHE BEVINDINGEN

Histologisch onderzoek van aangetaste autonome ganglia en enterische zenuwen van een paard met EGS toont enkele typische kenmerken, waaronder chromatolysis, het verlies van Nissl-substantie en vacuolisatie van het cytoplasma. Deze bevindingen zijn kenmerkend voor neuronale degeneratie (Aleman et al., 2018). Een correcte biopsname en bijhorend histopathologisch onderzoek zijn essentieel voor de definitieve diagnose van EGS.

DIAGNOSTIEK

De gouden standaard om de diagnose van EGS te stellen is nog steeds staalname van autonome ganglia en het ileum. Deze stalen kunnen het best post mortem bekomen worden. Andere technieken worden onderzocht om een snelle, effectieve ante-mortem diagnose te kunnen stellen.

Post mortem

Post mortem kan er histopathologisch onderzoek uitgevoerd worden van enterische en autonome gan-

glia, waarbij deze stalen makkelijker bekomen worden dan bij het levende paard. Naast de eerder beschreven histologische onderzoeken van de biopsen, kan er ook een cytologisch uitstrijkje genomen worden van de craniale cervicale ganglia. Van dit uitstrijkje kunnen drie kleuringen (May-Grünwald Giemsa, HE en cresyl fast violet) worden uitgevoerd. Wanneer de resultaten van deze drie kleuringen samengelegd worden, bekomt men een specificiteit en sensitiviteit van 100% voor de diagnose van EGS. Daarom wordt deze techniek beschouwd als een goede tool om een snelle post-mortem diagnose te stellen (Piccinelli, 2018). De post-mortem bevestiging van de aandoening is enerzijds van belang voor het toekomstig gebruik van de weide waar het paard stond en anderzijds voor andere paarden die mogelijk aan het grazen waren op dezelfde weide. Indien de diagnose post mortem bevestigd wordt, kan deze weide worden aanschouwd als een risicoweide en kunnen er maatregelen genomen worden voor de aanwezige paarden.

Ante mortem

Aangezien er tot op heden nog geen niet-invasieve test voor handen is om EGS te diagnosticeren bij het levende paard, berust het stellen van een vermoedelijke diagnose op een uitgebreide anamnese, epidemiologische informatie, de aard en de progressie van de klinische symptomen en het uitsluiten van mogelijke differentiaaldiagnosen (Aleman et al., 2018). Het uitsluiten van mogelijke andere diagnosen kan aan de hand van aanvullende onderzoeken, zoals abdominale echografie, rectaal onderzoek, maagsondage en abdominocentesis. Randleff-Rasmussen et al. (2018) stelden een scoresysteem op dat gebaseerd is op epidemiologische informatie en klinische bevindingen. Aan de hand van dit scoresysteem kan een waarschijnlijkheidsdiagnose voor EGS gesteld worden. Er worden punten gegeven per aanwezige factor bij



Figuur 3. Positieve fenylefrinetest, waarbij 0,5% fenylefrine werd toegediend in het linkeroog. Na dertig minuten ziet men dat de wimpers meer naar boven zijn gericht en dat de ptosis is opgeheven. De lijnen geven de richting van de wimpers aan. De witte lijn geeft de stand van de wimpers aan na toediening van fenylefrine. Deze is horizontaler dan de zwarte lijn, die de stand aanduidt van het oog zonder fenylefrinetoediening en waar de ptosis nog aanwezig is.

het getroffen paard. De epidemiologische variabelen worden als volgt gewogen: 3 voor toegang tot weide, 3 voor de omstandigheden van de weidegrond, 2 voor het seizoen en 1 voor de leeftijd van het paard. Hierbij heeft 3 de belangrijkste klinische relevantie en 1 is van minder groot belang. De belangrijkste klinische symptomen worden gewogen met 2. Deze symptomen zijn spiertremoren, dysfagie, transpiratie en rectale palpatiebevindingen. De minder belangrijke klinische symptomen (tachycardie, depressie en ptosis) krijgen een waarde van 1. Indien de totaalscore van het paard uitkomt op 8 of meer, is het zeer waarschijnlijk dat het paard EGS heeft (Randleff-Rasmussen et al., 2018). Dit scoresysteem kan een hulpmiddel zijn maar heeft slechts een specificiteit van 53% voor de diagnosestelling.

