

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

 **FACULTEIT
DIERGENEESKUNDE**
accredited by EAEPV

SEPTEMBER-OKTOBER 2019
VOL. 88 - NR. 5

VERSCHIJNT TWEEMAANDELIJKS
PUBLISHED BIMONTHLY
ISSN 0303 9021
WWW.VDT.UGENT.BE
GENT X

Afgiftekantoor 9099 Gent X
v.u. Luc Peelman
Salisburylaan 133 - B-9820 Merelbeke


UNIVERSITEIT
GENT



- Digitale dermatitis bij rundvee
- “Remodelling” en “reverse remodelling” van atriumfibrillatie bij paarden
 - Mediastinitis geassocieerde anemie bij een Arabo-Fries paard
 - “Boid inclusion body disease”
 - Het aanspannen van trekdieren

X-Ray VERACHTERT Digital nv

Medische beeldvorming sinds 1979

AGFA 
HealthCare

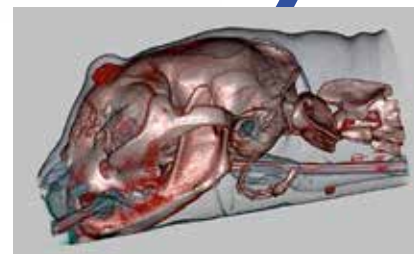
MUSICA



new



ANIMAGE
ConeBeam CT
Fluoro & DR



X-Ray Verachttert Digital nv
Bisschoppenhoflaan 662
2100 Deurne - Belgium

phone : +32 (0)3 239 05 79
fax : +32 (0)3 218 50 61

mail : info@xrayverachttert.be
web : www.xrayverachttert.be

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

2019, vol. 88, nr. 5

INHOUD

Thema: digitale dermatitis bij rundvee

- 247 A. VERMEERSCH, G. OPSOMER
Digitale dermatitis bij rundvee - Deel I: factoren die bijdragen tot de ontwikkeling van digitale dermatitis
- 259 A. VERMEERSCH, G. OPSOMER
Digitale dermatitis bij rundvee - Deel II: behandeling, preventie en de relatie met andere treponemale ziekten

Theme: digital dermatitis in cattle

- A. VERMEERSCH, G. OPSOMER
Digital dermatitis in cattle - Part I: factors contributing to the development of digital dermatitis
- A. VERMEERSCH, G. OPSOMER
Digital dermatitis in cattle: - Part II: treatment, prevention and link with other treponemal diseases

Origineel artikel

- 269 D. DE CLERCQ, A. DECLOEDT, R. TAVERNIER, P. DEPREZ, G. VAN LOON
Atriale en ventriculaire elektrische en contractiele “remodelling” en “reverse remodelling” van chronisch “pacing”-geïnduceerde atriale fibrillatie bij paarden: eerste resultaten

Original article

- D. DE CLERCQ, A. DECLOEDT, R. TAVERNIER, P. DEPREZ, G. VAN LOON
Atrial and ventricular electrical and contractile remodelling and reverse remodelling due to chronic pacing-induced atrial fibrillation in horses: preliminary results

Casuïstiek

- 278 C. RIBONNET, V. SAEY, R. DUCATELLE, K. PALMERS
Immuungemedieerde hemolytische anemie geassocieerd met chronisch fibroserende mediastinitis bij een Arabo-Fries paard

Case report

- C. RIBONNET, V. SAEY, R. DUCATELLE, K. PALMERS
Immune-mediated hemolytic anemia associated with chronic fibrosing mediastinitis in an Arabo-Friesian horse

Permanente vorming

- 287 T. HELLEBUYCK, J. SIMARD
“Boid inclusion body disease”: het enigma ontrafeld?

Continuing education

- T. HELLEBUYCK, J. SIMARD
Boid inclusion body disease: the enigma unraveled?

Uit het verleden

- 295 J. DE SMET
Het aanspannen van trekdiere: een beknopt overzicht

Voor de praktijk - Oproep

- 303 E. KOWALSKI, M. ALUWÉ, E. VOSSEN, S. MILLET, S. DE SMET, E. BEECKMAN
Effect van de eindbeerlijn op groeiprestaties, karkas- en vlees-kwaliteit

Vraag en antwoord

- 305 Infectieuze risico's van voeding op basis van rauw vlees

Uit de faculteit

- 257, 267
286, 308

Uit het verleden

Coverfoto: Tom Hellebuyck

Deze **netpython** (*Malayopython reticulatus*) vertoont een afwezige omkeerreflex. “Boid inclusion body disease” (BIBD) vormt een belangrijk onderdeel van de differentiaaldiagnose voor dit symptoom. BIBD wordt geassocieerd met de aanwezigheid van typische intracytoplasmatische inclusies in epitheliale cellen van viscerale organen, neuronen en gliacellen van het centrale zenuwstelsel en perifere bloedcellen. Vrij recent werd bovendien aangetoond dat arenavirussen de etiologische agentia zijn voor deze aandoening die bijna uitsluitend vastgesteld wordt bij boa's en pythons. Terwijl het opsporen van BIBD-inclusies in bloeduitstrijkjes en het detecteren van arenavirus RNA via PCR bij boa constrictors een erg betrouwbare methode vormt om de infectie aan te tonen, is het ante-mortem bevestigen van BIBD-infectie bij pythons uitdagend. Meestal is de virale infectie immers beperkt tot het centrale zenuwstelsel en worden geen inclusies aangetroffen.

Tekst: Tom Hellebuyck

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

ISSN 0303-9021

<http://vdt.UGent.be>

Hoofdredacteur en verantwoordelijke uitgever: Luc Peelman
Coördinator en eindredacteur: Nadia Eeckhout
Redacteur rubriek "Uit het verleden": Luc Devriese

Redactiecomité:

P. Bols, B. Broeckx, C. Burvenich, E. Cox, S. Daminet, P. Deprez, W. De Spiegelaere, M. Devreese, L. Devriese, R. Ducatelle, M. Haspeslagh, M. Hesta, K. Houf, J. Laureyns, I. Polis, J. Saunders, L. Van Ham, F. Van Immerseel, A. Van Soom

Druk:

Graphius
Eekhoudriesstraat 67, B-9041 Oostakker

Publiciteit:

Boerenbond – Media-Service, Diestsevest 40, B-3000 Leuven
Tel. 016 28 63 33

Inlichtingen (voor auteurs) en Abonnementen:

Nadia Eeckhout
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke
Tel. 09 264 75 13
nadia.eeckhout@UGent.be

Het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift verschijnt 6 maal per jaar en wordt uitgegeven door de Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent.

Voor intekening dient U contact op te nemen met het secretariaat van het tijdschrift: nadia.eeckhout@UGent.be; tel. 09 264 75 13; fax 09 264 77 99. Er zal u een factuur toegestuurd worden van 60 euro (+6% BTW) (abonnees in België) of 80 euro (+6% BTW) (abonnees in het buitenland). Studenten en faculteitspersoneel kunnen genieten van een gunsttarief.

De verantwoordelijkheid voor alle gepubliceerde methoden, materialen en aanbevelingen berust bij de auteurs van de betreffende bijdragen. De redactie en uitgever zijn niet verantwoordelijk voor eventuele letsels of schade als gevolg van toepassingen die daaruit voortvloeien.

Beknpte richtlijnen voor auteurs

Ieder manuscript zal qua inhoud en vorm beoordeeld worden door 2 onafhankelijke personen.

De samenvatting mag niet langer zijn dan 5% van het artikel met een max. van 150 woorden.

De literatuuraangave **in de tekst** dient als volgt te gebeuren: de naam van de auteur(s) en het jaar van publicatie (Voorbeeld: "... werd vroeger aangetoond (Brown, 1975; Brown en Ellis, 1975; Brown *et al.*, 1975)" ofwel "Brown (1975) toonde vroeger aan dan ...". Er is dus geen cijferaanuiding in de tekst.

In de **literatuurlijst** dienen achtereenvolgens vermeld: namen van auteur(s), initialen van voornamen, jaartal, titel van artikel, naam van tijdschrift, volume, paginering. Voorbeeld: Allan W.R., Rowson L.B., (1973). Control of the mare's oestrus cycle by prosta-glandins. *Journal of Reproduction and Fertility* 33, 539-543.

De referenties zijn alfabetisch gerangschikt. Artikels van dezelfde auteur(s) dienen per jaartal gerangschikt en in de tekst aangeduid te worden als: (1975a, 1975b)... Bij boeken dienen plaats en naam van uitgever vermeld te worden.

Editor-in-chief and publisher: Luc Peelman
Editorial office: Nadia Eeckhout
Editor "History": Luc Devriese

Editorial board:

P. Bols, B. Broeckx, C. Burvenich, E. Cox, S. Daminet, P. Deprez, W. De Spiegelaere, M. Devreese, L. Devriese, R. Ducatelle, M. Haspeslagh, M. Hesta, K. Houf, J. Laureyns, I. Polis, J. Saunders, L. Van Ham, F. Van Immerseel, A. Van Soom

Printed by:

Graphius
Eekhoudriesstraat 67, B-9041 Oostakker

Advertisements:

Boerenbond – Media-Service, Diestsevest 40, B-3000 Leuven
Tel. 016 28 63 33

Information (for authors) and Subscriptions:

Nadia Eeckhout
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke
Tel. 09 264 75 13
nadia.eeckhout@UGent.be

The 'Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift' is published six times per year by the Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University. For subscriptions, please contact the administrative offices of the journal: nadia.eeckhout@UGent.be; tel. 0032 9 264 75 13; fax 0032 9 264 77 99. An invoice of 80 euros (+6% VAT) will be sent.

The responsibility for all methods, materials and recommendations published herein rests solely with the authors of the various contributions. No responsibility is assumed by the editorial staff or publisher for any resulting injury or damage.

More detailed information is available on
www.vdt.ugent.be

Figuren en tabellen dienen contrastrijk te zijn en op afzonderlijke bijlagen te worden ingediend. De figuren moeten een grootte hebben van minstens 200 kb.

Het aantal tabellen en figuren wordt tot een noodzakelijk minimum beperkt.

Voor de figuren dienen titels en teksten gezamenlijk op een apart blad aangebracht te worden.

Overzichtsartikelen mogen niet te uitgebreid zijn (norm: max. 20 getypte bladzijden) en het aantal referenties wordt beperkt gehouden.

De auteurs gaan ermee akkoord dat hun gepubliceerd artikel hergebruikt kan worden, mits vermelding van de bron.

Verdere details kunnen verkregen worden op de redactie of op www.vdt.ugent.be

Digital dermatitis in cattle

Part I: factors contributing to the development of digital dermatitis

Digitale dermatitis bij rundvee
Deel I: factoren die bijdragen tot de ontwikkeling van digitale dermatitis

A. Vermeersch, G. Opsomer

Department of Reproduction, Obstetrics and Herd Health
Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium.

annesofie.vermeersch@ugent.be

ABSTRACT

Digital dermatitis or Mortellaro's disease is a highly prevalent bovine dermatological disorder situated in the foot region that causes lameness and impairs animal welfare.

In this first part of a twin paper, the role of genetics, immunity, bacteria and hygiene in the development of this complex disease are described. There is still no consensus regarding the role of the immune system and the typically isolated *Treponema* spp. in the pathogenesis of digital dermatitis. Moisture and dirt are undoubtedly important for disease transmission in and between dairy farms; furthermore, the genetic component of the disease will be more deeply discussed.

SAMENVATTING

Digitale dermatitis of de ziekte van Mortellaro is een hoogprevalente dermatologische boviene aandoening gesitueerd aan de distale regio van de poot, die aanleiding geeft tot kreupelheid en die het welzijn van het dier aantast.

In dit eerste deel van een tweeledig artikel wordt de rol van genetische factoren, immuniteit, bacteriën en hygiëne in de ontwikkeling van deze complexe ziekte beschreven. Er is nog steeds geen consensus bereikt wat betreft de rol van het immuunsysteem en de typisch geïsoleerde *Treponema* spp. in de pathogenese van digitale dermatitis. Vocht en vuil zijn ongetwijfeld belangrijk voor de ziekteoverdracht binnen en tussen melkveebedrijven. Verder zal uitgebreide aandacht besteed worden aan de genetische component van de aandoening.

INTRODUCTION

Despite the abundance of information that is easily accessible nowadays, the knowledge of digital dermatitis remains scarce. Trials based on foot bathing using a large variety of products and topical treatments have been performed, often with variable outcome (Silva et al., 2015; Chiba et al., 2017; Holzhauer et al., 2017; Solano et al., 2017a). However, without knowledge of the exact pathogenesis, it is challenging to establish an adequate, preventive and curative treatment. Many factors, such as hygiene, bacteria, immunological mechanisms and genetic predisposition contribute to the development of the distinctive lesions (Koenig et al., 2005; Evans et al., 2012b; Refaai et al., 2013;

Scholey et al., 2013; Klitgaard et al., 2014; Oliveira et al., 2017b). It is unknown to what extent each of these factors matter and at what point in the pathogenesis their role is to be considered crucial. Advances in laboratory techniques made it possible to identify changes in the local skin microbiome and to distinguish treponemal phylotypes (Krull et al., 2014; Zinicola et al., 2015b). Even though digital dermatitis is believed to be infectious, it is yet to be unveiled how it spreads between cows and farms. Moreover, there appears to be individual susceptibility (Capon et al., 2013; Gomez et al., 2015b). As the current treatments, which are mainly directed against the treponemes, cannot cure digital dermatitis, it is uncertain whether solely treponemes play the main role (Berry et al.,

2010). Studies indicating the presence of treponemes in pressure sores and in lesions in other animals, have led to the hypothesis that these bacteria might be opportunistic (Clegg et al., 2015; 2016d; Sullivan et al., 2015). Nowadays, more attention is directed to the deviant response of the immune system as a crucial part of the pathogenesis (Refaai et al., 2013; Scholey et al., 2013). Investigating crucial points in the immune response where interference is possible is a scientific path that is worthwhile to take.

Bovine digital dermatitis (DD) is one of the most commonly occurring infectious skin conditions in dairy cattle, causing a significant economic loss worldwide (Bruijnjs et al., 2010; Cha et al., 2010; Cramer et al., 2009). Furthermore, it poses a considerable threat to bovine welfare (Bruijnjs et al., 2012). These consequences are due to the severe pain caused by the acute stage of this disease. Specific figures for Belgium are currently not available, but digital dermatitis is generally accepted to be a common disease on Belgian farms. In a cross-sectional study in the Netherlands, dairy herd prevalence was estimated to range between 0-83% (n= 383 herds), while on average 21.2% of all included cows (n=22 545) displayed DD lesions (Holzhauer et al., 2006). Digital dermatitis has also been reported in beef cattle, albeit with a fairly low prevalence in Europe (Sullivan et al., 2013). In a Norwegian study by Fjeldaas et al. (2007), herd prevalence of digital dermatitis observed during claw trimming in beef cattle herds was between 0 and 7.6%. The disease is mostly seen in dairy cattle, especially in Holstein-Friesians (Holzhauer et al., 2006). Currently, the disease is globally and locally so widespread that it is essential to incorporate prevention strategies, such as managing adequate hygiene standards, foot bathing and regular foot trimming, in the routine management of every dairy farm in Belgium to avoid significant problems in terms of animal welfare and herd economics (Read and Walker, 1998; Relun et al., 2013; Solano et al., 2017a; Demirkan et al., 2018; Silva et al., 2018).

Lameness is in the top three of the costliest diseases in the dairy industry, besides fertility problems and mastitis (Ranjbar et al., 2016). Approximately 14-31 % of dairy cattle worldwide is lame when assessing the incidence of lameness at any random given time

(Amory et al., 2008; Griffiths et al., 2018). In Germany, culling due to feet and leg disorders has risen from 3.2% (1980) to 9.1% (2000) (Koenig et al., 2005). Whereas the consequences of lameness in general have been examined extensively, research on the economic impact of DD is rather scarce. According to a calculation of Cha et al. (2010), the average cost per DD case in the USA is 132.96 USD. The contribution of treatment costs to the total cost is the most important (42%), followed by losses due to decreased fertility (37%) and milk loss (27%) (Cha et al., 2010). Yearly, subclinical DD cases cost approximately 269 USD (range: 139-403 USD) on a farm with 65 dairy cows held on a concrete slatted floor with access to pasture during summer in the Netherlands. Taking the same farm setting into consideration, the costs rise up to 1249 USD (489-2481 USD) for clinical DD (Bruijnjs et al., 2010).

Digital dermatitis can be defined as an ulcerative-proliferative skin condition with a complex etiopathology situated in the foot region (Cheli and Mortellaro, 1974). The lesions are usually situated on the plantar skin in the proximity of the coronary border of the hind legs. Nonetheless, they can also be found in the distal dorsal region of the foot, on the front legs, near the dew claws, on the interdigital skin and even on interdigital hyperplasia (Read and Walker, 1998; Holzhauer et al., 2008; Rodrigues et al., 2010; Refaai et al., 2013). The most frequently used system for assessing the presence of DD is the clinical M-stage scale proposed by Döpfer et al. (1997) and slightly altered by Berry et al. (2012), going from M0 to M4.1 (Table 1). The acute and painful M2 stage is characterized by a red strawberry-like ulcerative to granulomatous lesion (Figure 1). During the advancement of M2 to M4, the epidermis thickens due to hyperplasia and hyperkeratosis. In some cases, the lesions show long hair-like dyskeratotic projections. In bovines in the USA, the lesions tend to have a more proliferative aspect in comparison to the predominantly ulcerative form seen in Belgium; hence, the term ‘papillomatous digital dermatitis’ is often used in North America (Read et al., 1998).

This two-fold review provides a brief overview of what is currently known about digital dermatitis in the broad sense.

Table 1. The different M-stages, going from M0 to M4.1 (or M5) (Döpfer et al., 1997; Berry et al., 2012).

Stage	Characteristics
M0	No lesions are present, the skin is considered to be healthy.
M1	Round, well-defined small superficial lesion. The size is less than 2 cm diameter.
M2	Typical moist strawberry-like ulcerative or granulomatous lesion clearly demarcated with erected hairs and white epithelial border. Palpation is usually painful. The lesion is more than 2 cm diameter.
M3	A thick, dry and dark scab covers the healing lesion. The lesion has progressed to a chronic stage and is not painful anymore.
M4	Chronic stage characterized by hyperproliferation of the skin.
M4.1	Chronic stage combined with a recurring active M1 lesion.
M5	The digital skin has normalized, there are no lesions present.



Figure 1. Visual representation of the different stages. The first row: M0, M1 and M2. The second row: M3, M4 and M4.1 (Source photo of M1 lesion: Dairy Cattle Hoof Health).

ETIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Even though DD has been described for the first time by Cheli and Mortellaro in 1974, many questions remain unanswered regarding the primary cause(s), pathophysiology, treatment and measures to eradicate the disease. The rapid spread between animals could possibly be attributed to the bacterial burden on used equipment and in the stall (Wells et al., 1999; Somers et al., 2005). Beside the polybacterial nature of DD, other factors, such as genetic susceptibility, hygiene, specific behavior and physi(ologi)cal mechanisms have been proposed to contribute to this complex disease (Wells et al., 1999; Somers et al., 2005; Holzhauer et al., 2006; Onyiro et al., 2008; Refaai et al., 2013; Zinicola et al., 2015b) (Figure 2). There appears to be an individual susceptibility for developing DD (Capion et al., 2012; el-Shafaey et al., 2017). Some cows are prone to develop DD while others don't seem to be sensitive at all. In a study by Capion et al. (2013), co-housing a small group of naive heifers with severely affected peers in an unhygienic environment did not induce disease transmission between all animals. This clearly indicates an individual variability regarding susceptibility. Factors, like skin characteristics, hoof

conformation, immune system properties and behavior, all contribute to the degree of susceptibility (Laven, 2007; Scholey et al., 2013; Krull et al., 2014; el-Shafaey et al., 2017). Cows showing a certain claw disorder run an increased genetic and phenotypic risk of concurrently developing another orthopedic problem (Koenig et al., 2005).

It has been suggested that the gastrointestinal tract, slurry and urine act as a reservoir for the main bacteria associated with DD (Klitgaard et al., 2014; Zinicola et al., 2015b). In skin dye experiments, it has been shown that skin permeability for dye remains the same regardless of whether an animal has DD or not (Palmer et al., 2013). However, contact with slurry for 24 hours significantly increases skin permeability. These findings indicate that slurry potentially facilitates the entry of DD-associated bacteria.

Bacterial consortium

New culture-independent molecular techniques, like 16S rRNA sequencing and 16S-23S intergenic spacer region polymerase chain reaction, have a significant impact on the research on the bacterial community involved in DD (Stamm et al., 2002; Evans et

al., 2008; Döpfer et al., 2012). In earlier times, examining the infectious component used to be a challenging issue, as the predominant pathogenic *Treponema* spp. are notoriously hard to cultivate (Walker et al., 1995). Despite the steady presence of anaerobic and motile treponemes in the lesions, DD cannot be reproduced consistently using a treponemal culture on intact skin (Krull et al., 2016). Abrading and moistening the skin prior to inoculation of infectious material has proven to be crucial for successful experimental induction (Krull et al., 2016). The exact mechanism of the initiation of DD has not been elucidated and it is not completely clear yet whether treponemes are primary or secondary invaders. Treponemes tend to have a low abundance during the onset of this disease, implying that the presence of additional synergistic bacteria is needed to pave the way for the treponemes (Krull et al., 2014). In a study by Zinicola et al. (2015b), in which shotgun sequencing was utilized, the abundance of *Treponema* spp. was higher in active lesions compared to the more advanced, chronic stages. It should be remarked that exactly the same range of treponeme phylotypes is not usually identified nor detected among different studies (Rasmussen et al., 2012; Krull et al., 2014; Zinicola et al., 2015b). According to Beninger et al. (2018), the most abundant treponemal species, *T. phagedenis*, *T. medium* and *T.*

pedis, are positively correlated with each other but *T. denticola* does not seem to be part of this polytreponemal interaction.

An extensive array of bacteria including *Fusobacterium necrophorum*, *Dichelobacter nodosus*, *Bacteroides* spp., *Campylobacter* spp., *Mycoplasma* spp., *Borrelia* spp. and *Porphyromonas* spp. has been found in lesions (Blowey et al., 1994; Döpfer et al., 1997; Rasmussen et al., 2012; Krull et al., 2014; Sullivan et al., 2015; Nielsen et al., 2016). These bacteria are possibly actively involved in the pathogenesis or they could be secondary, opportunistic invaders. It has been shown that pathogenic fungi and viruses do not reside in the diseased skin and thus cannot be linked to DD (Krull et al., 2014; Zinicola et al., 2015b). The bacterial diversity of the skin microbiome drastically decreases, along with changes occurring in the bacterial composition throughout the development of DD. While DD progresses from stage M0 to M4, there appears to be a shift in the treponemal phylotypes (Zinicola et al., 2015b). Also, the different species tend to favor a specific depth in the skin to reside: *T. phagedenis*-like and *T. denticola*-like are situated deep in the epidermis, whilst *T. vincentii* can be detected more superficially (Klitgaard et al., 2008). Active lesions are dominated by treponemal phylotypes, like *T. denticola*, *T. phagedenis*, *T. medium* and *T. putidum*,

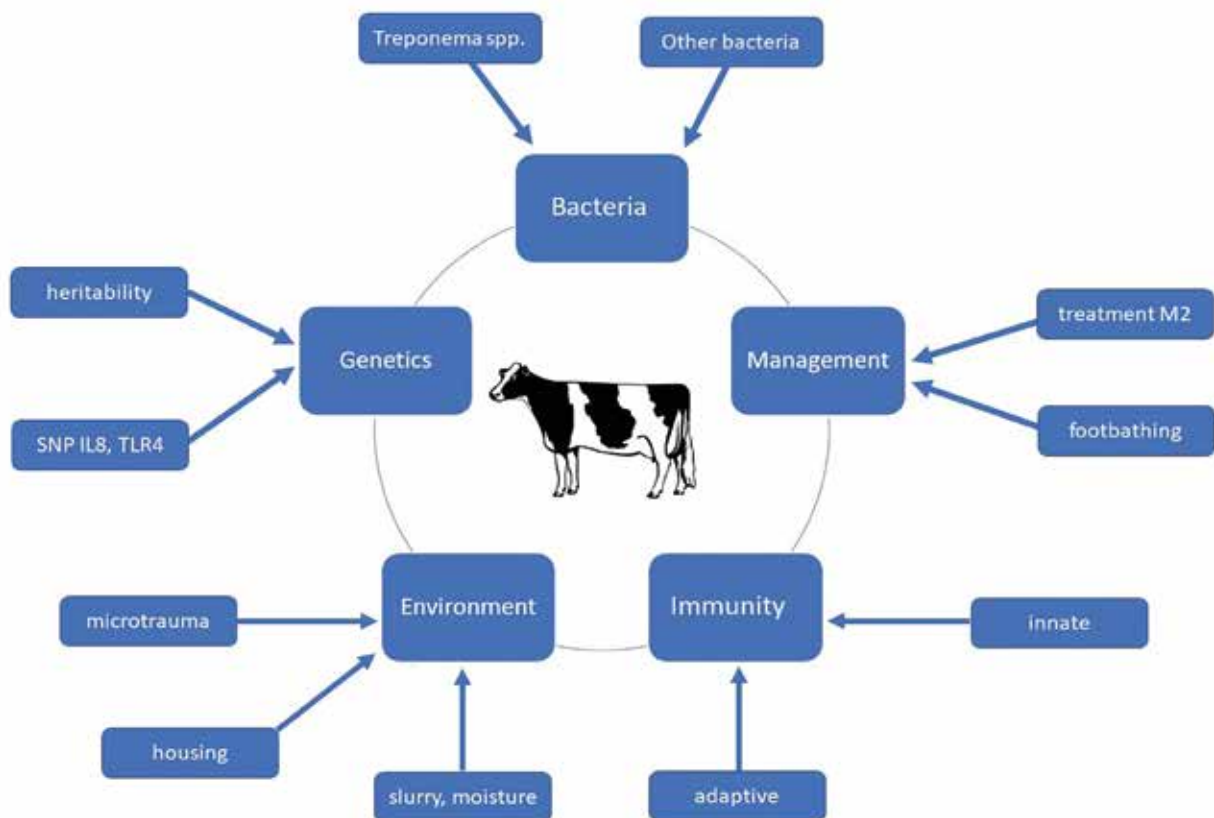


Figure 2. A concise overview of the most important factors contributing to the development of digital dermatitis. This extensive array of factors consists of environmental elements, properties of the immune system, farm management, genetics and an infectious component.

whereas in M3-M4 lesions, the distinct microbiome mainly consists of *Porphyromonas* spp., *Alkaliphilus crotonoxidans*, *Soehngenia saccharolytica* and *Telmatospirillum siberiense* (Zinicola et al., 2015b).

One of the hypotheses is that treponemes can transform themselves into an encysted form (partially) responsible for the persistence of DD (Döpfer et al., 2012). Encystation has been observed in other *Spirochaetae*, like *Borrelia burgdorferi* (Lyme's disease), *Leptospira interrogans* (leptospirosis) and *Treponema pallidum* (syphilis) (Czekalowski and Eaves, 1954; Brorson and Brorson, 1998; Döpfer et al., 2012; Ovcinnikov and Delektorskij, 1970).

Immunity

The inflammatory pathway involved in the pathogenesis of DD has not been elucidated yet. The characteristic macroscopic presentation is mediated by a dysregulated inflammatory response and the virulence factors of the pathogenic bacteria present in the skin (Döpfer et al., 1997; Zuerner et al., 2007; Dashper et al., 2011; Refaai et al., 2013). A decrease in the number of peripheral blood T- and B-leukocytes can be noted in dairy cows affected by DD, which slightly improve after lincomycin treatment (Ando et al., 2009). There is a delayed onset of the adaptive immune response, whereas the innate immunity displays a significantly upregulated and continuous response (Refaai et al., 2013). In M2 and M3 lesions, a dramatic increase in keratinocyte-derived interleukin-8 (IL-8) levels is noted (Refaai et al., 2013; Watts et al., 2018). This increase can be attributed to a genetic upregulation and to the keratinocyte proliferation (Tuschil et al., 1992; Scholey et al., 2013). Interleukin-8 is an early response pro-inflammatory chemokine stimulating neutrophils and keratinocytes. In vitro exposure of fibroblast and keratinocyte cell cultures to *Treponema* spp. sonicates has not shown any changes in the IL-8 levels (Evans et al., 2014). However, an increase of chemokine ligand 5 (CCL5/RANTES), tumor necrosis factor α (TNF- α), transforming growth factor β (TGF- β), metalloproteinase inhibitor 3 (TIMP3) and matrix metalloproteinase 12 (MMP12) expression has been observed in the fibroblasts (Evans et al., 2014). In a study by Lazarus et al. (2006), a better clearance of the spirochete *Borrelia burgdorferi* in mice with an anti-inflammatory peptide IL-10 deficiency (IL10^{-/-}) was described. These IL10^{-/-} mice tended to have a better innate and adaptive immune response than non-IL10 deficient mice. In a study by Watts et al. (2018), the transcription levels of IL-10 in bovine M4 samples were elevated. More research is needed to investigate the role of IL-10 and other cytokines in the possible clearance of *Treponema* spp. (Refaai et al., 2013). In an in vitro study with bovine macrophages, wound repair mechanisms were impaired by the presence of *T. phagedenis*-like spirochetes (Zuerner et al., 2007). This particular strain had a significant immuno-

suppressive effect. Most of the genes coding for cytokines remained unchanged or downregulated after treponemal exposure. However, the transcription of the IL-10 receptor was enhanced.

A surface-bound protease called dentilisin of human oral *T. denticola* is known to degrade cytokines, like IL-1 β , IL-6 and TNF- α (Dashper et al., 2011). Various other virulence factors of *T. denticola* are known, such as toxin-antitoxin systems (TA), transposases, immunodominant major sheath protein (Msp) and outer sheath vesicles (OMVs). All of them aid the treponemes to escape from the host immune response and to invade efficiently in the host tissues. Treponemes seem to lack the typical lipopolysaccharide (LPS) present in gram-negative bacteria (Schultz et al., 1998; Walker et al., 1999). Some treponemes possess a functionally similar molecule lipooligosaccharide (LOS), with some parts also found in lipoteichoic acid in gram-positive bacteria (Dashper et al., 2011); this implicates a possibly weaker stimulation of the immunity.

A tremendous variability regarding antibody levels may be noted within and between groups of affected animals (Moe et al., 2010; Gomez et al., 2014a). This could be explained by the dynamic polybacterial burden, the presumed antigen mismatch in laboratory assays and the fact that the presence of treponemes in the gut possibly induces some degree of immunotolerance (Evans et al., 2011b; Krull et al., 2014). Despite the production of anti-treponeme IgG antibodies, the lesions generally progress into a chronic state and the animals are not protected against relapses (Gomez et al., 2014a). The M1 and M4.1 lesions are not associated with an increase in antibody titer. Even animals that never had macroscopic DD lesions appear to have a consistently low serum IgG titer against treponemes. In a study by Gomez et al. (2014a), a 56%-increase of the antibody titer was seen when heifers were confronted with an acute M2 lesion. Vaccine development has been attempted over the years but has failed so far due to the complexity of the disease (Berry et al., 2003). Besides the fact that there are extensive microbiomial changes, the pathogenesis also entails many non-infectious facets, like genetics and environmental factors (Koenig et al., 2005; Somers et al., 2005; Holzhauer et al., 2006). Moreover, the different treponeme phylotypes reported to be involved, are known to express antigenic variety (Trott et al., 2003).

Metabolism

Postparturient dairy cattle descend into a negative energy balance, putting a tremendous amount of (metabolic) stress on the body. If cows have an excessively high body condition score during the late stage of lactation and the dry period, they are prone to develop fat cow syndrome and insulin resistance in the immediate postpartum period (Roche et al., 2013; Oliveira et al., 2016). Overconditioned cows tend to go into a hyper-

inflammatory state caused by high amounts of adipose tissue-derived cytokines, like TNF- α , IL-1 and IL-6 (Depreester et al., 2018). Nonetheless, the periparturient metabolic adaptations also have a debilitating effect on other immunological parameters (Lacetera et al., 2005; Depreester et al., 2018). According to Perez-Cabal and Charfedinne (2016), there is no direct association between the presence of digital dermatitis and body weight. However, a study by Schöpke et al. (2013) showed that cows that are overconditioned or have a body condition score that drops below 2.5 at peak lactation, tend to be more susceptible to DD.

In dairy cattle, the relationship between subclinical ketosis and lameness is still unclear. Nevertheless, in a study by Suthar et al. (2013), lame cows tended to have higher β -hydroxybutyrate levels in milk (1.165 mmol/L) than non-lame control cows (0.687 mmol/L) between 2 and 15 days. However, it is unclear whether lameness gives rise to subclinical ketosis or if lameness rather has to be seen as a consequence of this metabolic disease.

Lactation and parity

Cows with a high milk yield and high milk protein percentage are prone to develop claw and foot disorders in the current lactation (Koenig et al., 2005). According to Gomez et al. (2015b), having DD during the rearing period significantly impairs the first-lactation performance in heifers. Heifers that experienced at least one DD event before calving, show milk production losses of 199-335 kgs during the first 305 days in milk due to less persistence after peak yield. This could be explained by the discomfort the animal experiences when facing an acute lesion. The findings suggest more attention needs to be paid to young animals regarding prevention. In a study by Somers et al. (2005), the odds of having DD declined with higher parity. This could be due to a higher culling rate and conformational changes (e.g. lower heels) in older cattle versus the intense periparturient adaptations primiparous heifers are confronted with. Moreover, the immune response against DD might be more efficacious in older cattle. In contrast, Amory et al. (2007) did not see remarkable changes in milk yield in cows affected by acute DD, although they showed a slight increase in production after treatment. Other causes of lameness like sole ulcerations had a negative impact on milk production before and even after treatment. Also, lame animals tend to lie down more often and for longer bouts (Thomsen et al., 2012; Solano et al., 2016). Additionally, lameness causes a decrease in the time spent eating (Solano et al., 2016; Weigele et al., 2018). These behavioral changes undoubtedly have an effect on the productivity as well. In a study by Gomez et al. (2015b), no noteworthy changes in fat and protein percentages, nor somatic cell counts in DD affected first-lactation animals were found. Peak lactation and the first month after calving

are two stages in the lactation cycle, in which a dairy cow is considered to be the most susceptible to developing DD lesions (Argaez-Rodriguez et al., 1997; Holzhauser et al., 2006). Besides the drastic metabolic adaptations taking place during those times, cows are put on a high energy diet and as a result, contaminate their hind legs with more liquid feces (Somers et al., 2005).

In mice, it has been shown that the subcutaneous fat layer thickens after inoculating pathogenic *Staphylococcus aureus* due to adipocyte proliferation and hypertrophy (Zhang et al., 2015). The adipocytes produce bioactive substances like the pro-inflammatory and antibacterial substance cathelicidin. This molecule is likely to be involved in the chronic inflammatory response in obese individuals. Dairy cattle tend to go into a negative energy balance after calving, whereby they excessively mobilize fat (Depreester et al., 2018). This presumably has a negative impact on the adipocytes in the skin and the fat cushion in the foot region, leading to less support (Bicalho et al., 2009; Mahendran and Bell, 2015).

Fertility

Pain and acute stress negatively influence the pulses of luteinizing hormone (LH) and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) (Battaglia et al., 1997; Phogat et al., 1999). It has been shown that the ovarian cyclicity is compromised by these hormonal changes (Garbarino et al., 2004). Weight loss associated with lameness inhibits ovarian activity during the first month after calving (Opsomer et al., 2000), nor is estrus expressed in healthy, sound cows making estrus detection challenging (Walker et al., 2008; Morris et al., 2011). The average conception rate is lower in lame cows at first service (Gomez et al., 2015b). On average, it takes a lame cow 28 days more to become pregnant (Lee et al., 1989). Lameness is associated with a higher incidence of ovarian cysts during the first 80 days post partum, hence risking infertility (Melendez et al., 2003). By contrast, in a study by Charfedinne and Perez-Cabal (2017), fertility traits, with the exception of calving-to-first-service-interval for mild lesions, were not influenced by the presence of DD. However, it should be mentioned that the number of included animals with severe lesions was low: severe DD lesions were found in 19 animals, whereas 985 animals had mild lesions and 12,129 animals were unaffected by DD.

Genetics

Claw health index and heritability

The information regarding a certain trait, e.g. claw health, can be combined with one value, called the breeding value (BV). An estimation of the aforementioned value is made through the performance of the

animal and its relatives. It is possible to reduce the prevalence of claw disorders by selecting animals based on their claw health index breeding value (van der Linde et al., 2010). When a bull scores 104 BV for claw health, the prevalence of digital dermatitis, interdigital dermatitis and sole hemorrhages in the progeny decreases with 3% (CRV, 2017). The more trimmed and approved female offspring a breeding bull has, the more reliable his estimated breeding value (EBV) for claw health index becomes (van der Linde et al., 2010). Claw health on a dairy farm can be improved by using bulls with an EBV >100 for claw health, or by using bulls of other breeds (CRV, 2017; Rinell and Heringstad, 2018)

In the claw health index, six claw diseases in the first and in the following lactations (≥ 2) are taken into account (CRV, 2017) (Table 2). When using only the claw health characteristics, the reliability is approximately 53%. In order to improve the reliability of this index, the leg exterior characteristics can be added. These characteristics show a low to intermediate correlation with claw disorders. If the index is based on the characteristics of the animal's conformation, excluding claw health data, the reliability is 24% (Stoop et al., 2010).

Koenig et al. (2005) estimated the heritability for DD to be 0.073 (± 0.009), which was lower than the estimates for sole ulcers (0.086 ± 0.006), claw wall disorders (0.104 ± 0.0014) and interdigital hyperplasia (0.115 ± 0.021). These estimates are low to moderate but still worthwhile to be taken into account when breeding cattle (Koenig et al., 2005; Buch et al., 2011). There is a strong genetic correlation between DD and heel horn erosions (0.87) but a low correlation with other claw disorders, such as sole ulcers and claw wall disorders (Buch et al., 2011) (Table 3).

A positive and moderate genetic correlation between culling due to leg problems and milk, fat and protein yields has been described in a study by Uribe et al. (1995). In a study by Koenig et al. (2005), the genetic correlation between milk yield in early lactation and DD was 0.240 (± 0.145). Cows with a high genetic merit for milk yield tend to be more prone to develop health issues (Johansson et al., 2011). However, the relationship between milk yield and lameness is complex and ambiguous.

There is a moderate correlation between the 56 days non-return percentage and the presence of DD (0.48 ± 0.02) (Onyiro et al., 2008), which implies that DD has indeed an impact on fertility. According to a study by Onyiro et al. (2008), moderate negative correlations with fat (-0.43 ± 0.02), milk (-0.31 ± 0.02) and lifespan (-0.16 ± 0.02) indicate that longevity and productivity improve when taking DD into consideration during bull selection.

Differential gene expression

Scholey et al. (2013) examined the host pathways in M2 biopsies. Curiously, they found a higher expression of $\alpha 2$ -macroglobulin-like 1. The related $\alpha 2$ -macroglobulin gene has been shown to be crucial for the proliferation of *Treponema denticola* in human periodontitis (Socransky and Hubersak, 1967). These proteins might be decisive for evading the host immune response by coating the treponemes. Also, they seem to inhibit proteases (Galliano et al., 2006). The gene expression of a variety of molecules changes in acute DD lesions (Table 4).

A few single nucleotide polymorphisms (SNP) mutations in the gene coding for IL-8 have been linked to DD resistance (C94T, A220G and T262A). The fol-

Table 2. Heritability, reproducibility and statistical variance for characteristics linked to the claw health index (CRV, 2017). The '1' stands for the first lactation and the '2+' refers to the second and following lactations.