In het geval dat er een paard met een vermoeden van EGS wordt aangeboden, zijn er heel wat differentiaaldiagnosen die dienen uitgesloten te worden. Paarden met acute EGS vertonen namelijk gelijkaardige symptomen en bevindingen als paarden met andere soorten van ernstige koliek die mogelijk chirurgie vereisen. Zo vertoont een paard met strangulatie van de dunne darmen ook mogelijk tachycardie en reflux. Bij dergelijke gevallen kunnen er ook opgezette dunne darmen worden waargenomen op rectaal onderzoek en abdominale echografie, wat de differentiaaldiagnose bemoeilijkt. Tachycardie komt bij verschillende soorten koliek voor. Deze gaat echter vaak gepaard met tekenen van (endo)toxemie. Bij paarden met EGS kan tachycardie worden waargenomen, waarbij de mucosae een normale kleur en vochtigheid hebben en waarbij de capillaire vullingstijd normaal is. Dit zijn

subtiel verschillen die kunnen helpen bij de differentiatie tussen EGS en andere aandoeningen. Indien het paard ptosis vertoont, kan dit ook als diagnostisch tool gebruikt worden. Zo kan er een fenylefrinetest uitgevoerd worden, waarbij een 0,5% oplossing fenylefrine in één oog wordt toegediend (Hahn en Mayhew, 2000). Bij een paard met EGS staat het ooglid van het oog waarin de druppels werden toegediend na dertig minuten meer open en is de stand van de wimpers meer horizontaal (Figuur 3). De ptosis wordt als het ware opgeheven. Hiermee wordt dus een paralyse door beschadiging van autonome neuronen aangetoond. Sedatie heeft invloed op het effect van de fenylefrine en dient bijgevolg vermeden te worden bij het uitvoeren van de test (Wylie en Proudman, 2009).

Bovenstaande technieken zijn niet-invasieve manieren om de waarschijnlijkheidsdiagnose van EGS te stellen. Bij het levende paard kunnen er stalen genomen worden van het ileum, rectum of de tong om de diagnose te bevestigen. Nieuwe technieken worden onderzocht om op een niet-invasieve manier de diagnose definitief te kunnen stellen bij het levende paard.

Ileum

Onderzoek van ileale bipten die genomen worden tijdens laparotomie, is tot op heden de beste antemortem diagnostische techniek om EGS vast te stellen. Een formaline-gefixeerd biopt van 1 cm lengte is voldoende om de diagnose te stellen. Het histologisch prepareren en aflezen van dergelijke bipten neemt echter enkele dagen in beslag. Er werd een techniek ontwikkeld, waarbij het biopt intraoperatief kan beoordeeld worden en waardoor bijgevolg de beslissing om te euthanaseren nog tijdens de operatie kan genomen worden. Het histopathologisch onderzoek gebeurt dan aan de hand van een cryo-statsectie. Deze techniek heeft een sensitiviteit van 100% maar een specificiteit van slechts 73%, wat zou inhouden dat 27% van de gevallen verkeerd gediagnosticeerd wordt. Dit heeft als gevolg dat door het gebruik van deze techniek heel wat paarden onnodig geëuthanaseerd zouden worden (Milne et al., 2010).

Rectum

Een minder invasieve staalname die bij het rechtstaande paard kan gebeuren, is het nemen van een rectumbiopt. Ook bij deze bipten kan een histopathologisch onderzoek uitgevoerd worden, waarbij via HE-kleuring gezocht wordt naar chromatolytische neuronen. De bioptname kan vlot uitgevoerd worden maar de sensitiviteit van het onderzoek is eerder aan de lage kant (71%). De specificiteit bedraagt 100%. Om een meer accurate diagnostisering te bekomen via een rectumbiopt, werd onderzoek gedaan naar een techniek, waarbij immunolabelling voor bèta-amyloid precursor-proteïnen uitgevoerd wordt. Aan de hand daarvan werd een systeem ontwikkeld waarbij de intensiteit en verdeling van de immunoreactiviteit van

dergelijke proteïnen worden gegradeerd. Deze histologische techniek is gevoeliger dan de conventionele HE-kleuring van rectumbiopsies om EGS te diagnosticeren. Er dient echter nog verdere validatie van het systeem te gebeuren alvorens het te kunnen gebruiken voor een besluitvorming over de diagnose (Jago et al., 2018).

Tong

Naast biopsies van het ileum kunnen ook histopathologische stalen genomen worden van de smaakpapillen ter hoogte van de tong om EGS te diagnosticeren. Hierbij worden de neuronen van de subgemmale plexus onderzocht. Net zoals bij de neuronen van het ileum, treedt er centrale chromatolysis op (McGorum et al., 2015). Deze biopsie is echter niet gemakkelijk uit te voeren bij het staande paard. Om de stalen te bekomen, kan er een transbuccale incisie gemaakt worden om vervolgens met behulp van trocardinstrumenten biopsies te nemen (Quéré et al., 2023). Deze ingreep is relatief invasief en nadien kunnen de paarden hinder ondervinden bij het eten. De meeste paarden die worden aangeboden voor een dergelijke biopsie zijn reeds anorectisch of vertonen dysfaagie. Bijgevolg kan de verminderde eetlust na de biopsie de klinische toestand van het paard verergeren.