Characteristic	Heritability (h^2)	Reproducibility	Statistical variance (σ^2)
Sole hemorrhage 1	0.07	0.15	0.196
Digital dermatitis 1	0.09	0.36	0.222
Interdigital dermatitis 1	0.08	0.21	0.180
Sole ulcer 1	0.08	0.30	0.116
Interdigital growth 1	0.08	0.42	0.089
White line defect 1	0.03	0.14	0.075
Sole hemorrhage 2+	0.05	0.17	0.165
Digital dermatitis 2+	0.08	0.30	0.190
Interdigital dermatitis 2+	0.11	0.27	0.239
Sole ulcer 2+	0.12	0.30	0.191
Interdigital growth 2+	0.14	0.62	0.184
White line defect 2+	0.03	0.17	0.096
Hind legs rear view	0.18		0.659
Hind legs side view	0.24		0.725
Claw angle	0.20		0.640
Leg use	0.12		0.532
Physique	0.17		1.332

Table 3. Genetic correlations between digital dermatitis and other characteristics. '♦' is the characteristic during the first lactation and '♣' is the characteristic in the ≥ second lactation (CRV, 2017).

	Digital dermatitis ♦	Digital dermatitis ♣
Interdigital dermatitis	♦ 0.77 ♣ 0.82	♦ 0.42 ♣ 0.58
Sole ulcer	♦ 0.00 ♣ 0.09	♦ -0.06 ♣ 0.11
Interdigital growth	♦ 0.44 ♣ 0.63	♦ 0.28 ♣ 0.60
White line defect	♦ -0.31 ♣ -0.29	♦ -0.25 ♣ -0.11
Sole hemorrhage	♦ 0.08 ♣ 0.07	♦ -0.12 ♣ 0.03
Hind legs rear view	-0.33	-0.18
Hind legs side view	0.14	0.05
Claw angle	-0.13	0.15
Leg use	-0.56	-0.31
Physique	-0.51	-0.28

Table 4. A brief overview of the altered gene expression for a selection of important molecules in M2 lesions (Scholey et al., 2013).

Molecule	Function	Gene regulation ↑ or ↓
Keratin	Skin barrier, keratinocyte activation	↓, except e.g. keratin 6A (↑)
Filaggrin 2	Epidermal barrier	↓
Major histocompatibility class II DY □ and DQ □	Local adaptive immune response	↓
Matrix metalloproteins (MMPs)	Skin tissue turnover	↓ and ↑
Interleukin 24 and 19	Anti-inflammatory proteins	↑
Interleukin 1 □ and 1 □	Keratinocyte activation, early inflammation, MMP-13 stimulation	↑
SLP 1	Chymotrypsin inhibition	↑
Hyperactive pyrin (mediterranean fever)	More frequent inflammation	↑
Monocyte chemoattractant protein	Recruitment of e.g. monocytes, memory T-cells and dendritic cells	↑

lowing SNPs in the toll-like receptor 4 gene are associated with resistance (C118T) and susceptibility (G349C and C355A) (El-Shafaey et al., 2017).

Other risk factors

A great deal of factors affecting the development of DD have been described in the literature, such as type of housing, environment, hygiene and management (Table 5). They individually do not cause DD, but all have a considerable impact on the development of DD (Wells et al., 1999; Ferguson et al., 2004; Somers et al., 2005; Frankena et al., 2009; Sullivan et al., 2014a). Results from risk factor studies are not easy to be interpreted as many factors are intertwined. A farm owner may have a specific reason for choosing a certain management strategy and may not be able to change certain risk factors.

Housing and hygiene

Full access to pasture, especially during the summer, has a protective effect against infectious foot dis-

eases, like digital and interdigital dermatitis (Wells et al., 1999; Somers et al., 2005; Ambrecht et al., 2017), whereas concrete floors in the stable and differences in dietary characteristics, e.g. higher levels of concentrate being fed in the barn, apparently have a negative effect (Somers et al., 2005). A floor that is too abrasive, will cause the horn to wear excessively. Furthermore, concrete that is polished too much, poses a risk for injuries due to slipperiness (Wells et al., 1999). If the stable is not cleaned regularly, the buildup of manure provides a moist and dirty environment. As a result, the skin weakens, which possibly reduces the speed of healing of microtraumata and lesions. Moreover, manure may serve as a nidus for bacteria like treponemes (Evans et al., 2012b). Using a manure scraper more than eight times a day (in order to make the floor drier and cleaner), reduces the odds for DD (Oliveira et al., 2017b). However, in a study by Cramer et al. (2009), the prevalence of DD increased when using a manure scraper more than three times a day. The type of floor the scraper is used upon is considered to be of great importance. Using a manure scraper on a solid floor causes more buildup of manure than on a slatted

floor (Cramer et al., 2009); nor should leg cleanliness be underestimated (Relun et al., 2013). The cubicle design of a freestall is of great importance: the cubicle should be long and wide enough, so cows can lie down comfortably and thus spend less time standing in slurry (Faull et al., 1996; Algers et al., 2009). Poor cubicle design, like a misplaced head-rail or lying beds with unsuitable dimensions, put the cow at risk of developing claw abnormalities and/or lameness (Faull et al., 1996). A short lying bed may cause the cow to stand with the hind legs in the (dirty) walking alley, posing the risk of developing (non-) infectious claw diseases (Dippel et al., 2011). The design of the alleys should also be taken into account as a possible contributing factor to the development of foot disease. In a study by Somers et al. (2003), dairy cattle housed in straw yards showed a lower prevalence of claw disorders such as, digital dermatitis and sole hemorrhages, than cattle housed on solid concrete or slatted floors. The number of cows showing lameness in straw yards is lower than for instance animals housed on concrete due to a higher level of comfort and reduced claw loading (Onyiro et al., 2008; Frankena et al., 2009). The hardness of the claws is important for decreasing claw disease prevalence (Ambrecht et al., 2017). The hardness can be improved through a balanced diet and by keeping the claws dry and clean.

An important concern in terms of biosecurity is the hoof trimming practices. In a study by Sullivan et al. (2014a), DNA from different *treponeme* phylotypes was detected on hoof knives after trimming a herd of sheep and cattle (97% positive samples). Disinfection of the knives with an iodine disinfectant

drastically reduced the PCR detection rate. Nevertheless, 35% of the blades remained positive (Sullivan et al., 2014a). These findings highlight the importance of implementing on-farm hygienic measures at levels which are not directly obvious, especially during claw trimming. Cloths for cleaning the feet should be changed between different cows, even between feet of the same cow.

Introducing new cattle, like the replacement of heifers from external farms into the herd, implies a significant risk of bringing in DD, as well as other infectious diseases (Wells et al., 1999). An increase in herd size is also a known risk factor (Wells et al., 1999). Susceptibility also seems to be correlated with parity (Somers et al., 2005; Holzhauer et al., 2006). Pregnant heifers are more at risk for developing DD than cows with a higher parity, because they are confronted with many changing periparturient circumstances. On the other hand, cows in the dry period display less sensitivity to DD (Somers et al., 2005; Holzhauer et al., 2006). They are fed a different ration making their manure more solid and thus making the floor and their hind legs less wet (Holzhauer et al., 2008; Somers et al., 2005). In a study by Somers et al. (2005), housing dry cows together with lactating herdmates before calving notably increased the risk of developing DD. In the same study, it was shown that housing calves and heifers together with the lactating cows is associated with a decrease in susceptibility to DD. The authors hypothesized that, in this way, a certain adaptation period before calving is provided, making the periparturient period less stressful.

Table 5. Summary of the most important risk factors and how to solve them.

Risk factors	Solution	References
Lack of a prevention strategy	Preventive claw trimming, regular footbathing, hygiene, diagnosing and treating acute stages and other strategies.	Somers et al., 2005
Housing and stable design	Access to pasture, non-slippery and not too rough floor, avoid sharp bends, adjust lying beds.	Onyiro et al., 2008; Dippel et al., 2011; Smits et al., 2015; Ambrecht et al., 2017
Moisture and manure	Regular cleaning (e.g. manure scraper), improving general hygiene, adequate ventilation. Score leg cleanliness and take action accordingly.	Algers et al., 2009; Oliveira et al., 2017b; Solano et al., 2017
High productivity	Breeding (genetic selection)	Koenig et al., 2005
Contact with new cows	Disease screening program, respecting a quarantine period and preferably keeping the farm closed off.	Wells et al., 1999; Palmer et al., 2015
Claw trimming hygiene	Cleaning and disinfecting knives in between cows and farms, cleaning the trimming chute.	Sullivan et al., 2014; Palmer et al., 2015

Conformation

Toussaint (1989) advised a dorsal wall length of 7.5 cm for dairy cows. Nowadays, most dairy cattle tend to be larger and heavier, which also implies changes at claw level. The minimal dorsal wall length is estimated to be approximately 8.5 cm for young cows (parity ≤ 2) and 9.0 cm for adult cattle (Archer et al., 2015). In a study by Laven (2007), DD-affected heifers had significantly lower heels than their healthy herdmates 24 weeks post calving. It is unclear whether low heels are a risk factor for developing DD or if it is rather a consequence of the feet being affected by DD. It is more plausible to assume the long toes and low heels of the heifers in the study by Laven (2007) were a risk factor. The presence of long toes possibly explains the reduced functional heel height. Painful DD lesions result in putting more weight on the toe region and less on the heel, which is in contradiction with the findings in the aforementioned study. In a longitudinal study performed by Gomez et al. (2015a), heifers affected by DD had higher heels, an increased claw angle and more extensive heel horn erosions. Having a sickled conformation of the hind legs increases the odds for suffering from DD and sole ulcers (Perez-Cabal and Charfedinne, 2016). The prevalence of foot and leg problems tend to decrease when the cow's legs are straighter than midrange (Koenig et al., 2005). Digital dermatitis is more likely to develop when interdigital dermatitis or heel horn erosions are concurrently present (Smits et al., 2015). By not applying herd trimming at regular intervals, the herd is more at risk of developing various claw disorders (Somers et al., 2005). Beside treatment of acute DD lesions, hoof trimming improves claw conformation, supposedly making the animals less prone to DD and claw abnormalities.

Feed ration

Currently, there is a lack of studies linking dietary characteristics to DD. In a study by Somers et al. (2005), it has been shown that increasing the concentrate levels too fast after calving (< 2 weeks to maximum amount) is a relevant risk factor. In the same study, feeding residual products from, e.g. breweries, seemed to strongly increase the odds for developing DD. In 2014, a research on the effect of trace mineral premix supplementation on the incidence of DD lesions was published (Gomez et al., 2014b). Nonetheless, the results were inconclusive and speculative due to the lack of power and statistical significance, the possible presence of an observer bias and because the steers enrolled in the 'natural exposure phase' never developed DD.

Trace minerals (e.g. zinc, manganese and copper), calcium, phosphorus, vitamin A and D and sulphur-containing amino acids (methionine, cysteine) play a significant role in skin integrity, wound healing and

the regulation of the immune system (Elias, 1986; Nocek et al., 2000; Landsdown, 2002; Ibs and Rink, 2003; Lippolis et al., 2011; Osorio et al., 2013). This implicates their quantity in feed is of unquestionable importance. Daily supplementation for one year of zinc methionine, copper lysine, manganese methionine and cobalt glucoheptonate reduced the incidence of papillomatous DD in an experimental trial (Nocek et al., 2000). In a study by Ferguson et al. (2014), organic trace mineral supplementation in the dry period significantly reduced the claw lesion prevalence in the subsequent lactation. On the other hand, parameters, such as lactation number and stage, had a far greater influence on claw lesions. The effect of biotin supplementation has been well studied in horses but not in cattle. In the literature on equine hoof quality, a positive effect of long term biotin supplementation has been described. In a study by Zenker et al. (1995), 20 mg/kg biotin per day for 38 months improved equine hoof horn quality, specifically the tensile strength and histological features. Biotin is a water-soluble vitamin that needs to be added to the daily diet for a prolonged period of time before any significant changes can be noticed.

Moreover, the effect of the rumen and diet on biotin bioavailability should not be underestimated. A diet rich in grains ($> 50\%$ DM) leads to an acidification of the ruminal content, causing a decrease in the local bacterial biotin synthesis (Seymour, 1999). It has been indicated that supplementing 20 mg biotin daily for 45 days has no effect on the DD healing rate (Silva et al., 2015). In other studies, it has been shown that daily 10-20 mg supplementation for eight months during two years has a positive effect on the healing rate and incidence of claw lesions (e.g. vertical fissures, white line disease, heel horn erosions, sole ulcers), and additionally increases milk production (Seymour, 1999; Campbell et al., 2000; Hedges et al., 2001; Lischer et al., 2002). In a study by Bergsten et al. (2003), the incidence of sole hemorrhages was significantly lower (24%) in the group of animals receiving biotin supplementation than in the control group (50%).

CONCLUSION

One of the most common infectious foot diseases in cattle is digital dermatitis. Its pathogenesis is yet to be elucidated but numerous factors that play a role have been identified. Changes of the local microbiota composition, e.g. an increase in the number of treponemes combined with the possible synergistic action of other bacteria, are considered to be one of the most important elements in the development of the disease. A dysregulation on the level of the innate and adaptive immunity is present. Although antibodies are formed when confronted with an acute lesion, they do not seem to fully protect the animal as the le-

sions may progress to a chronic stage. Moreover, the animal may relapse at any time. The influence of the daily ration and diet supplements, such as biotin, on the presence of digital dermatitis is under-researched. It may be worthwhile to take digital dermatitis into account when breeding, as every cow has a certain genetic susceptibility. The leg and foot conformations of the individual cow can make an animal more or less prone to develop (non-) infectious foot disorders. In the prevention of these disorders, environmental factors, such as the design of the stable and hygiene,

should also be taken into account. The development of an adequate treatment and a vaccine are complicated by the multifactorial nature of digital dermatitis.

LITERATURE

A complete reference list can be obtained from the authors on request.



Buikleg – Eiperitonitis (S)onnet

Een kip van onverdacht fatsoen
was door een haan van zwakke zeden
arglistig om de tuin geleden,
gelijk dat hanen hennen doen.

De kip heeft toen haar schuld beleden
aan een naburige kalkoen
en onder 't welverdiend sermoen
zich beide ogen natgeschreden.

Te laat bezielde door de begeerte
haar toch niet te redden eer te
bewaren, koos zij zich tot taak

het zondig ei te onderdrukken.
Ze barstte met een knal aan stukken
en stierf voor een verloren zaak.

Kees Stip, alias Trijntje Fop (1913-2001)



medvet
diergeneeskunde

Diergeneeskundige analyses uitgevoerd onder toezicht van **ervaren dierenartsen**.

Een team van **pathologen**, zowel voor histologie als cytologie.

Persoonlijke service en klinische interpretatie.

medvet | diergeneeskunde
Emiel Vloorsstraat 9 BE-2020 Antwerpen
T +32 3 30 30 800 F +32 3 30 30 880
S www.medvet.be E info@medvet.be



www.dierenhospitaal-visdonk.nl

VISDONK
DIERENHOSPITAAL

Dierenhospitaal Visdonk is een dierenartsenpraktijk waar we met 10 dierenartsen sterk diersoort specifiek werken, zowel op eerste- als tweedelijns niveau. Hiervoor hebben we de beschikking over een uitstekend ingerichte kliniek waar we met een enthousiast team van dierenartsen en paraveterinair streven naar optimale zorg en kwaliteit voor de dieren. Vanwege de snelle groei van onze praktijk zijn wij op korte termijn op zoek naar een parttime (50%)

ERVAREN DIERENARTS GEZELSCHAAPSDIEREN M/V

Wij vragen een collega die:

- aantoonbare werkervaring heeft in de orthopedische chirurgie;
- kwaliteitsbewust is;
- klantgericht is en teamgeest hoog in het vaandel heeft staan;
- een uitdrukkelijke bijdrage wil leveren aan nieuwe ontwikkelingen;
- bereid is te participeren in de diersoort specifieke avond-, nacht- en weekenddiensten (1/7);

Wij bieden uitstekende ontplooiings- en toekomstmogelijkheden.

Schriftelijke sollicitaties met CV, kunt u binnen 10 dagen richten aan Dierenhospitaal Visdonk, t.a.v. mevrouw G. van Staaïj, Visdonkseweg 2a, 4707 PE Roosendaal.
Of per e-mail g.vanstaaij@visdonk.nl

LOCATIE VISDONK 📍 Dierenhospitaal Visdonk (hoofdvestiging) Visdonkseweg 2a, 4707 PE Roosendaal ☎ 0165 583750 📠 0165 583755
LOCATIE TOLBERG 📍 Dierenkliniek Tolberg (alleen gezelschapsdieren) Tolbergcentrum 53, 4708 GB Roosendaal ☎ 0165 533508

Digital dermatitis in cattle

Part II: Treatment, prevention and link with other treponemal diseases

Digitale dermatitis bij rundvee
Deel II: Behandeling, preventie en de link met andere treponemale ziekten

A. Vermeersch, G. Opsomer

Department of Reproduction, Obstetrics and Herd Health
 Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium.

annesofie.vermeersch@ugent.be

ABSTRACT

Digital dermatitis is the most common cause of lameness worldwide in dairy cattle. In this final part of a twin paper, treatment options and strategies to prevent digital dermatitis are reviewed. There is a wide range of different treatments available but none of them can completely cure the animal. Footbaths and applying high standards for hygiene are ways to keep this disease under control.

Moreover, the link to other (human and non-human) treponemal diseases will be discussed. In humans, treponemes are involved in periodontal disease, syphilis and many other illnesses. The dermatological manifestation of some of these human diseases such as yaws have a similar appearance like acute digital dermatitis. Digital dermatitis-like lesions have been described in goats, sheep and elks. The typically isolated *Treponema* spp. can also be found in equine proliferative pododermatitis affected feet. Besides in digital dermatitis, these bacteria can be found in bovine ulcerative mammary dermatitis and badly healing lesions in cattle.

SAMENVATTING

Digitale dermatitis is wereldwijd de belangrijkste oorzaak van kreupelheid bij melkvee. In dit laatste deel van het tweedelige artikel wordt een overzicht gegeven van de behandelings- en preventiestrategieën. Er zijn verschillende behandelingen beschikbaar maar geen enkele kan het dier volledig doen genezen. Voetbaden en een hoge hygiënestandaard toepassen zijn manieren om de ziekte onder controle te houden.

Bovendien wordt de link met andere (humane en niet-humane) treponemale ziekten besproken. Bij de mens zijn treponemen betrokken bij periodontitis, syfilis en vele andere ziekten. De dermatologische manifestatie van humane treponemale ziekten, zoals “yaws”, hebben een gelijkaardig voorkomen als acute digitale dermatitis. Digitale dermatitisachtige letsels werden reeds beschreven bij geiten, schapen en wapiti's. De typisch geïsoleerde *Treponema* spp. kunnen ook gevonden worden bij het paard, op voeten aangetast door proliferatieve pododermatitis. Deze bacteriën kunnen niet alleen bij digitale dermatitis maar eveneens bij bovine ulceratieve mammaire dermatitis en slecht helende letsels aangetroffen worden bij rundvee.

ANALOGIES WITH HUMAN TREPONEMAL DISEASES

Human treponemal skin diseases

In humans, treponemes are the cause of venereal syphilis (*T. pallidum* subsp. *pallidum*) and the ende-

mic treponematoses called yaws (*T. pallidum* subsp. *pertenue*), bejel (*T. pallidum* subsp. *endemicum*) and pinta (*T. carateum*), which are mainly characterized by typical skin lesions (Perine et al., 1984; Giacani and Lukehart, 2014; Marks et al., 2014). According to the unitarian hypothesis, these diseases are caused by one and the same pathogen but with subtle genomic

differences (Hudson, 1963). Disease development and outcome are considered to be geographically region-specific. Other species like rabbits and hamsters have shown to be susceptible to develop lesions after experimental infection with human syphilis strains (Cumberland and Turner, 1949; Kajdacsy-Balla et al., 1987; Norris et al., 2001). The pathogenesis and clinical manifestation are strikingly comparable, as these diseases can all enter into a latent stage caused by the host immune response (Giacani and Lukehart, 2014). The cardiovascular, neurological and ophthalmological complications seen in venereal syphilis are not commonly seen in the other treponematoses (Perine et al., 1984). Skin-to-skin contact between children is an important mode of transmission for the endemic treponemal diseases (Perine et al., 1984; Giacani and Lukehart, 2014). A compromised skin integrity facilitates the entry of yaws-associated treponemes. Despite the important role flies play in the transmission of yaws, DD-associated treponemes have not been detected in flies on dairy farms yet (Evans et al., 2012b). Yaws, which causes berry-like skin lesions, is linked to a hot and humid climate combined with inadequate hygiene (Perine et al., 1984; Marks et al., 2014) (Figure 1). In contrast, bejel is primarily seen in dry surroundings whereas the prevalence of DD in cattle has been noticed to be higher in winter and when moist conditions are present (Perine et al., 1984; Read and Walker, 1998). Similar to DD, yaws lesions are often found on the distal extremities. Pinta is considered to be one of the mildest treponematoses because it does not spread further beyond the skin (Perine et al., 1984; Giacani and Lukehart, 2014; Marks et al., 2014).

Despite numerous attempts to develop a vaccine against syphilis, there is no vaccine available yet. A preliminary study by Lithgow et al. (2017) showed noteworthy results with a surface Tp0751 lipoprotein vaccine in rabbits. The Tp0751 sequence is conserved in all sequenced *T. pallidum* strains. Even though the experimental vaccine did not fully protect the animals, the lesions were less severe, the immune response was stronger and the degree of organ spreading diminished considerably. In the future, a multicomponent vaccine containing Tp0751 and TprK could be used in immunization trials.

Human periodontal disease

Periodontal disease compromises the integrity of the periodontium (gingiva, periodontal ligament and alveolar bone), going from gingivitis to bony destruction and loss of teeth (Edwards et al., 2003). Treponemes are strongly involved in active human periodontal disease, forming ‘the Red Complex’ together with other key bacteria, such as *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* (Socransky et al., 1998; Dashper et al., 2011). The best characterized oral treponeme is *T. denticola*, a species that has also been detected in bovine DD lesions (Socransky et al., 1998; Dashper et al., 2011; Döpfer et al., 2012).

A whole array of different *Treponema* species, like *T. parvum* and *T. medium*, can be isolated from the mouths of the affected patients (Umamoto et al., 1997; Wyss et al., 2001). Just like DD, human periodontitis is considered to be a multifactorial disease whereby the moist environment, host factors (e.g. obesity, insulin resistance, hygiene), local immune response and synergistic pathogenic bacteria are of great importance (Perlstein and Bissada, 1977; Al-Zahrani et al., 2003; Abusleme et al., 2013; Landzberg et al., 2015; Hajishengallis, 2015; Lertpimonchai et al., 2017). *T. denticola* is able to evade multiple immune-mediated killing mechanisms, and concurrently enhances inflammation (Miller et al., 2012; Shin et al., 2013). In affected oral tissue, levels of mediators like IL-8 and RANTES are elevated, as in bovine fibroblasts when confronted with DD-associated sonicated treponemal material (Silva et al., 2007; Evans et al., 2014).

Obesity increases the odds for developing periodontal disease, presumably through the secretion of adipocytokines like TNF- α by the macrophages and adipocytes in fatty tissues, a phenomenon that has recently been shown to occur in obese dairy cows (Perlstein and Bissada, 1977; Saito and Shimazaki, 2007; Depreester et al., 2018) (Figure 2). This puts the obese individual in a pro-inflammatory state, also known as ‘metaflammation’ (Depreester et al., 2018). Moreover, TNF- α has been shown to be associated with insulin resistance in humans (Hotamisligil et al., 1995; Uysal et al., 1997; Saito and Shimazaki, 2007).

EMERGING DIGITAL DERMATITIS-LIKE LESIONS

Cross-species digital dermatitis-like appearance

Currently, DD-resembling disease manifestations among different species are emerging and are often linked to the treponemes isolated from bovine DD (Clegg et al., 2015; 2016d; Sullivan et al., 2015). In a population of wild North-American elks (*cervus elaphus*), similar treponeme phylotypes have been found



Figure 1. A primary yaws lesion on the arm of a young boy in Papua New Guinea, 2009. (Mitjà et al., 2011).

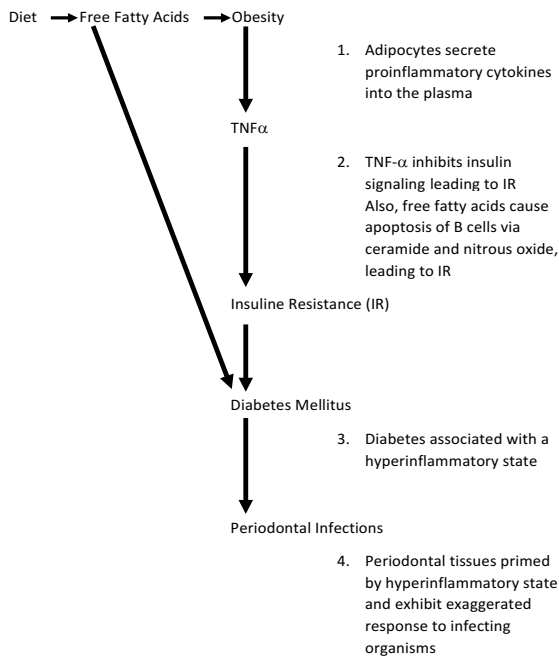


Figure 2. This scheme is a model proposed by Genco et al. (2005), linking obesity to metabolic dysregulation in humans. In human medicine, a bi-directional relationship between diabetes mellitus and treponeme-associated periodontitis has been proposed (Saito and Shimazaki, 2007). Furthermore, obesity is a risk factor for both diseases (Saito and Shimazaki, 2007).

in DD-like foot lesions (Clegg et al., 2015). Elks tend to have a large territorial range, and while travelling, they might graze on pastures where infected sheep and cattle have been before (Clegg et al., 2015). The mode of transmission is yet unknown but the presence of a digital dermatitis-like disease in wild animals raises questions regarding host specificity, transmissibility and the possibly opportunistic properties of treponemes. Contagious ovine digital dermatitis (CODD) in sheep and goats shows analogies with bovine DD based on bacterial involvement and histopathology, even though the clinical presentation is slightly different (Angell et al., 2015; Sullivan et al., 2015). An inflammatory process is observed dorsally at the level of the coronary band and frequently, there is a progressive separation of the claw horn capsule leading to claw avulsion in severe cases (Sullivan et al., 2014b; Duncan et al., 2018). Phylogenetically identical treponemes have been found in these lesions, as well as in erosive lesions on the tail, ear and flank skin of pigs (Sullivan et al., 2015; Clegg et al., 2016d). In a recent study by Wilson-Welder et al. (2018), in 14 out of 16 ovine feet infected with bovine DD material, DD-like lesions developed. These findings give rise to concerns about potential cross-species transmissibility. Digital dermatitis-associated treponemes have been detected in equine hoof canker samples (Sykora et al., 2014). Hoof canker is a proliferative pododermatitis of the sole, usually the frog region, causing abnormal horn formation. It is often misdiagnosed as thrush due to its visual resemblance (Oosterlinck et

al., 2011). The occurrence of treponemes in multiple species and in different localizations points towards a rather opportunistic nature.

Digital dermatitis-associated treponemes in other lesions in cattle

In a study by Evans et al. (2011a), DD-associated treponemes were found in most of the samples of non-healing toe necrosis, white line disease and sole ulcers. These diseases are characterized by a granulation tissue-like appearance that is refractory to standard treatment. Similar treponeme phylotypes have been found in bovine ischemic teat necrosis, open hock lesions and pressure sores (Clegg et al., 2016abc). Digital dermatitis-associated treponemes were isolated even from pressure sores of animals without DD. Stamm et al. (2009) found DD-like treponemes in ulcerative mammary dermatitis biopsies. Nevertheless, Evans et al. (2010) could not find convincing evidence of a possible link with DD. Surprisingly, DD-associated treponemes could not be identified in heel horn erosion samples despite the frequent concurrent presence of DD and heel horn erosions (Evans et al., 2011a; Gomez et al., 2015a; Smits et al., 2015). Spirochaetes hypothetically exacerbate prior tissue damage and prevent tissue repair processes, resulting in further bacterial colonization (Zuerner et al., 2007; Dashper et al., 2011). As a presumed opportunistic invader, they might play a role in lesion development and impair healing.

TREATMENT OF DIGITAL DERMATITIS

Despite the fact that DD has been acknowledged as a prevalent foot problem for over a couple of decades, this complex disease can rarely be eliminated once it has been introduced into a farm (Berry et al., 2012; Evans et al., 2016). The persistence of this disease generates the requirement to repeat treatment, which is time- and money-consuming (Laven and Logue, 2006; Berry et al., 2012). Antibiotics like tetracyclines can rapidly but temporarily resolve the lesions, which suggests bacteria play an important but not a unique role in the pathogenesis (Berry et al., 2010; Wilson-Welder et al., 2015). In a study by Beninger et al. (2018), viable treponemes were found in healing lesions five days after oxytetracycline treatment. Treatment of the acute M2 stage typically involves claw trimming and consecutively, the topical application of a (non-) antibiotic substance under a bandage (Britt et al., 1999; Laven and Logue, 2006; Berry et al., 2010; Toholj et al., 2012). Up till now, there is no protocol that successfully eliminates DD from an affected herd (Evans et al., 2016). However, some measures can be taken in order to reduce the incidence. The implementation of routine foot bathing of all animals in combination with preventive claw trimming should be considered as part of the prevention pro-

gram in an at-risk dairy farm (Toussaint Raven, 1985; Mahendran and Bell, 2015; Cook, 2017; Solano et al., 2017a). A reliable and affordable standard diagnostic laboratory test has not been developed yet, making clinical diagnosis in the trimming chute the gold standard (Solano et al., 2017b).

However, Frössling et al. (2018) developed an antibody enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) utilizing bovine serum and milk in order to assess the digital dermatitis status of a herd. The ELISA showed some promising results; however, there are some concerns regarding the use of just a few proteins of *Treponema phagedenis*. Treponemes may change their protein expression in order to evade attacks from the immune system. Due to the presence of different *Treponema* spp. in the lesions, the sensitivity of the test could be improved by including proteins of the most abundant species. Moreover, the protein cross-reactivity and the cross-sectional nature of the test are reasons for concern. Scoring lesions during milking without washing the feet makes the farmer miss 24% of DD cases on average (Oliveira et al., 2017a). This could be improved by washing the feet and by using a mirror and a headlamp during feet health assessment (Relun et al., 2011). Using locomotion scores as a parameter for diagnosing lameness is not always reliable (Frankena et al., 2009; Krull et al., 2016). In a study by Frankena et al. (2009), merely 22% of light DD cases to 43% of cattle severely affected by DD showed lameness in cubicle housing. It has been hypothesized that skin hyperalgesia is aggravated by an increase of vanilloid receptor TRPV1 fibers in the affected skin (Bonacin et al., 2017). Strangely enough, a significant increase in these fibers in the M4 stage has been documented, whereas the most painful DD stage on palpation is M2 (Bonacin et al., 2017).

Topical treatment

Acute lesions are commonly treated with a direct, topical application of (non-) antibiotic drugs (Laven and Logue, 2006). There is no standard treatment protocol available as there is no treatment that stands out regarding efficacy (Laven and Logue, 2006; Evans et al., 2016). It has been proven that bandaging combined with topical tetracycline or activated copper and zinc-chelate gel application is beneficial for the healing process and results in less chronically affected cows (Klawitter et al., 2017). In some studies, topical application of thiamphenicol, salicylic acid or polyurethane adhesive significantly improved M2 lesions to a higher extent than oxytetracycline (Fiedler et al., 2015; Holzhauser et al., 2017). Research has shown that the habitually used antibiotics are not the most efficacious substances in in vitro tests. A panel of eight antibiotic substances has been evaluated in an in vitro susceptibility test against DD-associated treponemes (Evans et al., 2009). Erythromycin and penicillin turned out to be the best substances considering they had the lowest minimum inhibitory

concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC). A more recent in vitro antibiotic susceptibility test for another battery of antibiotics, indicated amoxicillin, azithromycin and gamithromycin as the antibiotics with the lowest MIC and MBC (Evans et al., 2012a). Azithromycin is one of the alternative treatment options for human treponemal diseases such as syphilis, besides benzathin penicillin G as the drug of choice (Perine et al., 1984; Riedner et al., 2005; Marks et al., 2014). Systemic use of these drugs implicates a milk withhold period for dairy cattle. Nevertheless, these results should be interpreted with caution because in vitro susceptibility tests do not always bring forth equal in vivo results.

The emergence of antibiotic resistance and the increase in organic dairy farming have led to a growing interest in alternative treatments that do not require antibiotic substances (Laven and Logue, 2006). Moreover, antibiotics and copper sulfate possibly contaminate the soil and there is a risk for antibiotic residues in bovine products (Laven and Logue, 2006). In a trial performed by Cramer et al. (2018), individual milk samples of cows that were topically treated with oxytetracycline did not show a violation of the (USA) tolerance limit (300 ppb). However, in 11% of the individual milk samples, oxytetracycline concentrations between 100 and 300 ppb were found eight hours post-treatment. The estimated milk withdrawal interval on cow-level ranged between 0 and 34 hours when using a tolerance limit of 300 ng/mL, whereas this interval ranged from 0 to 70 hours taking 100 ng/mL as the limit value. Tetracycline was detected in 22% of the blood samples. After topical treatment, tetracycline could be found in the teat skin of all cows through direct contact with the feet or contamination with tetracycline containing milk. However, in a trial performed by Britt et al. (1999), milk samples of cows topically treated with oxytetracycline did not show a violation of the tolerance limit (300 ppb).

A substance that could be interesting in particular for organic farms is cornflower honey. In a study by Oelschlaegel et al. (2012), lesions (especially when 'fresh') significantly healed faster when 10 g cornflower honey was applied under a bandage than the lesions in the control group, which did not receive any specific treatment besides standard hoof trimming. Honey has been used for various purposes since ancient times and contains a mixture of natural substances with antibacterial, anti-inflammatory, anti-oxidative, hyperosmotic, acidic and debriding capacities (Olaitan et al., 2007). It also promotes the release of tissue growth factors. Some types of honey (e.g. Manuka honey) have been reported to be able to inhibit methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (George and Cutting, 2007). Moreover, another bee product called propolis has shown to be beneficial for the treatment of calf diarrhea and bovine mastitis (Madrás-Majewska et al., 2015). A crucial requirement for using honey for medical purposes is the validation and testing before application due to potential contamina-

Table 1. Overview of topical treatments as mentioned in the literature. This list is indicative, not limitative.

Treatment	Administration	Effect	Reference
Oxytetracycline	3 consecutive days	75% M2→M0/M4	Holzhauser et al. (2017)
Chlortetracycline	3 consecutive days, 2x/day with 30 seconds in between applications	58% M2→M0/M4	Holzhauser et al. (2011)
Lincomycin	10 g topical paste + bandage	Reduction of lesion size and pain score	Berry et al. (2012)
	25 mL topical solution (0.6 mg/mL), 2x, q48h 10 g topical + bandage	6/15 lesions were healed after 14 days	Laven et al. (2001)
		9 cows with M2 → 7 days after treatment: 8 M3, 1 M1	Chiba et al. (2017)
Thiamphenicol	3 consecutive days	89% M2→M0/M4	Holzhauser et al. (2017)
Valnemulin	25 mL topical solution (100 mg/mL), 2x, q48h	5/18 lesions were healed after 14 days	Laven et al. (2001)
Non-antimicrobial cream (soluble copper, cationic agent and peroxide)	20 mL topical cream + bandage	Reduction of lesion size (but less than lincomycin) and pain score	Moore et al. (2001)
Allyl isothiocyanate	3 g (15% solution) + bandage	As effective as lincomycin 15 cows with M2 → 7 days after treatment: 2 M4, 11 M3, 1 M1, 1 M2 and lower lameness scores	Chiba et al. (2017)
Salicylic acid	10 g + bandage	Keratolytic, anti-inflammatory, bactericidal, antiseptic	Capion et al. (2018)
Calcium hydroxide	topical + bandage	No improvement	Chiba et al. (2017)
Sodium alginate	topical + bandage	No improvement	Chiba et al. (2017)
Hydrochloric acid	36% solution topical	3/6 lesions M2 → M3 within 21 days	Read and walker (1998)
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Martius) Coville extract	Postoperative treatment (metallic iodine, iron, perchlorate, methyl salicylate, oxytetracycline + 7 days later a single brush application of coville extract	Clinical recovery rate 80- 93.3% in comparison to no extract (20-27%)	Silva et al. (2015)
Honey	10 g + bandage	Faster healing	Oelschlaegel et al. (2012)
Activated copper and zinc chelate gel	5 g on days 1, 3 and 7 Bandage for 3 days	92% M2 → M0/M4	Holzhauser et al. (2011)
Copper and zinc chelate spray	Application on day 0, 3 and 7 Bandage for 3 days	86.7% clinical improvement (M2 → M0/M1/M3/M4)	Dotinga et al. (2017)
Water + 0.2% soap solution (high pressure)	Automatic washing after milking for 2 months	Reduced DD prevalence 28.6% → 10.9% (control leg: 29.6% → 18.6%)	Thomsen et al. (2012)
Protexin hoof care (organic acids, salts, essential oils)	After application standing in dry surroundings for 30 minutes	Improvement: better epithelia- lization, decrease lameness and pain Comparable to topical tetracycline treatment	Kofler et al. (2004)

tion with microorganisms like *Proteus* spp., *Clostridium* spp. and *Bacillus* spp. (Olaitan et al., 2007; Carnwath et al., 2014). More and properly designed clinical trials are needed regarding the use of honey in bovine wound management. Another alternative that is being applied in both human and veterinary medicine, is antimicrobial photodynamic therapy (APDT), in which a photosensitizer (e.g. methylene blue) is irra-

diated to form reactive oxygen species (ROS) when oxygen is present. In a conference paper by Sellera et al. (2017), the outcome of this treatment (twice, q14 days) was positive but not significantly different from topical oxytetracycline treatment (twice, q14 days). Debridement is used by some veterinarians and farmers but the lesions have a high recurrence rate (Read and Walker, 1998; Toholj et al., 2012). In a study by

Table 2. Overview of foot bathing solutions as mentioned in the literature. This list is indicative, not limitative.