Urine

Naast de studies naar minder invasieve manieren van biopsie, wordt er gezocht naar biomarkers die kunnen gebruikt worden om de diagnose van EGS te stellen. Zo werd er aangetoond dat urine van paarden met EGS een laag gehalte aan hippuraat en 4-cresylsulfaat bevat en een hoog gehalte aan O-acetylcarnitine en trimethylamine-N-oxide (Leng et al., 2018). De resultaten van deze onderzoeken zijn veel belovend voor de toekomst, maar dergelijke tests zijn nog niet commercieel verkrijgbaar.

PROGNOSE, BEHANDELING EN PREVENTIE

De keuze van de behandeling hangt sterk af van het stadium waarin de ziekte zich bevindt. Indien het gaat om acute en subacute gevallen, is de prognose zodanig gering dat er het best gekozen wordt voor euthanasie. Bij dergelijke gevallen wordt namelijk 100% sterfte waargenomen omdat er geen effectieve behandeling is. De chronische gevallen kennen echter een overlevingspercentage van ongeveer 40-50% op lange termijn mits intensieve zorg. Het is dus zeer belangrijk om op voorhand een goede inschatting te maken tot welk stadium het geval behoort (McGorum en Pirie, 2018). Indien een waarschijnlijkheidsdiagnose van EGS gesteld wordt, kan men opteren om ondersteunend te behandelen of het paard te laten inslapen. Een andere optie is om over te gaan tot exploratieve

laparotomie. Tijdens deze ingreep kunnen enerzijds differentiaaldiagnosen (zoals strangulatie van de dunne darmen) uitgesloten worden en anderzijds kan er gedurende de procedure een biopsie genomen worden van het ileum om de diagnose te bevestigen. Het duurt echter te lang om de histopathologische diagnose te stellen tijdens de operatie en eventueel wordt het paard alsnog geëuthanaseerd na de operatie wanneer de resultaten van het histopathologisch onderzoek bekend zijn.

Indien gekozen wordt om aan de hand van de klinische diagnose een behandeling op te starten, dan is dit een ondersteunende behandeling (het aanbieden van energierijke, makkelijk verteerbare voeding, infuus, analgesie). Er werd aangetoond dat het verlies van lichaamsgewicht een prognostisch kenmerk is, waarbij paarden die sneller gewicht verliezen, een geringere kans op overleven hebben (Jago et al., 2016).

BESLUIT

Equine grass disease is een zeer ernstige aandoening die zich in drie vormen kan manifesteren. De etiologie is nog onbekend, al zijn er reeds verschillende risicofactoren bekend die een associatief karakter vertonen met de aandoening. Er is nog meer onderzoek vereist zowel naar de etiologie van de aandoening als naar ante-mortem diagnostiechnieken.

REFERENTIES

- Aleman M., Nout-Lomans Y. S., Reed S. M. (2018). Disorders of the neurologic system. In: Reed S. M., Bayly W.M., Sellon D.C. (editors). *Equine Internal Medicine*. Fourth edition, Elsevier, Missouri, p.580 - p.708.
- Edwards E.S., Martz K.E., Rogge A., Heinrich M. (2010). Edaphic and phytochemical factors as predictors of equine grass sickness cases in UK. *Frontiers in Pharmacology* 1, 122.
- Galey F. D. (2001). Botulism in the horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 17, 579-588.
- Garett L., Brown R., Paxton I.R. (2002). A comparative study of the intestinal microbiota of healthy horses and those suffering from equine grass sickness. *Veterinary Microbiology* 87, 81-88.
- Hahn C. N., Mayhew I. G. (2000). Phenylephrine eyedrops as a diagnostic test in equine grass sickness. *Veterinary Record* 147, 603-606.
- Halliwell L., Carslake H. (2022). Clinical update on equine grass sickness. *In Practice* 44, 476-482.
- Hunter L.C., Miller J.K., Poxton I.R. (1999). The association of Clostridium botulinum type C with equine grass sickness: a toxicoinfection? *Equine Veterinary Journal* 31, 492-499.
- Jago R.C., Handel I., Hahn C.N., Pirie R.S., Keen J.A., Waggett B.E., McGorum B.C. (2016). Bodyweight change aids prediction of survival in chronic equine grass sickness. *Equine Veterinary Journal* 48, 792-797.
- Jago R.C., Scholes S., Mair T.S., Pearson G.R., Pirie R.S., Handel I., Milne E.M., Coyle F., McGorum B.C. (2018).