Treatment	Administration	Effect	Reference
Copper sulfate	5% solution, weekly	Improved lesions significantly	Speijers et al. (2010)
Formalin	5%, 2x/wk for 1 month	17% healing rate	Teixeira et al. (2010)
Peracetic acid	Each milking for 2 weeks and then for 6 consecutive milkings every 2 weeks. 5 minutes contact time	Prevalence M2 33% → 15.5% after 12 weeks treatment. No significant effect on severe lesions	Blowey et al. (2004)
Dragonhyde	5%, 2x/wk for 1 month	31% healing rate	Teixeira et al. (2010)
Copper sulfate	10%, 2x/wk for 1 month 5%, for 4 consecutive milkings/week. + pre-washing 2 kg/100 L water, for 1 week (daily)	24% healing rate M2 prevalence 8.8% → 3.6% (after 22 weeks) Decrease in mean lesion score (3.2 → 0.9)	Teixeira et al. (2010) Solano et al. (2017a) Laven and Hunt (2002)
Biodegradable solution containing organic acids, tea tree oil and wetting agents	3%, 5 days/wk for 9 weeks	DD frequency -18% in 9 weeks	Smith et al. (2014)
Erythromycin	0.035 g/L, 2 consecutive milkings 2x q24 h	Less pain, lameness, redness and exudation of lesion. No reduction of DD size Decrease severity of lesions	Laven and Proven (2000) Laven (2006)
1 % sodium hypochlorite	2x/day, 1 month	73.3% recovery rate	Silva et al. (2005)
Pediline (5% solution of quaternary ammonium compounds, aluminiumsulphate, coppersulphate and glutaraldehyde)	2x/day for 5 days and 1 week later 1x/day for 5 days	100 % clinical recovery	Brydl et al. (2004)
Quaternary ammonium compounds	2%, 2x/day for 2 days/wk for 8 weeks	No significant effect on healing rate	Thomsen et al. (2008)
Organic acids (peracetic acid, acetic acid, hydrogen peroxide)	1%, 2x/day for 2 days/wk for 8 weeks	No significant effect on healing rate	Thomsen et al. (2008)
Peroxide, soluble copper, cationic agent	Daily for 5 days, then 2 days no treatment and finally daily for 3 days.	26-56% improvement on day 28 (depends on the formulation) Uncertain stability of product.	Shearer and Hernandez (2000)
Glutaraldehyde	1.5%, 2x/day for 2 days/wk for 8 weeks	No significant effect on healing rate	Thomsen et al. (2008)
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Martius) Coville extract	10%, daily for 45 days	Clinical recovery rate of 66.66-86.66% in comparison to control (20-27%)	Silva et al. (2015)

Read and Walker (1998) six out of six removed lesions came back within seven to twelve weeks post-treatment. In the same study, cryotherapy was used for one lesion but it was deemed to be unsuccessful. Other non-antibiotic treatments include allylisothiocyanate, a natural *Brassicaceae* extract with antibacterial properties, and copper-chelate gel (Chiba et al., 2017; Dotinga et al., 2017) (Table 1).

Since treponemes are situated throughout the skin layers, the question rises if topical application of drugs is sufficient to completely eliminate persistent and deeply nested treponemes. In several studies, treponemes have been shown to remain in the skin after topical treatment, albeit in lower abundance (Berry et al., 2010; Capion et al., 2018). Topical treatment has the advantage over foot bathing that the active substance is much more concentrated and a lesser amount of the product should be used, causing a lower risk for environmental pollution (Shearer and Elliot, 1998).

Herd foot bathing

Foot bathing should be implemented to reduce microbial transmission and to benefit claw and skin health (Cook, 2017). Solutions used in foot baths are antibiotics and/or antiseptics. It is of crucial importance that the recommended concentration is respected, so there is no under- or overdosage, reducing the efficacy of the treatment. Solutions that are too caustic, cause skin damage of the adjacent foot skin and udder (Cook, 2017). Besides the preparation of the correct dilution of the solution, foot baths are relatively easy to use (Holzhauer et al., 2004). Foot baths should be implemented to keep the infection pressure under control at herd level rather than to treat acute lesions (Solano et al., 2017a). The design and upkeep of the foot bath are of vital importance (Cook, 2017). The ideal foot bath can be cleaned thoroughly and is easily accessible for cattle. The length should be 3.0-3.7 m, which guarantees at least two hind feet passages. Ideally, the width is 0.6 m and the step-in height 0.25 m (Cook et al., 2012; Cook, 2017). The side walls are sloped and the fluid level should be at least 0.15 m (Cook, 2017).

A high degree of soiling of the foot bath reduces its effectiveness (Hartshorn et al., 2013). Forcing the cows to walk through a dirty manure filled bath, has the opposite effect of what the farmer is trying to achieve: a good claw health. Cleaning the claws before a foot bath passage therefore improves the foot baths efficacy (Holzhauer et al., 2004). Placing a washing foot bath before the treatment-foot bath exposes the claws better to the antiseptic or antibacterial solution, reduces the contamination and thus prolongs the usage period (Manning et al., 2016). This set-up strains the manure management system and it possibly dilutes the treatment solution. Moreover, dirty feet are not cleaned sufficiently by a single passage through water (Cook, 2011). Regularly performing a

pH test to verify that the pH is between 3 and 4.5 when using an acidic solution gives an indication of the efficacy of the solution (Cook, 2017). The frequency of use depends on many factors like the number of cows on the farm, management and the claw health history. A general recommendation is to weekly foot bathe for four consecutive milkings when foot health is severely compromised and fortnightly for four consecutive milkings when the infectious foot diseases are more or less under control (Speijers et al., 2013). The frequency of foot bathing can be adjusted after a reassessment of the foot health four to six weeks after the start of the foot bathing regime (Cook, 2017). The foot bath solution should be changed approximately every two hundred cow passages, depending of the nature of the product used in the bath and the level of contamination (Cook, 2017).

Many farmers implement foot baths but there is no evidence of what product should ideally be used in the bath. Two of the most frequently used non-antibiotic solutions, formalin and copper sulfate, could potentially harm the environment and implicate animal and human health risks (Stehouwer and Roth, 2004; IARC, 2006). More importantly, the use of formalin for foot bathing is currently forbidden in Belgium, and soon, a ban on the use of copper sulfate will follow. Formalin is a potential carcinogenic substance and is notably irritating for wounds and mucosae (IARC, 2006). It easily gets inactivated by temperatures below 17°C and contamination. The major risk of using copper sulfate is environmental contamination when disposed inadequately, slowing down the soil nutrient cycle and crop growth (Stehouwer and Roth, 2004). Besides the environmental risk, it stings when applied to an acute lesion. It is possible to build a filter system in order to recuperate copper sulfate after a whole-herd foot bathing session (Müller et al., 2017). In New Zealand, a filter composed of a pump, a funnel originating from an old fertilizer spreader bin, a filter membrane and a collection tank has been described by Müller et al. (2017). They were able to recuperate 92.5% of the copper, saving 55 New Zealand dollars per foot bath. There are no antibiotic substances registered for foot bathing purposes in the EU (Laven and Proven, 2000). Besides the legal aspect, there is a lack of information regarding the efficiency and the maximum amount of cow passages before renewing (Cook, 2017). Additionally, it remains unclear how to safely dispose antibiotic solutions afterwards.

In a study by Solano et al. (2017a), the implementation of a standardized weekly 5% CuSO₄-foot bath in farms with a high prevalence of DD, significantly decreased the number of active lesions but no effect could be seen in farms with a low prevalence. Interestingly, shotgun metagenomic sequencing performed on skin biopsies has shown an increase in bacterial genes coding for zinc and copper resistance in active and chronic DD lesions (Zinicola et al., 2015a). Various non-antibiotic alternatives such as Coville

Table 3. Some antibiotics, which are systemically used against digital dermatitis. It should be noted that the use of cephalosporins in cattle should be avoided because of concerns for resistance in human medicine.

Treatment	Administration	Effect	Reference
Cefquinome	1 mg/kg IM 3-5 days	Less severe lesions	Laven (2006)
Oxytetracyclin	10 mg/kg, IM q48 h, 4x (+ 1% NaClO foot bath q12 h, 1 month)	56.67% recovery rate (86.6% recovery rate)	Silva et al. (2005)
Procain penicillin G	18 000 units/kg IM, 2 x/day for 3 days	9/9 lesions transitioned from M2 to M3 within 21 days	Read and Walker (1998)
Ceftiofur	2 mg/kg IM, daily for 3 days	41/44 lesions transitioned from M2 to M3 within 21 days	Read and Walker (1998)

extract and thymol have been examined (Kulow et al., 2015; Silva et al., 2015) (Tables 1 and 2). Thymol, a substance found in thyme, presents low MIC and MBC values in an in vitro assay with various bacteria (e.g. *Dichelobacter nodosus*, *Fusobacterium necrophorum*, *Treponema* spp.) (Kulow et al., 2015). Most studies lack a non-treated control group due to animal welfare reasons, making it difficult to fully attribute clinical healing to the treatment effect and not to spontaneous healing. There is an urgent need for an alternative, commercial foot bathing solution that neither harms the environment, the farmers nor the livestock.

Systemic treatment

Systemic treatment is usually based on antibiotics; however it is not often used due to the associated costs, milk- and meat withdrawal period and because its clinical effectiveness is uncertain (Read and Hunt, 1998; Laven and Logue, 2006; Laven, 2006). Also, the current worldwide policy to reduce the use of antibiotics, causes the use of this type of treatment for DD to be very limited (Table 3).

Claw trimming

In the pursuit of maintaining a healthy herd, claw trimming is an important part of the management at a modern dairy farm (Mahendran and Bell, 2015). Keeping data from each trimming session in a computerized database helps to identify issues in the herd so that appropriate measures can be taken (Kofler, 2013). Trimming of the claws helps to achieve the optimal claw shape and restores normal weight bearing, which lowers the risk of (non-)infectious claw diseases (Mahendran and Bell, 2015). By hollowing the axial upper part of the sole, the elimination of dirt becomes easier, which is important in the prevention of (inter) digital dermatitis; in addition, the risk of developing a sole ulcer decreases significantly (Mahendran and Bell, 2015). Moreover, heel horn erosions should be

treated because they are considered to be a reservoir for dirt and bacteria (Manske et al., 2002). In 1985, Raven (1985) recommended to keep the dorsal wall length at a minimum of 7.5 cm; however, the dorsal wall length varies according to breed, cow size and age (Raven, 1985). Using a standard, outdated measurement holds a significant risk of overtrimming. A modern approach according to a study by Archer et al. (2015), in which the authors utilized computer tomography to visualize the bovine foot, is to trim the length to 8.5 cm (minimum) for first and second parity Holstein-Friesians and up to 9.0 cm (minimum) for older Holstein-Friesian cows. The recommended toe angle is between 45° and 52°. Minimum thickness of the sole and the wall is 5 and 8 mm, respectively. Claw trimming is furthermore considered to be beneficial for the optimization of a topical treatment (Manske et al., 2002; Holzhauser et al., 2008). It is advisable to remove projective, papillomatous skin proliferation associated with DD in order to aid the healing process and to make the lesion more accessible for topical treatment (Toholj et al., 2012).

CONCLUSION

It is clear that more research needs to be performed on all facets of digital dermatitis, especially concerning the pathogenesis. Research on the deviant inflammation and the inadequate immune response to *Treponema* spp. may lead to the discovery of possible points of action, which may be addressed in order to find an adequate treatment and prevention strategy. The initial trigger for developing digital dermatitis is still unknown. More emphasis should be put on what goes wrong at the level of the local immune response. It is possible that treponemes are able to evade the immune system; it might be that the immune system of certain cows is not able to arm itself properly against treponemes. It is important not to focus solely on the bacterial component of the pathogenesis, considering that digital dermatitis cannot be eradicated by the use

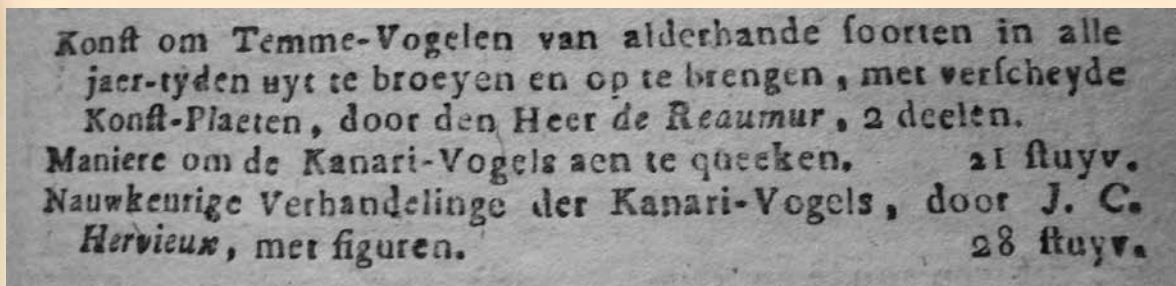
of antibiotics. The interaction between the present *Treponema* spp. and other bacterial species should be examined in order to get a clear view on the infectious element of digital dermatitis. With the currently available treatments, acute lesions can temporarily be healed but digital dermatitis keeps on circulating in the herd. This implies the need for a thorough re-assessment of the commonly used (non-)antibiotic substances. Testing the in vitro efficacy of foot bathing products, additionally with manure present to mimic

the in vivo situation, against *Treponema* spp. will aid in finding an appropriate mass treatment.

LITERATURE

An extended literature list can be obtained from the authors.

Uit het verleden



Een vroege publicatie over vogels: eieren uitbroeden en kanaries kweken. In 1789 verkrijgbaar bij de boekhandel-drukkerij Gimblet op de Gentse Korenmarkt.

Detail uit de 'Wegwijzer der Stad Gent' van dat jaar (Stadsarchief Gent – Zwarte Doos, Gentbrugge).

*Verbetering van dierenwelzijn staat nu en in de toekomst
altijd centraal in de filosofie van EICKEMEYER®*

veterinary technology for life
Eickemeyer®

Sinds onze oprichting in 1961 hebben dierenartsen geprofiteerd van onze enorme ervaring op het gebied van diergeneeskunde. Door kennis en expertise uit te wisselen met dierenartsen uit de hele wereld, ontwikkelen we voortdurend nieuwe producten. Ons assortiment omvat:

- ▶ Anesthesie
- ▶ Pet Care
- ▶ Chirurgische instrumenten
- ▶ Diagnostische apparatuur
- ▶ Endoscopie
- ▶ Oftalmologie
- ▶ Orthopedische implantaten
- ▶ Praktijkinrichting
- ▶ Radiografie
- ▶ Hygiëne en sterilisatie
- ▶ Echografie
- ▶ Verbruiksartikelen en wegwerpkleding
- ▶ Tandheelkunde gezelschapsdieren en paard



De kennis en ervaring van drie generaties Eickemeyer Duitsland, gecombineerd met de service, support, klantvriendelijkheid en eerlijk advies van team Eickemeyer NL/BE, zorgen ervoor dat wij al jaren een marktleider zijn. Wij zijn trotse sponsor van o.a. ISELP, BEVA, ECVSMR - VEPRRA en EXPOVET.

www.eickemeyer.nl

TELEFOON +31 (0) 345 - 589400



Atrial and ventricular electrical and contractile remodelling and reverse remodelling due to chronic pacing-induced atrial fibrillation in horses: preliminary results

Atriale en ventriculaire elektrische en contractiele “remodelling” en “reverse remodelling” van chronisch “pacing”-geïnduceerde atriale fibrillatie bij paarden: eerste resultaten

¹D. De Clercq, ¹A. Decloedt, ²R. Tavernier, ¹P. Deprez, ¹G. van Loon

Department of Large Animal Internal Medicine, Faculty Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

Department Cardiology, AZ Sint-Jan, Ruddershove 10, 8000 Brugge, Belgium

Dominique.DeClercq@UGent.be

ABSTRACT

In humans, electrical and contractile reverse remodelling following restoration of sinus rhythm (SR) after a prolonged period of spontaneous atrial fibrillation (AF), requires several weeks. There is little known about this phenomenon in horses.

In the present study, six healthy horses were instrumented with a neurostimulator and a pacemaker to maintain AF for four months by intermittent burst pacing and to study atrial and ventricular electrophysiology. AF became persistent in all horses after two to six weeks of burst pacing. Before, during and after the AF period, parameters, such as the atrial fibrillation cycle length, the right atrial and ventricular refractory period and vulnerability, such as inducing atrial arrhythmias, atrial tachyarrhythmias or maintaining AF, were determined. Two-dimensional echocardiography was used to measure atrial and ventricular contractility expressed as fractional shortening and size expressed as diameter and area.

In two of the six horses, the procedure was discontinued due to an increased threshold (1 horse) and due to infection at the level of the pacemaker pocket (1 horse). In the four remaining horses, significant electrical and contractile remodelling compared to baseline values was observed from 48 hours onwards after AF induction. Upon restoration of SR with quindine sulfate, all electrical and contractile values returned to normal within one to two months. No ventricular remodelling was observed.

Four months of pacing-induced AF resulted in electrical and contractile remodelling and reverse remodelling. The results suggest that pacing-induced chronic AF does not cause permanent damage and suggest that a resting period of six to eight weeks before returning to training might be beneficial.

SAMENVATTING

Na een langdurige periode van atriumfibrillatie neemt de elektrische en contractiele herstelperiode bij de mens meerdere weken in beslag. Momenteel is er maar weinig bekend over dit fenomeen bij het paard.

In de voorliggende studie werden bij zes paarden een neurostimulator en een pacemaker ingepland om atriumfibrillatie (AF) te kunnen induceren en te onderhouden via een “burst-pacing”-mechanisme; en om de atriale en ventriculaire elektrofysiologie te kunnen bestuderen. Bij alle paarden ontstond persisterende AF na “burst pacing” gedurende twee tot vier weken. Parameters, zoals de atriale fibrillatiecyclus, de rechter atriale en ventriculaire refractaire periode en de gevoeligheid van het hart voor ritmestoornissen, zoals atriale aritmieën, atriale tachyaritmieën of AF, werden zowel voor en tijdens een AF-periode van vier maanden en gedurende een herstelperiode van twee maanden opgevolgd. De

atriale en ventriculaire contractiliteit uitgedrukt in fractionele “shortening” en de grootte van de hartcompartimenten werden opgevolgd via 2D-echocardiografie.

Bij twee van de zes paarden kon de procedure niet volledig opgevolgd worden ten gevolge van te hoge drempelwaarden (1 paard) of door een infectie ter hoogte van de “pocket” (1 paard). Bij de andere vier paarden konden er reeds na 48 uur van AF significante verschillen gemeten worden ten opzichte van de basale waarden. Tijdens de herstelperiode keerden alle waarden na één tot twee maanden naar de basale waarden terug.

In dit onderzoek wordt aangetoond dat geïnduceerde chronische AF, elektrische en contractiele veranderingen teweegbrengt ter hoogte van het hart bij het paard maar dat deze veranderingen omkeerbaar zijn eens het sinusritme hersteld is. Deze resultaten suggereren dat er geen permanente schade veroorzaakt wordt door vier maanden pacing-geïnduceerde AF en dat een rustperiode van zes tot acht weken gunstig zou zijn alvorens het werk te hervatten.

INTRODUCTION

Atrial fibrillation (AF) is clinically the most important supraventricular arrhythmia in horses (Deem and Fregin, 1982; Reef et al., 1988; Reef and McGuirk, 2002). AF can cause exercise intolerance, exercise-induced epistaxis, respiratory disease, sudden weakness, syncope or death due to ventricular dysrhythmias, which can only be detected with an electrocardiogram (Deem and Fregin, 1982; Reef and McGuirk, 2002, Verheyen et al., 2013). However, AF is often an incidental finding with no clinical complaints of performance loss that might already have existed for several weeks, months or potentially years.

In the human literature, AF has been described as a self-promoting electrical disease due to electrical, contractile and structural remodelling. As a result, successful pharmacological or electrical treatment becomes more difficult the longer the AF lasts (Alessie et al., 2002; Gold et al., 1986; Schotten et al., 2003). With a neurostimulator, it is possible to induce AF in horses. With a pacemaker and ultrasound, it is possible to follow up the electrophysiological and contractile changes that appear during an AF period and during the recovery period (after restoration of sinus rhythm). Initially, it is necessary to frequently stimulate the atrium with a neurostimulator in order to maintain AF; however, after an unknown period of time, AF becomes persistent. A similar follow-up of electrophysiological and contractile remodelling and reverse remodelling of short-term AF (i.e. seven days) has already been described in healthy horses (De Clercq et al., 2008). In that study, significant atrial electrical and contractile remodelling were observed from four and twelve hours onwards, respectively. After restoration of sinus rhythm (SR), reverse remodelling was completed within two days. These data suggest that early conversion of AF might be beneficial for the success rate, and that horses successfully treated for AF, only require a short resting period before returning to training. However, because many horses in clinical circumstances suffer from an AF duration of more than seven days, information about electrical and contractile remodelling and reverse remodelling after long-term AF is valuable.

In this study, electrophysiological and two-dimensional echocardiographic changes in the atrium and the ventricle during a four-month-period of induced AF were studied. In addition, the reversibility of the alterations was evaluated after permanent restoration of SR.

MATERIALS AND METHODS

The study was performed at the Ghent University (Belgium) and was supported by the Special Research Fund, Ghent University (Belgium). This research was approved by the ethics committee of the Faculty Veterinary Medicine, Ghent University (Belgium) (ECnr: 200235).

Animal and study protocol

Six healthy, untrained trotter horses with a mean age of 4.6 ± 0.5 years, a mean weight of 485 ± 24 kg and a mean height at the withers of 156 ± 5 cm, were included in the study. Clinical examination, electrocardiography and echocardiography, including two-dimensional, M-mode and Color flow Doppler, were performed by an equine internal medicine specialist with advanced skills in cardiology (DDC) to exclude underlying heart disease.

In all horses, a dual chamber pacemaker (Thera D(R), Medtronic, Minneapolis, MN) and a neurostimulator (Soletra 7426, Medtronic) were implanted, and an induced AF period was started as previously described to determine electrophysiological parameters before the AF period (thus in SR), during the AF period of four months and during the recovery period in SR (van Loon et al., 2001 and 2002; De Clercq et al., 2008). All horses were treated with quinidine sulfate for cardioversion to SR.

With the neurostimulator, intermittent burst pacing (three times threshold, 20 Hz, every two seconds) was performed until AF was induced. The dual chamber pacemaker allowed studying atrial and ventricular electrophysiology.

The study consisted of three periods: a baseline period (for the determination of the baseline values

(Figures 1, 2 and Tables 2, 3), a four-month AF period and a two-month recovery period. An overview of the timing of all measurements during the different periods is given in Table 1. The measured values can be found in Tables 2 and 3 and in Figures 1 and 2. Measurements during the baseline period were repeated on five different days to obtain a mean value. During the AF period, electrophysiological and echocardiographic measurements were performed in AF and within twenty minutes after spontaneous restoration of SR. When SR did not restore spontaneously, ventricular effective refractory period (VERP) and echocardiographic measurements were only performed in AF as atrial effective refractory period (AERP) can only be determined during SR. AF became persistent after two (horse 1 and 3), four (horse 2) and six weeks (horse 4). From the moment all echocardiographic and/or electrophysiological measurements were obtained in SR, the pulse generator was immediately switched on again for further maintenance of AF. After a certain period of time, AF was self-entertained and was thus persistent at the end of the four-month AF period, as in all horses. Subsequently, a pharmacological cardioversion with quinidine sulfate (QS) by a nasogastric tube (22mg/kg every 2 hours) was necessary to perform the next step of the study (i.e. the follow-up after restoration of sinus rhythm). The total cumulative dose of QS administered in a two-hour increments necessary to convert to SR ranged between 22 - 66 mg/kg.

Electrophysiological measurements

A programmed electrical stimulation test was performed in the atrium and the ventricle at three times baseline threshold amplitude for stimulation. During pacing with a fixed pacing interval (S1-S1), an extra stimulus (S2) was introduced with a coupling interval (S1-S2) below the expected refractory period. The coupling interval was then prolonged in steps of 8 ms until capture of the extra stimulus occurred, i.e. the atrial or ventricular S2 was followed by a P wave or QRS complex on the surface base-apex ECG, respectively. The longest S1-S2 interval without capture in the atrium or the ventricle was taken as AERP or VERP. As AERP changes with heart frequency, it was measured at pacing cycle lengths (PCL) of 1000 ms (60 beats/min), 800 ms (75 beats/min), 500 ms (120 beats/min) and 333 ms (180 beats/min). VERP was also measured at PCL of 1000, 800 and 500 ms. Two minutes of basic pacing was performed before starting to measure ERP (van Loon et al., 2002, De Clercq et al., 2008). At each PCL, AERP and VERP were determined three times to obtain a mean value. The atrial fibrillation cycle length (AFCL) was measured as the average time between two successive atrial depolarizations on a ten-second-intra-atrial electrogram.

The presence of arrhythmias during the AF induction period was evaluated via a standard base-apex electrocardiogram.

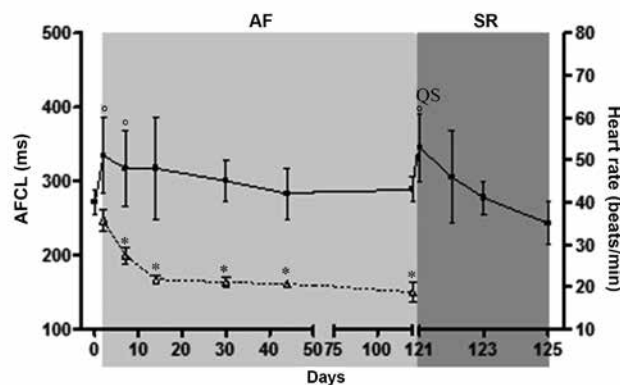


Figure 1. Mean (\pm SD) atrial fibrillation cycle length (AFCL; Δ -) and heart rate (HR; \square -) at baseline, during the AF period (light grey) and during recovery time (dark grey) in four horses. QS: treatment with quinidine sulfate. * = AFCL significantly different compared to the first AFCL measurement in the AF period ($p < 0.05$), \circ = significantly different compared to baseline measurement ($p < 0.05$).

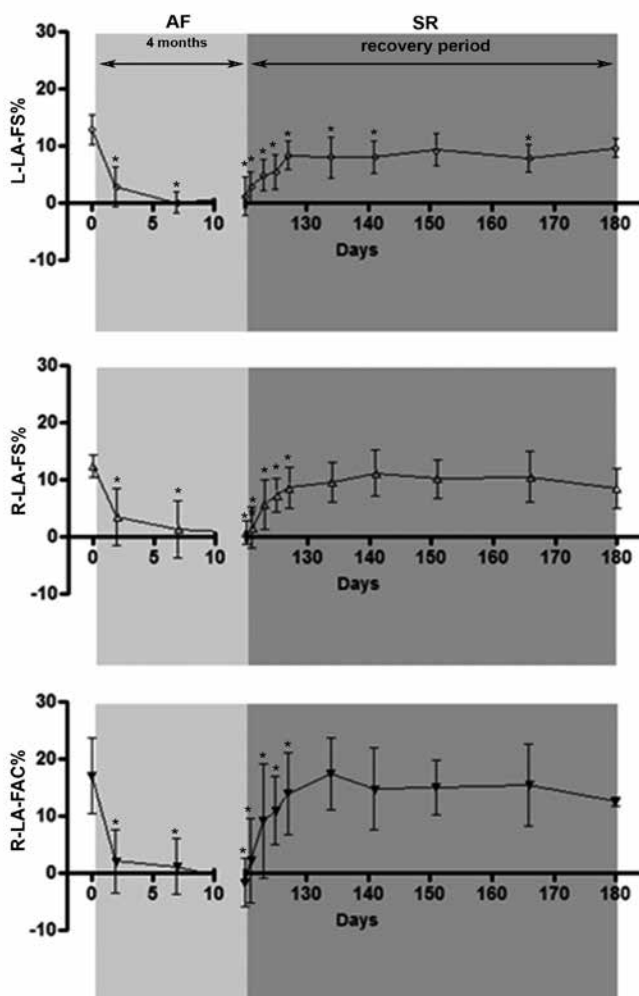


Figure 2. Left atrial fractional shortenings (FS%) (mean \pm SD) measured from the left (LLA-FS%) and from the right (LA-FS%) echocardiographic view and fractional area change (FAC%) at baseline during the AF period (light grey) and during recovery time (dark grey). * = significantly different compared to baseline.

Table 1. Overview of the timing of all measurements during the different periods. AF period is represented in light green and the recovery time period in dark green.

	Baseline	2d	1w	2w	4w	6w	4m	After QS	1d	3d	5d	1w	2w	3w	1m	1.5m	2m
Heart rhythm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Heart rate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AFCL		+	+	+	+	+	+										
AERP	+	+				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Echocardiography	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

QS: quinidine sulfate

d: days, w: weeks, m: months

Table 2. Mean (\pm SD) atrial effective refractory period (AERP) at pacing cycle length of 1000, 800, 500 and 333 ms and ventricular refractory period (VERP) at pacing cycle length of 1000, 800 and 500 ms during the AF period (light green) and during the recovery time period (dark green) in four horses.

	ERP 1000	AERP 800	AERP 500	AERP 333	VERP 1000	VERP 800	VERP 500
Baseline	256 \pm 22	254 \pm 24	249 \pm 28	226 \pm 23	358 \pm 11	322 \pm 15	251 \pm 18
2d	185 \pm 37*	184 \pm 38*	193 \pm 32*	182 \pm 27*	400 \pm 35*	349 \pm 41	258 \pm 45
1w	163 \pm 23*	168 \pm 21*	171 \pm 24*	165 \pm 28*	374 \pm 31	333 \pm 24	253 \pm 14
After QS	219 \pm 16*	225 \pm 30	248 \pm 30	148 \pm 08*	388 \pm 35	372 \pm 33*	276 \pm 36
1d	241 \pm 13	249 \pm 10	243 \pm 05	224 \pm 09	401 \pm 21*	346 \pm 14	251 \pm 19
3d	243 \pm 21	247 \pm 14	239 \pm 06	205 \pm 07	395 \pm 26*	355 \pm 13*	266 \pm 10
5d	250 \pm 21	251 \pm 17	245 \pm 07	208 \pm 10	395 \pm 21*	354 \pm 09	268 \pm 08
1w	248 \pm 13	246 \pm 14	242 \pm 07	206 \pm 07	383 \pm 30	345 \pm 23	262 \pm 21
2w	257 \pm 16	255 \pm 11	245 \pm 12	212 \pm 09	396 \pm 24*	365 \pm 20*	265 \pm 09
3w	255 \pm 14	255 \pm 07	241 \pm 11	214 \pm 13	395 \pm 20*	353 \pm 18	259 \pm 12
1m	255 \pm 21	255 \pm 18	245 \pm 16	209 \pm 15	404 \pm 12*	356 \pm 13*	262 \pm 13
1.5m	264 \pm 13	260 \pm 07	255 \pm 09	215 \pm 09	392 \pm 16*	353 \pm 20	265 \pm 18
2m	260 \pm 15	259 \pm 14	246 \pm 17	214 \pm 13	390 \pm 23*	351 \pm 13	261 \pm 08

QS: quinidine sulfate

* = significantly different from baseline ($p < 0.05$)

d: days, w: weeks, m: months

Echocardiographic views and measurements

Echocardiographic views were obtained using standardized imaging techniques with a 2.5 MHz sector transducer at a depth of 30 cm (GE Vingmed CFM 800 SV). A single-lead electrocardiogram was recorded simultaneously. Recordings were stored digitally and on video tape for retrospective analysis.

Every echocardiographic variable was determined from five cardiac cycles to obtain a mean value. Measurements were performed in SR at baseline, during the AF period (if SR restored spontaneously), and during the recovery period (in SR). Cycles during and immediately after a second-degree atrioventricular block or a spontaneous atrial premature beat were excluded from analysis. During the AF period, measurements were performed in AF. Measurements were performed at an RR interval between 1333 to 1090 ms (or a heart frequency between 45 to 55 beats/min). This is the heart rate that is most frequently seen in horses with spontaneous AF.

Left atrial dimensions were measured on a left parasternal view and a right parasternal long-axis

view. Left atrial inner diameter was measured on a left parasternal view close to the annulus of the mitral valve (L-LAD). On a right parasternal long-axis view, internal diameters were measured from the interatrial septum, close to the mitral annulus, to the atrial free wall (R-LAD). In the same view, a cross-sectional area (R-LAA) was measured (De Clercq et al., 2008). For every cardiac cycle, four-time points were determined to perform all these measurements: point "p" was at the onset of the P wave; point "a" was during maximal atrial contraction indicated by smallest atrial volume, point "d" was at the end of the ventricular diastole at the moment the mitral valve had just been closed, and point "s" was at the end of ventricular systole. Due to the absence of a P wave and an atrial contraction, points "p" and "a" could not be determined during AF.

Left atrial fractional shortening (LA-FS%) and left atrial fractional change (LA-FAC%) were calculated as follows (Piotrowski et al., 2000):

$$LA - FS\% = \frac{LADp - LADa}{LADp} \times 100$$

$$LA - FAC\% = \frac{LAAp - LAAa}{LAAp} \times 100$$

On a standard M-mode of the ventricles, the left ventricular internal diameter, the interventricular septal thickness and the left ventricular free wall thickness were measured in diastole and systole; and the left ventricular fractional shortening was calculated. Color flow Doppler examinations of the mitral, tricuspid, aortic and pulmonic valves were performed. All ECG recordings were performed with the electrodes in a standard base apex position for horses. No cardiac enzyme activity was followed during this study.

Statistical analysis

Data are shown as mean ± standard deviation. First, a linear mixed model (univariate analysis of variance) was applied with ‘horse’ as random effect and ‘time’ as categorical fixed effect, at a significance level of 5%. If the effect of time was significant, a post hoc Dunnett’s test was performed to compare all time points to the baseline value at time zero to adjust for multiple comparisons, at a significance level of 5%. Heart rate and echocardiographic measurements of LA dimensions in SR and in AF were compared using a linear mixed model with ‘time’ and ‘rhythm’ (SR or AF) as fixed factors and ‘horse’ as the unit of repeated measure.

RESULTS

After pacemaker implantation, two horses were excluded from the study protocol due to an increased

threshold of the pacemaker lead; this lead was used for the electrophysiological measurements (1 horse), and one due to infection at the level of the pacemaker pocket (1 horse). In the first case, the pacemaker and the leads were removed; in the second case, the pacemaker leads and the pacemakers were removed and an antimicrobial treatment was started. Both horses recovered successfully. In the other four horses, AF could be successfully induced and maintained using the intermittent burst pacing protocol. AF became persistent after two (horses 1 and 3), four (horse 2) and six weeks (horse 4) of maintenance by burst pacing; thus, the horses became vulnerable for AF over time. All horses were successfully converted to SR after a total of two or three doses of QS at a two-hours’ interval. One horse (horse 2) showed widening of the QRS complex and tachycardia after the second dose of QS. In two horses (horse 1 and 4), an electrocardiogram showed that atrial premature complexes were present until three weeks after restoration of SR.

Electrophysiological measurements

Except for horse 2, atrial programmed electrical stimulation could be performed according to the predefined protocol. In horse 2, atrial threshold had risen above the maximum output levels of the pacemaker when SR was restored after four months of AF. There-fore, in horse 2, electrical measurements during the recovery period were performed with a temporary pacing catheter (Bipolar Intracardiac Electrode, USCI) using the same pacing protocol. In all

Table 3. Mean (±SD) echocardiographic measurements before, during the AF period (light green), and after restoration to sinus rhythm (dark green). L-LAD: left atrial diameter measured from a left parasternal long-axis view. R-LAD: left atrial diameter measured from a right parasternal long-axis view. R-LAA: left atrial area measured from a right parasternal long-axis view. d: end ventricular diastole, s: end ventricular systole.

	Left parasternal long-axis view	Left parasternal long-axis view	Right parasternal long-axis view	Right parasternal long-axis view	Right parasternal long-axis view	Right parasternal long-axis view
	LLADd	LLADs	LADd	LADs	LAA d	LAA s
Baseline	9.1±0.3	10.4±0.4	8.8±0.5	9.7±0.6	41.4±6.7	55.1±5.8
2d	8.2±0.9	9.9±0.8	8.4±0.8	8.7±0.8*	41.1±9.8	45.3±7.6*
1w	9.0±0.9	10.0±0.8	8.3±0.9	8.7±0.9*	41.2±8.5	45.7±6.7*
Just after QS	9.8±1.0*	10.6±0.8	9.1±0.9	9.8±0.8	50.0±11.6*	58.93±10.6
1d	9.5±0.8	10.5±0.7	9.3±1.0	10.0±0.9	49.3±10.5	59.7±10.6
3d	9.5±0.8	10.5±0.7	9.3±0.9	9.9±0.9	49.3±10.5	59.7±10.6
5d	9.4±0.7	10.4±0.7	8.9±0.7	9.5±0.8	47.3±7.2	57.2±8.6
1w	8.9±0.6	10.2±0.7	8.6±0.5	9.6±0.7	46.1±8.0	55.1±6.9
2w	9.1±1.0	10.4±1.1	8.6±0.7	9.6±0.9	43.86±6.9	55.1±8.8
3w	9.1±1.2	10.3±0.7	8.4±0.8	9.2±1.0	43.4±8.8	52.5±8.8
1m	8.9±0.9	10.2±0.7	8.5±0.7	9.4±0.9	42.7±6.5	53.4±5.3
1.5m	9.0±0.8	10.1±0.9	8.4±0.8	9.4±0.7	42.5±7.6	53.7±9.5
2m	9.0±0.9	10.1±0.8	8.5±0.8	9.24±0.9	41.6±9.2	53.6±9.2

QS: quinidine sulfate

* significantly different from baseline (p<0.05).

d: days, w: weeks, m: months

horses the threshold of the ventricular lead increased slightly during the AF period, which resulted in borderline stimulations (just below three times baseline threshold) during the ventricular programmed electrical stimulation studies.

Atrial fibrillation

After one day of maintained AF, the mean AFCL of the four horses was 243 ± 13 ms and decreased to 151 ± 15 ms after four months of AF. From two days onwards, there was a significant decrease of AFCL (Figure 1). A significantly increased heart rate was only observed during the first week of AF and on the day of quinidine treatment (Figure 1). There was no significant difference between the heart rate measured at the same time point in SR or in AF during the AF period (data not visible).

Atrial electrophysiology

At baseline, AERP was 256 ± 22 ms, 254 ± 24 ms, 249 ± 28 ms and 226 ± 23 ms at a pacing CL of 1000, 800, 500 and 333 ms, respectively. After one week of maintained AF, AERP had shortened significantly (Table 2). Quinidine treatment resulted in an immediate significant increase of AERP. One day was necessary to achieve AERP baseline values after the pharmacological treatment (Table 2). Shortening of AERP (during the AF-period) was associated with atrial premature beats, atrial tachycardia or a period of short-term AF. The presence of atrial premature beats, atrial tachyarrhythmias or short-term AF varied per individual horse.

Ventricular electrophysiology

At baseline, VERP was 358 ± 11 ms, 322 ± 15 ms and 251 ± 18 ms for a CL of 1000, 800 and 500 ms, respectively (Table 2). A significant increase of VERP for a CL of 1000 and 800 occurred during the recovery period. VERP measurements were never associated with ventricle tachycardia or ventricle fibrillation.

Echocardiographic measurements

Four months of AF did not result in a significant increase of R-LADd, L-LADd, R-LADs, L-LADs, R-LAAd and R-LAAs.

R-LA-FS%, L-LA-FS% and R-LA-FAC% had already decreased significantly within two days of maintained AF ($p < 0.0001$). After one week of AF, the atrial contractile function was almost completely absent. Values recovered within one to two months of restoration of SR (Figure 2).

The left atrial sizes measured during AF were comparable with the sizes measured in SR at the comparable time point (only measurements performed during AF are given in Table 3).

No significant changes were observed in inter-ventricular septal thickness, left ventricular free wall thickness, left ventricular internal diameters nor in left ventricular fractional shortening throughout the study. Color flow Doppler of all valves revealed no differences compared to baseline (there were no pathological valvular regurgitations present before, during or after the study).

DISCUSSION

In the present study, electrical and contractile remodelling was evaluated during an artificially induced chronic AF model in horses. The major findings of this study were: (1) pacing-induced AF resulted in atrial electrical and contractile remodelling; (2) AFCL decreased significantly during the first fourteen days of AF and remained significantly lower throughout the AF period; (3) two-dimensional ultrasound did not allow to demonstrate significant differences in atrial size; (4) electrical reverse remodelling after pharmacological conversion of sinus rhythm appeared faster than contractile reverse remodelling.

Horses with naturally occurring AF are frequently presented with subacute (two weeks) or chronic AF. In addition, these horses are commonly classified as 'lone' fibrillators, because echocardiography reveals no or only clinically non-relevant abnormalities. The purpose of the present study was to examine 'lone' AF in horses. Therefore, young and healthy horses were selected without abnormalities on clinical examination, electrocardiography at rest and during exercise and echocardiography including two-dimensional ultrasound, M-mode and Color flow Doppler. Clinical examination, electrocardiography during rest and exercise and echocardiography was performed by an equine internal medicine specialist with advanced skills in cardiology (DDC).