- Histological assessment of beta-amyloid precursor protein immunolabelled rectal biopsies aids diagnosis of equine grass sickness. *Equine Veterinary Journal* 50, 22-28.
- Laus F., Corsalini J., Mandara M. T., Bazzano M., Bertolotti A., Gialletti R. (2021). Equine grass sickness in Italy: a case series study. *BMC Veterinary Research* 17, 264.
- Leng J., Proudman C., Darby A., Blow F., Townsend N., Miller A., Swann J. (2018). Exploration of the fecal microbiota and biomarker discovery in equine grass sickness. *Journal of Proteome research* 17, 1120-1128.
- Mair T. (2012). Grass sickness. In: Wilson D.A. (editor). *Clinical Veterinary Advisor: The Horse*. Elsevier, Missouri, p. 232-234.
- McCarthy H.E., French N.P., Edwards G.B., Poxton I. R., Kelly D.F., Payne-Johnson C. E., Miller K., Proudman C.J. (2004). Equine grass sickness is associated with low antibody levels to Clostridium botulinum: a matched case-control study. *Equine Veterinary Journal* 36, 123-129.
- McCarthy H.E., Proudman C.J., French N.P. (2001). Epidemiology of equine grass sickness: a literature review (1909-1999). *Veterinary Record* 149, 293-300.
- McGorum B., Pirie S., Shaw D., MacIntyre N., Cox A. (2015). Neuronal chromatolysis in the subgemmal plexus of gustatory papillae in horses with grass sickness. *Equine Veterinary Journal* 48, 773-778.
- McGorum B., Pirie S. (2018). Equine dysautonomia. *Veterinary Clinics of North America: Equine practice* 34, 113-125.
- McGorum B., Chen Z., Glendinning L., Gweon H.S., Hunt L., Ivens A., Keen J.A., Pirie S., Taylor J., Wilkinson T., McLachlan G. (2021). Equine grass sickness (a multiple systems neuropathy) is associated with alternations in the gastrointestinal mycobiome. *Animal Microbiome* 3, 70.
- Milne E.M., Pirie S.R., McGorum B.C., Shaw D.J. (2010). Evaluation of formalin-fixed ileum as the optimum method to diagnose equine dysautonomia (grass sickness) in simulated intestinal biopsies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 22, 248-252.
- Piccinelli C., Jago R., Milne E. (2018). Ganglion cytology: a novel rapid method for the diagnosis of equine dysautonomia. *Veterinary Pathology* 56, 244-247.
- Pirie S., McGorum B. (2018). Equine grass sickness: an update. *UK- Vet Equine* 2, 5-27.
- Quéré E., Volmer C., Mespoullhès-Rivière C. (2023). Standing gustatory papillae biopsy procedure for antemortem diagnosis of equine grass sickness. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 262, 201-208.
- Randleff-Rasmussen P.K., Leblond A., Cappelle J., Bontemps J., Belluco S., Popoff M.R., Marcillaud-Pitel C., Tapprest J., Tritz P., Desjardins I. (2018). Development of a clinical prediction score for detection of suspected cases of equine grass sickness (dysautonomia) in France. *Veterinary Research Communications* 42, 19-27.
- Tocher J.F. (1924). Grass sickness in horses. *Transactions of the Royal Highland Agricultural Society* 36, 65-83.
- Wylie C.E., Proudman C. J. (2009). Equine Grass Sickness: epidemiology, diagnosis, and global distribution. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 25, 381-399.
- Wylie C.E., Shaw D.J., Fordyce F.M., Lilly A., Pirie R.S., McGorum B.C. (2015). Equine grass sickness in Scotland: a case-control study of environmental geochemical risk factors. *Equine Veterinary Journal* 48, 779-785.



© 2024 by the authors. Licensee Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, Ghent University, Belgium. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Oproep

Gevallen uit de praktijk in het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

Omdat het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift in de eerste plaats een tijdschrift van en voor dierenartsen is, wil de redactieraad een oproep doen om bijzondere gevallen die u in uw praktijk ziet, kenbaar te maken in de vorm van een artikel dat in het tijdschrift na beoordeling gepubliceerd kan worden.

Geïnteresseerden worden voor de opmaak van hun case-report aangeraden de richtlijnen voor auteurs te volgen: <https://openjournals.ugent.be/vdt/site/guidelines/> of kunnen terecht bij nadia.eeckhout@ugent.be

Als voorbeeld kunnen reeds eerder in het VDT gepubliceerde casuïstieken dienen.