The burst pacing protocol was effective to induce and maintain AF in four out of six horses (two horses were left out of the study due to increased threshold and infection of the pacemaker pocket) even though two of the four remaining horses needed a period of pacing (horse 2: four weeks; horse 4: six weeks) before AF became persistent. Besides the measurements made during AF, brief periods of spontaneously restored SR allowed to make electrophysiological measurements during normal SR during the first eight days of the protocol in all horses without any administration of drugs. However, persistent AF appeared after 8, 28, 10 and 42 days for horse 1, 2, 3 and 4, respectively. The progressive increase in susceptibility for AF has also been shown in experimentally induced atrial fibrillation in ponies, goats and dogs (Morillo et al., 1995; Wijffels et al., 1995; van Loon et al., 2001). In the study by Morillo et al. (1995), a six-weeks' episode of rapid atrial pacing induced AF lasting for more than 15 minutes in 82% of the studied dogs; while

in a study by van Loon et al. (2002), six months of burst pacing resulted in persistent AF in only one of four research ponies. The fact that horses have more tendency to fibrillate than small animals, i.e. dogs, ponies, can be explained, at least in part, because horses have a larger atrial size. This explains why naturally occurring AF is more frequently encountered in horses than in ponies (Else and Holmes, 1971; Bertone and Wingfield, 1987; Detweiler, 1989). The old multiple wavelet re-entry theory of Moe (1962) partially explains why AF has more tendency to persist in larger atria. In this theory, Moe (1962) described that the presence of AF is dependent on the possibility of the atrium to maintain a critical number of re-entry circuits. The development therefore depends on the atrial diameter and the size of the re-entry circuits. This re-entry circuit size is expressed as the wavelength (WL) of re-entrant circuits and is defined by the AERP and conduction velocity (CV) ($WL = AERP \times CV$). AF develops more easily if the atrial diameter is larger and/or the wavelength is shorter; thus, if the AERP or the CV decreases.

In humans and dogs, AF is characterized by a rapid and irregular ventricular response. However, during atrial flutter, which is accompanied by a slower atrial rate, a higher ventricular response is often seen since more atrial impulses are transmitted to the ventricles probably due to less concealed conduction at the atrio-ventricular node (Hnatkova et al., 1998; Miller et al., 1999; King et al., 2002; Silbauer and Sulke, 2007). In the horses of the present study, only a significant increased heart rate during the first week of AF was observed.

The decrease in AFCL might be explained by an increase in the number of wavelets due to the shortening of the AERP with the increasing duration of AF (Moe, 1962).

In the horses of the present study, a significant increase in VERP during the AF period and during the recovery period was observed. During the study, there was a small increased threshold of the ventricular lead, whereby maximal pacemaker output was needed to reach three times threshold amplitude. This technical limitation might, in part, explain the increased VERP since borderline or submaximal power can affect VERP values.

A shortening of AERP and a reduction of atrial contractility during the first hours and days of AF induction has been observed in dogs, goats, horses and humans (Olsson et al., 1971; Cotoi et al., 1972; Wijffels et al., 1995; Franz et al., 1997; Schotten and Allessie, 2001; Allessie et al., 2002; Schotten et al., 2003; Schwarzwald et al., 2007; Thanigaimani et al., 2017). In an AF-induced model in goats, a new steady state of atrial refractory period appeared after two to three days and atrial contractile function was almost completely lost after two days (Wijffels et al., 1995). This shortening of AERP leads to an increased vulnerability for AF, which can eventually lead to persistent

AF (Wijffels et al., 1995). In a study by Allessie et al., (2002), reverse electrical remodelling was still completely reversible in goats after months or even years of AF. It took only a few days for AERP to become normal again after seven weeks of AF (Allessie et al., 2002). After a six-week AF period, atrial contractile function was recovered one month after conversion in human patients (Manning et al., 1994). Similar changes were observed during the present study in horses.

The occurrence of atrial premature beats after conversion, as observed in the horses of the present study, has also been described in humans (Maounis et al., 2001) and is also observed in some horses who were treated for naturally occurring AF. The pathophysiology of electrical and contractile remodelling is quite complex and is only partly understood, but calcium levels and the sensitivity of calcium channels to calcium play a major role. Atrial tachycardia induces intracellular calcium overload followed by a downregulation of the L-type calcium channels and a subsequent reduction of sarcolemmal calcium influx. This eventually results in a shortening of the AERP or a loss of the plateau phase of the action potential (Yue et al., 1997; Yue et al., 1999).

The short refractory period results in a reduction of wavelength, which increases the vulnerability for AF. However, this could not explain the subsequent decreased efficacy of cardioversion and maintenance of SR in chronically instrumented goats with prolonged AF duration, because atrial remodelling appears rather quickly (Wijffels et al., 1995). Possibly, one or more other factors may be involved in the increase in vulnerability for AF. One of these factors is loss of the atrial contractile function (Tieleman and Crijns, 2000; Thanigaimani et al., 2017; Thomas and Abhayaratna, 2017). In humans, this process also occurs due to alterations in cellular calcium handling (Sun et al., 1998). In addition, this contractile dysfunction may lead to atrial paralysis and an increase in compliance of the atria. Subsequently, this may cause dilatation of the atria during the course of several days to weeks of AF (Schotten and Allessie, 2001; Thomas and Abhayaratna, 2017). In the four horses of the present study, a rapid decline of AERP and a loss of atrial contractile function with an increase in vulnerability were also observed. In the artificial AF model used in the present study, the increase in atrial size was not significant in the four horses. AF became persistent in each horse necessitating cardioversion.

In humans, atrial contractile dysfunction has been suggested to delay the improvement in exercise intolerance after cardioversion, and may influence the recurrence of AF (Harjai et al., 1997; Khan, 2003; Schotten et al., 2003). It is not known whether this delay in exercise intolerance also applies for horses. However, in a study in horses with naturally occurring chronic AF (1.5-24 months), the atrial contractile function was restored seven weeks after conversion, although the atrial dimensions were still increased

compared to the reference values of normal horses (Decloedt et al., 2013).

LIMITATIONS OF THE STUDY

In this preliminary study, two of the six horses could not complete the study due to technical problems. Therefore, the results regard a very small study population. In addition, the study was not blinded and a control group was absent.

CONCLUSION

The results of this study indicate that, in the four healthy horses, experimentally induced AF brings about rapid electrophysiological and contractile remodelling. In each horse, self-entertaining and thus persistent AF appeared after one to six weeks of intermittent burst pacing. After pharmacological restoration to SR, rapid electrical reverse remodelling and a slower normalization of atrial contractility were observed within a few weeks. This study indicates that induced chronic, pacing-induced AF does not suggest permanent electrical alterations and that reverse remodelling is still possible after a chronic, pacing-induced AF period of four months.

REFERENCES

- Allessie M., Ausma J., Schotten U. (2002). Electrical, contractile and structural remodeling during atrial fibrillation. *Cardiovascular Research* 54, 230-246.
- Bertone J.J., Wingfield W.E. (1987). Atrial fibrillation in horses. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 9, 763-771.
- Cotoi S., Gavilescu S., Pop T., Vicas E. (1972). The prognostic value of right atrium monophasic action potential after conversion of atrial Fibrillation. *European Journal of Clinical Investigation* 2, 472-474.
- De Clercq D., van Loon G., Tavernier R., Duchateau L., Deprez P. (2008). Atrial and ventricular electrical and contractile remodeling and reverse remodeling owing to short-term pacing-induced atrial fibrillation in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22, 1353-1359.
- De Clercq D., van Loon G., Schauvliege S., Tavernier R., Baert K., Croubels S., De Backer P., Deprez P. (2008b). Transvenous electrical cardioversion of atrial fibrillation in six horses using custom made cardioversion catheters. *Veterinary Journal* 177, 198-204.
- Decloedt A., Verheyen T., Van Der Vekens N., Sys S., De Clercq D., van Loon G. (2013). Long-term follow-up of atrial function after cardioversion of atrial fibrillation in horses. *Veterinary Journal* 197, 583-588.
- Deem D.A., Fregin G.F. (1982). Atrial fibrillation in horses: a review of 106 clinical cases, with consideration of prevalence, clinical signs, and prognosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 180, 261-265.
- Detweiler D.K. (1989). The mammalian electrocardiogram: comparative features. In: Macfarlane PW and Veitch Lawrie TD (editors). *Comprehensive Electrocardiology*. Second edition, Pergamon press, New York, p. 1332-1377.
- Else R.W., Holmes J.R. (1971). Pathological changes in atrial fibrillation in the horse. *Equine Veterinary Journal* 3, 56-64.
- Franz M.R., Karasik P.L., Li C., Moubarak J, Chavez M. (1997). Electrical remodeling of the human atrium: similar effects in patients with chronic atrial fibrillation and atrial flutter. *Journal of American College of Cardiology* 30, 1785-1792.
- Gold R.L., Haffajee C.I., Charos G., Sloan K., Baker S., Alpert J.S. Amiodarone for refractory atrial fibrillation. *American Journal of Cardiology* 57, 124-127.
- Harjai K.J., Morabek S.K., Cheirif J., Boulos L.M., Murgu J.P., Abi-Samra F. (1997). Clinical variables affecting recovery of left atrial mechanism function after cardioversion from atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology* 30, 481-486.
- Hnatkova K., Murgatroyd F.D., Alferness C.A., Camm A.J., Malik M. (1998). Distribution of fast heart rate episodes during paroxysmal atrial fibrillation. *Heart* 79, 497-501.
- Khan I.A. (2003). Atrial stunning: Basics and clinical considerations. *International Journal of Cardiology* 92, 113-128.
- King D.E., Dickerson L.M., Sack J.L. (2002). Acute management of atrial fibrillation: Part I. rate and rhythm control. *American Family Physician Journal* 66, 249-256.
- Manning W.J., Silverman D.I., Katz S.E., Riley M.F., Come P.C., Doherty R.M., Munson J.T., Douglas P.S. (1994). Impaired left atrial mechanical function after cardioversion: relation to the duration of atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology* 23, 1535-1540.
- Maounis T., Kyrozo E., Katsaros K., Bilianou E., Vassilikos V.P., Manolis A.S., Cokkinos D. (2001). The prognostic significance of atrial arrhythmias recorded early after cardioversion for atrial fibrillation. *Pacing and Clinical Electrophysiology* 24, 1076-1081.
- Miller J.M., Jayachandran J.V., Coppess M.A. (1999). Optimal management of the patient with chronic atrial fibrillation whom to convert? *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 10, 442-449.
- Moe G.K. (1962). On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie* 140, 183-188.
- Morillo C.A., Klein G.J., Jones D.L., Guiraudon C.M. (1995). Chronic rapid pacing. Structural, functional, and electrophysiological characteristics of a new model of sustained atrial fibrillation. *Circulation* 91, 1588-1591.
- Olsson S.B., Cotoi S., Varnauskas E. (1971). Monophasic action potential and sinus rhythm stability after conversion of AF. *Acta Medica Scandinavica* 190, 381-387.
- Piotrowski G., Goch A., Wlazlowski R., Gawor Z., Goch J.H. (2000). Non-invasive methods of atrial function evaluation in heart diseases. *Medicine Scientific Monitoring* 6, 827-839.
- Reef V.B., Levitan C.W., Spencer P.A. (1988). Factors affecting prognosis and conversion in equine atrial fibrillation. *Journal Veterinary Internal Medicine* 2, 1-6.
- Reef V.B., McGuirk S.M. (2002). Diseases of the cardiovascular system. Atrial fibrillation. In: Smith B.P. (editor). *Large Animal Internal Medicine*. Third edition, Mosby Harcourt, St Louis, p. 471-474.
- Schotten U., Allessie M. (2001). Electrical and contractile remodeling during atrial fibrillation go-hand-in-hand. *Pace* 24, 572.

- Schotten U., Duytschaever M., Ausma J., Eijsbouts S., Neuberger H.R., Allessie M. (2003). Electrical and contractile remodelling during the first days of atrial fibrillation go hand in hand. *Circulation* 107, 1433-1439.
- Schotten U., Neuberger H.R., Allessie M.A. (2003). The role of atrial dilatation in the domestication of atrial fibrillation. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 82, 151-162.
- Schwarzwald C.C., Schober K.E., Bonagura J.D. (2007). Echocardiographic evidence of left atrial mechanical dysfunction after conversion of atrial fibrillation to sinus rhythm in 5 horses. *Journal Veterinary Internal Medicine* 21, 820-827.
- Silberbauer J., Sulke N. (2007). The role of pacing in rhythm control and management of atrial fibrillation. *Journal of Internal Electrophysiology* 18, 159-186.
- Sun H., Gaspo R., Leblanc N., Nattel S. (1998). Cellular mechanisms of atrial contractile dysfunction caused by sustained atrial tachycardia. *Circulation* 98, 719-727.
- Thanigaimani S., McLennan E., Linz D., Mahajan R., Agbaedeng T.A., Lee G., Kalman J.M., Sanders P., Lau D.H. (2017). Progression and reversibility of stretch induced atrial remodeling: Characterization and clinical implications. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 130, 376-386.
- Thomas L., Abhayaratna W.P. (2017). Left atrial reverse remodeling: mechanisms, evaluation, and clinical significance. *Journal of Cardiovascular Imaging* 10, 65-77.
- Tieleman R.G., Crijns H.J. (2000). The second factor of tachycardia-induced atrial remodeling. *Cardiovascular Research* 46, 364-366.
- van Loon G., Deprez P., Duytschaever M., Fonteyne W., Tavernier R., Jordaens L. (2001). Effect of experimental chronic atrial fibrillation in equines. In: van Loon G. (editor). *Atrial Pacing and Experimental Atrial Fibrillation in Equines*. Ghent University, Ghent, p. 161-206.
- van Loon G., Duytschaever M., Tavernier R., Fonteyne W., Jordaens L., Deprez P. (2002). An equine model of chronic atrial fibrillation: methodology. *Veterinary Journal* 164, 142-150.
- Verheyen T., Declodt A., van der Vekens N., Sys S., De Clercq D., van Loon. (2013). Ventricular response during lungeing exercise in horses with lone atrial fibrillation. *Equine Veterinary Journal* 45, 309-314.
- Wells J.L., Karp R.B., Kouchoukos N.T., MacLean W.A., James T.N., Waldo A.L. (1978). Characterization of atrial fibrillation in man: studies following open heart surgery. *Pacing Clinical Electrophysiology* 1, 426-438.
- Wijffels M.C., Miller C.W., Voss J.L. (1995). Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 92, 1954-1968.
- Yue L., Feng J., Gaspo R., Wang Z., Nattel S. (1997). Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation. *Circulation Research* 81, 512-525.
- Yue L., Melnyk P., Gaspo R. (1999). Molecular mechanisms underlying ionic remodeling in a dog model of atrial fibrillation. *Circulation Research* 84, 776-784.

Immune-mediated hemolytic anemia associated with chronic fibrosing mediastinitis in an Arabo-Friesian horse

Immuungemedieerde hemolytische anemie geassocieerd met chronisch fibroserende mediastinitis bij een Arabo-Fries paard

¹C. Ribonnet, ²V. Saey, ²R. Ducatelle, ²K. Palmers

¹Dierenkliniek De Morette, Edingssteenweg 237, B-1730 Asse

²Vakgroep Pathologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

caroline.ribonnet@demorette.be

ABSTRACT

In this report, a ten-year-old gelding with immune-mediated hemolytic anemia associated with chronic fibrosing mediastinitis of unknown origin is described. The patient suffered from chronic weight loss and intermittent diarrhea for already several months. He was presented with severe anemia, anorexia and fever of a 24-hour onset. A direct Coombs test was highly positive for IgG auto-agglutination. No evidence of an underlying process was found on clinical examination. Post-mortem examination revealed green liquid material containing food particles in the cranial mediastinum and histology suggested chronic fibrosing mediastinitis. Even though perforation of the esophagus is a plausible cause, no signs of esophageal rupture were noted on macroscopic examination. This case shows that non-responsive, immune-mediated hemolytic anemia can be due to an undetected underlying disease, such as chronic mediastinitis.

SAMENVATTING

In deze casuïstiek wordt een tienjarige ruïn beschreven met immuungemedieerde hemolytische anemie geassocieerd met chronische fibroserende mediastinitis van onbekende oorsprong. De patiënt leed aan chronisch gewichtsverlies en intermitterende diarree en werd aangeboden in de kliniek met uitgesproken anemie, anorexie en koorts die reeds 24 uur aanwezig was. Een directe Coombs' test was sterk positief voor IgG-autoagglutinatie. Bij het klinisch onderzoek werd geen onderliggend pathologisch proces van de immuungemedieerde hemolytische anemie gevonden. Post-mortemonderzoek toonde groene vloeistof met voedselpartikels in het craniale mediastinum aan. Histologisch onderzoek suggereerde chronische fibroserende mediastinitis. Hoewel slokdarmperforatie hiervoor een mogelijke oorzaak is, werden bij macroscopisch onderzoek geen tekenen van ruptuur waargenomen. In deze casereport wordt aangetoond dat bij niet-responsieve, immuungemedieerde hemolytische anemie, een niet-gedetectedeerde onderliggende pathologie, zoals chronische mediastinitis, aanwezig kan zijn.

INTRODUCTION

Hemolysis refers to the intravascular or extravascular destruction of erythrocytes. Extravascular hemolysis, where red blood cells are phagocyted by macrophages in the spleen, liver and bone marrow, is always present with hemolytic anemia. Intravascular hemolysis refers to the lysis of red blood cells within the circulation, resulting in hemoglobinemia and hemoglobinuria (Valdez et al., 2015). Hemolysis can be immune-mediated (IMHA) or may occur secondary

to infectious disease, oxidative injury, toxicities or congenital enzyme defects (Stockham et al., 1994; McCullough, 2003; Dunkel, 2018).

IMHA or antibody-mediated destruction of red blood cells can occur primary or secondary. Primary IMHA occurs when antibodies are directed against an intact erythrocyte surface. Examples of primary IMHA are neonatal isoerythrolysis, hemolysis after blood transfusion and hemolysis as part of autoimmune disorders like systemic lupus erythematosus (Geor et al., 1990; Dunkel, 2018). IMHA is classified

as idiopathic when it is of unknown origin (Dunkel, 2018).

Secondary IMHA occurs when antibodies react against an antigenically altered erythrocyte surface (Stockham and Scott, 2008; Dunkel, 2018). This has been reported after administration of certain drugs. Several cases associated to penicillin (Blue et al., 1987; Step et al., 1991; McConnico et al., 1992; Robbins et al., 1993) and potentiated sulfonamides have been documented in horses (Thomas and Livesey, 1998; Brumbaugh, 2001; Stockham and Scott, 2008; Cudmore et al., 2015; Dunkel, 2018). Certain infectious agents can induce secondary IMHA, e.g. *Rhodococcus equi* (Johns et al., 2011), *Clostridium perfringens* (Reef, 1983; Weiss and Moritz, 2003, Cottle and Hughes, 2010; Anderson et al., 2013), *Streptococcus equi* subspecies *equi* (Caniglia et al., 2014), and equine infectious anemia virus (Sellon et al., 1994). Also neoplastic processes can be involved in the pathogenesis including lymphosarcomas (Reef, 1984; Mair and Hillyer, 1991), lymphomas (Meyer et al., 2006; McGovern et al., 2011), leukemia (Cooper et al., 2018), malignant melanomas and splenic sarcomas (Mair et al., 1990; Underwood and Southwood, 2008; Stockham and Scott, 2008; Dunkel, 2018).

Immune-mediated hemolytic anemia can be diagnosed using different tests. In severe cases, erythrocyte auto-agglutination can be seen when looking at a slide with a drop of blood diluted with 0.9% NaCl to disperse normal physiological rouleaux or stacking of red blood cells (Hewetson, 2013; Dunkel, 2018). Another diagnostic test is the erythrocyte osmotic fragility test. It measures the degree of resistance of erythrocytes to osmotic swelling and lysis in saline solutions with increasing degrees of hypotonicity. In healthy animals, the percentage of hemolysis increases with hypotonicity following a sigmoid curve while in most horses with IMHA, the presence of subpopulations of erythrocytes with differing fragility ranges cause an altered multiphasic curve (Taylor and Cooke, 1990; Dunkel, 2018). The direct Coombs test or direct agglutination test (DAT) looks for antibodies attached to red blood cells circulating in the bloodstream and it is the most commonly used method for diagnosing IMHA (McCullough, 2003; Lording, 2008). In a small study on the detection of antibodies bound to erythrocytes in horses and dogs with IMHA, direct immunofluorescence flow cytometry showed higher sensitivity (100%) than the direct Coombs test (58%). Yet, immunofluorescence flow cytometry is not routinely available in every veterinary laboratory, and in Belgium, only available for research purposes (Wilkinson et al., 2000; Underwood and Southwood, 2008).

Treatment of IMHA is based on immunosuppressive drug therapy. Corticosteroids are still the first-line treatment for IMHA (McCullough, 2003; Dunkel, 2018). They reduce immunoglobulin production and their affinity for the red blood cell membrane, and inhibit the recognition system of macrophages for IgG, IgM and C3b (McCullough, 2003). Dexamethasone

(0.1-0.2 mg/kg IV q24h) or prednisolone (1-2 mg/kg IV, IM or PO q24h) has been described for the treatment of IMHA in horses (McCullough, 2003; Zanella and Barcellini 2014; Dunkel, 2018; Swann et al., 2019). In refractory cases, other immunosuppressive drugs, such as azathioprine, cyclophosphamide or cyclosporine A, can be added to the treatment or replace the glucocorticosteroids (McCullough, 2003; Dunkel, 2018).

Mediastinitis is an uncommon and life-threatening pathology (Burnett, 1990; Pierce, 2000). The mediastinum divides the thoracic cavity in two lateral parts and contains the thoracic part of the esophagus and trachea, the pericardial sac, lymph nodes, blood vessels and nerves. It is divided into a cranial, middle and caudal part. Fenestrations are always present in the caudal mediastinum of a horse. These connect the left and right pleural cavities, which explains why pleural infections are often bilateral in the horse (Barone, 1966). In horses and humans, mediastinal infections are seen secondary to perforations of the thoracic esophagus or spreading of infection from the head and neck area along the fascial planes causing descending necrotizing mediastinitis (Pierce, 2000; Scaglione et al., 2007; Roman et al., 2015; Sumi, 2015; Choe, 2017; Sanchez, 2018). In human medicine, mediastinitis is often described after thoracic surgery. In horses and humans, primary respiratory tract infections rarely extend to the mediastinum (Pierce, 2000; Griffin, 2002). Primary mediastinitis is rare in humans (Pierce, 2000). Some cases of *Staphylococci*- and *Streptococci*-associated purulent mediastinitis and mediastinal abscesses have been reported in humans and horses primary of unknown origin or secondary to bacteremia, pleuritis, strangles (Shishido et al., 1997; Griffin, 2002; Chang et al., 2009; Kouritas et al., 2012; Waller et al., 2014). Firshman (2003) reported a single case of fungal mediastinitis of unknown origin in a horse. In humans, the prognosis is poor and depends on a rapid diagnosis, start of antibiotic treatment and surgical intervention (Pierce, 2000). In this report, a case of IMHA associated with mediastinitis in an Arabo-Friesian gelding is described.

CASE HISTORY

A ten-year-old Arabo-Friesian (>50% Friesian blood) gelding was presented at the Equine Clinic de Morette with hyperthermia, anorexia, trembling and depression for already 24 hours. The horse had a history of intermittent diarrhea for already one year and weight loss over the last months. Because of his decreased appetite, the horse had been treated with omeprazole 2 mg/kg per os once a day for ten days.

Clinical examination

The horse was presented with fever (temperature 39.6°C) and a body condition of 2/9 (Henneke et al., 1983). Heart rate was 52 beats/min and respira-

tory rate was 16 breaths/min. Cardiac, thoracic and abdominal auscultations were within normal limits. Mucous membranes were pale and the capillary refilling time was less than two seconds. The jugular vein filling was normal.

Hematologic examination revealed severe macrocytic, hypochromic anemia and hemoglobinemia (hematocrite 13.8%, reference value 30-46%; Hemoglobin 4.7g/dL; reference value 11-17g/dL; MCV 67.7fL, reference value 37-50 fL; MCH 23.2 pg, reference value 14-20pg; MCHC 34.3g/dL, reference value 36-41g/dL), mild leukocytosis (11,630/ μ L, reference value 5000-10000/ μ L) with neutrophilia (10,653/ μ L, reference value 3000-7400/ μ L; bands: 0/ μ L), and lymphopenia (686/ μ L, reference value 1500-4000/ μ L). Thrombocytes were within normal limits (224,220/ μ L, reference value 100,000-300,000/ μ L). Blood biochemistry showed no abnormalities with a total protein of 63g/L (reference value 52-70g/L), albumin 30.3g/L (reference value 25-39g/L) and an albumin/total protein ratio of 0.48. Other inflammatory parameters, like globulins, fibrinogen and serum amyloid A, were normal as well. Renal blood parameters were increased (creatinine: 210.4 μ mol/L, reference value: 76.9-155.5 μ mol/L; ureum: 11.66 mmol/L, reference value: 3.16-6.49mmol/L). Cardiac Troponin I was normal on admission (< 0.01 μ g/L). A direct Coombs' test was performed with monovalent Coombs' reagents (Piek et al., 2012). The test was highly positive for IgG auto-agglutination at 37°C with a titer of 1024 and 2048 for the fragment crystallisable (Fc) portion and the heavy and light (H+L) chain, respectively; but negative for IgM at 4°C. Urine was macroscopically normal. Dipstick analysis was positive for hemoglobin. Other parameters of (semi-)quantitative examination were normal and urine sediment examination was within reference range.

On rectal examination, no abnormalities were noted. A fecal sample was negative for worm egg count and culture of *Salmonella*, *Yersinia* and *Campylobacter*. A rectal biopsy did not reveal any significant pathology.

Abdominal ultrasound revealed a moderately distended stomach (five intercostal spaces, reference range 3-4 intercostal spaces), considering the anorectic state of the horse (Reef et al., 2004). No other abnormalities were seen during the abdominal ultrasound examination. Thoracic ultrasonography showed normal reverberation lines including in the cranial lung overlying the mediastinum in the third and fourth intercostal spaces. There was no pathology detected on radiography of the chest neither.

Abdominocentesis showed pure transudate with normal lactate and cytology.

The day after admission, endoscopy of the upper airways and guttural pouches showed no pathology and an intact trachea, but slightly increased mucopurulent tracheal secretions were present (grade 1/5) (Gerber et al., 2004). Bacteriological examination of

the tracheal aspirate showed a complex mixed flora of bacteria with numerous colonies of *Kluyvera intermedia*. No significant abnormalities were found on cytological examination of the tracheal aspirate.

Endoscopy of the esophagus was normal and no gastric ulceration was noted; however, delayed gastric emptying was suspected since impacted food material was present after 24 hours and even after 48 hours of starvation. An oral glucose tolerance test showed no signs of malabsorption.

A treatment with sodiumbenzylpenicillin (22.000 UI/kg IV QID), intravenous fluid therapy (Ringer Lactate 90mL/kg/day) and dobutamine continuous rate infusion (CRI rate 2 μ g/kg/min) were initiated. Renal parameters improved only slightly after 72 hours of treatment; creatinine decreased from 210.4 μ mol/l to 197 μ mol/l. After three days of treatment, dexamethasone (0.05mg/kg IM SID) was added to the regime, fluid therapy was decreased to 50mL/kg/day and dobutamine CRI was ceased. Thereafter, creatinine improved further and returned within normal limits ten days after admission.

As the anemia didn't improve after seven days of corticosteroid treatment (hematocrite 15 %), a bone marrow aspiration was performed. The smear revealed erythroid hyperplasia: moderate cellularity, an increased amount of erythroblasts (44%, reference value 2-20%), 5% of proerythroblasts (reference value <5%) and no pyknotic cells and thus normal red blood cell lines with normal maturation status and a myeloid/erythroid ratio of 0.9 (reference value M:E 0.5-1.5). These findings are suggestive of a regenerative anemia; whereas the peripheral blood smear revealed clear agglutination indicative of immune-mediated hemolytic anemia.

After ten days of corticosteroid therapy, the hematocrite remained unchanged. The dexamethasone treatment was therefore increased to 0.2mg/kg IM SID. The next day, the horse developed sinus tachycardia (HR 70-80 bpm) unrelated to clinical symptom, such as pain, dehydration, hypovolemia or worsened anemia. Cardiac troponin I was moderately elevated (0.731 μ g/l, reference range <0.0086 μ g/l). Echocardiography revealed mild pericardial effusion and marked thickening of the interventricular septum (IVSd: 4.3cm, reference value 2.8 \pm 0.2cm; BW-corrected IVSd: 2.7cm; IVSs: 6.7cm, reference value 4.6 \pm 0.5cm, BW-corrected IVSs: 4.3cm) and left ventricular free wall (LVFWd: 4.5cm, reference value 2.5 \pm 0.3cm, BW-corrected LVFWd: 2.2cm; LVFWs: 5.95cm, reference value 3.8 \pm 0.3cm, BW corrected LVFWs: 3.7cm). Dimensions of the left ventricular lumen were diminished in systole (LVIDd 10.5cm, reference value 11.2 \pm 0.8cm, BW-corrected LVIDd: 10.4cm; LVIDs 4.4cm, reference value 7.3 \pm 0.8cm, BW-corrected LVIDs: 6cm). Fractional shortening was increased (58%, reference value 34.8%) (Slater and Herrtage, 1995; Al-Haidar, 2017). The combination of these findings is suggestive for myocardial

disease.

Azathioprine (3mg/kg PO SID) was added to the treatment protocol after twelve days of corticosteroid therapy due to non-responsive anemia.

Because of the lack of response to medical treatment and the persistent tachycardia, the horse was euthanized after fifteen days of hospitalization.

Post-mortem findings

Necropsy

A complete necropsy was performed. The mediastinum showed green discoloration and emphysema. In the ventral part of the mediastinum, just cranial to the pericardium, there was a well-delineated swelling. The swelling contained one liter of green fluid with food particles (Figure 1). The lung parenchyma showed diffuse edema and congestion; lymph nodes were macroscopically normal. A mild increase in pericardial effusion was present but no other macroscopic abnormalities of the myocardium were noted. Discrete swelling of the ventral part of the neck was noted due to subcutaneous edema. The complete esophageal mucosa and adventitia were intact. Focally, about 10 cm cranial to the cardia, the muscular layer of the esophagus showed moderate hypertrophy. There were no macroscopic lesions detected in the trachea. The small intestinal wall was moderately edematous and the content was fluid. Post-mortem evaluation of the kidneys was impossible due to severe autolysis.

Histology

Tissue samples of the mediastinal swelling and heart were fixed in phosphate-buffered formalin, embedded in paraffin wax and cut into four-micrometer-thick sections. Slides were stained with hematoxylin and eosin (HE) and Von Kossa (VK) stain. Samples of the mediastinal swelling consisted of fat and dense, fibrous tissue, in which mixed, basophilic bacterial colonies (cocci and bacilli) were present (Figure 2). The fibrous tissue multifocally showed a degenerated, hyalinized aspect with secondary dystrophic calcification indicating a chronic process (Yi, 2017) (Figure 3). Multiple plant fibers were noticed inside this fibrous tissue and some of these fibers also showed a mineralized aspect.

There were mild mixed inflammatory infiltrates multifocally in the myocardial interstitium and a focal, discrete interstitial zone of fibrosis and inflammatory infiltrates.

DISCUSSION

To the authors' knowledge, this is the first case report in which immune-mediated hemolytic anemia associated with chronic fibrosing mediastinitis of unknown origin is described in a horse.



Figure 1. Mediastinal swelling, containing a green sticky fluid with food particles at necropsy.

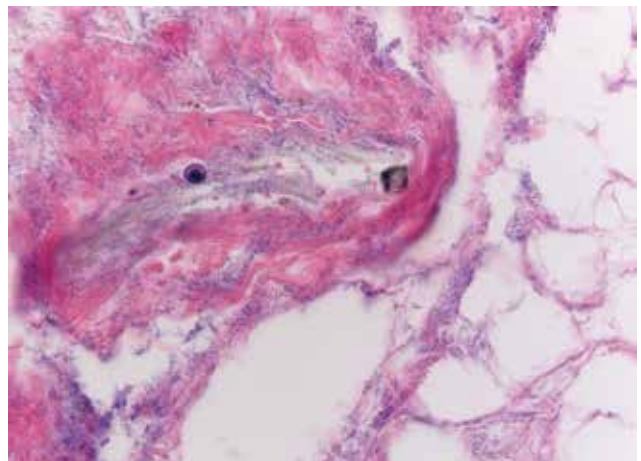


Figure 2. Hematoxylin and eosin stain x 200 of the cranial mediastinal swelling. Dense, fibrous tissue admixed with foreign bodies of plant origin and mixed, bacterial colonies.

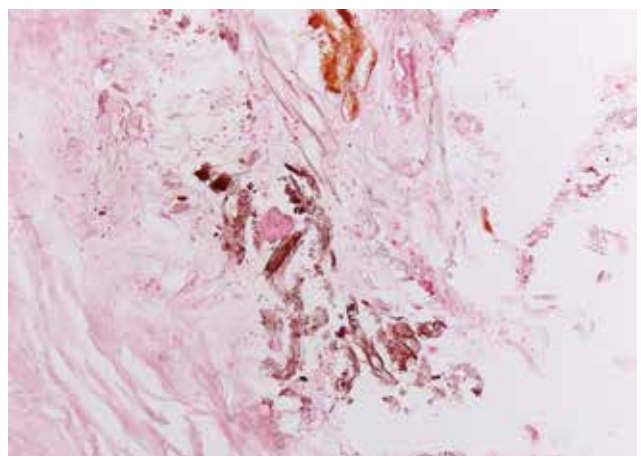


Figure 3. Von Kossa stain x 200 of the cranial mediastinal swelling. Areas of dystrophic mineralization (staining brown-black) surrounding foreign bodies of plant origin.

In the absence of a pre-mortem underlying cause of the IMHA, the horse was treated as suffering from idiopathic IMHA. Therefore, treatment was focused on decreasing the immune-mediated destruction of erythrocytes by increasing dosages of immunosuppressive medication. The elevation of serum creatinine could be related to immune-complex glomerulonephritis. This could explain the decrease in serum creatinine values with increasing dosages of corticosteroids, despite cessation of fluid therapy. On the other hand, no important protein loss was present in the urine as described in cases of glomerulonephritis (Schott et al., 2018). Anorexia and protein catabolism due to muscle wasting are a potential explanation for the azotemia as well, since the horse had an improved appetite and gained weight during his stay (Stockham and Schott, 2008; Hall, 2016). With exception of the mediastinitis, no other possible etiologies for IMHA could be identified in this case. The horse had no history of antibiotic administration prior to admission. He had only been administered omeprazole prior to hospitalization and to the authors' knowledge, omeprazole has not been reported as a cause of IMHA in horses. However, it has been described as a cause of IMHA in humans (Marks et al., 1991; Butt et al., 2007). Despite the discontinuation of omeprazole upon arrival at the hospital, the signs of IMHA did not improve in this horse.

The most likely anatomical cause of food contamination in the mediastinum is rupture of the esophagus, even though no macroscopic signs of rupture were found along the esophageal mucosa or adventitia in this case. Considering the chronicity of the clinical signs, a healed perforation of the esophagus was a plausible underlying cause of the mediastinitis. Food contamination of the thoracic cavity due to rupture of the esophagus is an uncommon event in horses. By the time the unspecific clinical signs become more obvious, severe complications like pleuritis, endotoxemia and sepsis, are usually present resulting in a very poor prognosis (Dechant, 1998; Gonzalez et al., 2008; Cathcart et al., 2013). In most equine cases, thoracic esophageal rupture leads to accumulation of fluid in the pleural cavity. In those cases, ante-mortem diagnosis can be made with help of medical imaging and thoracocentesis, where septic exudate with alimentary particles can be aspirated (Dechant, 1998; Gonzalez et al., 2008; Cathcart et al., 2013; Hepworth-Warren et al., 2015). There were no findings at pre-mortem examination indicating esophageal rupture or septic contamination of the thorax in the present case. Food contamination stayed constrained to the mediastinum preventing detection by thoracic ultrasonography and radiography. The compartmentalization of the pathological process could also be responsible for the presence of the mild leucocytosis and normal acute phase proteins on the blood analysis.

In human medicine, mediastinitis is usually diagnosed by CT-scan of the chest (Pierce, 2000; Kocher

et al., 2012; Choe et al., 2017). Radiography and ultrasonography of the chest have poor sensitivity for the diagnosis of disease limited to the mediastinum in horses; and more advanced techniques, as CT-scan or MRI, are not routinely available for the diagnosis of thorax pathology. In addition, the cranial mediastinum is not clearly visualized in the horse using thoracoscopy (Vachon and Fischer 1998; Griffin, 2002).

During hospitalization, gastroscopy was performed on two occasions and no lesions in the esophagus were detected. Moreover, the horse had a normal appetite throughout the hospitalization. Nevertheless, earlier in the disease process, contrast radiography of the esophagus could have been used to detect a possible perforation (Butler et al., 2017). It is interesting to note that the current case presented moderate idiopathic hypertrophy of the muscularis of the distal esophagus (IMHO). IMHO is characterized by a thickening of the distal portion of the esophagus involving the circular layer of the tunica muscularis without signs of fibrosis or inflammation. The etiology, pathophysiology and clinical significance of IMHO in horses are still questionable (Benders et al., 2004). Cathcart et al. (2013) described the first case of IMHO as a cause of spontaneous thoracic esophageal rupture. The defect in the esophagus was located within the hypertrophied part creating a small insidious channel between the submucosal and muscular layers. The authors suggested that this could have resulted in pulsatile release of small amounts of organic material and prevented the tear to extend further, causing a slow progression of disease for an unknown period of time (Cathcart et al., 2013). In the present case, the part of the esophagus in the cranial mediastinum did not show muscular hypertrophy, and therefore, this finding on post-mortem examination was probably not relevant as a cause of the mediastinitis.

As the horse in this report was an Arabo-Friesian horse, it is also interesting to look into breed-related disorders. Friesian horses are predisposed to esophageal disorders like megaesophagus and IMHO (Bezdekova and Janalik, 2016). In fact, in a study by Komine et al. (2014), esophageal disorders were identified in approximately 35% of the examined Friesian horses, where IMHO was the most prevalent finding, while the prevalence in other breeds was less than 3%. In the study, it has been suggested that IMHO in Friesian horses may be a different condition than in non-Friesian horses and may be of clinical significance in this breed (Komine et al., 2014). An underlying genetic neuromuscular disorder has been suggested (Van der Kolk et al., 2011), while other authors suspect a connective tissue disorder responsible for the high prevalence of esophageal and gastric disorders in Friesian horses (Komine et al., 2014; Ploeg et al., 2015a; Ploeg et al., 2015b; Saey, 2016; Winfield and Dechant, 2015). In recent research, where the connective tissue of the aorta and flexor tendon were analyzed in this breed, differences have been shown in

connective tissue metabolism, which makes it more prone to rupture (Ploeg et al., 2017). In a recent study by Saey et al. (2018), a higher rate of collagen degradation in Friesian horses has been suggested.

Anderson et al. (2013) reported a case of clostridial myonecrosis in a gelding with secondary complications, such as IMHA and transient hypertrophic cardiomyopathy. The fluid in the mediastinum was not cultured in the present case, but an infection with *Clostridium* bacteria is a plausible explanation for the mediastinitis, non-responsive IMHA and sudden onset of cardiomyopathy. The pericardial effusion and interstitial myocarditis in the present case could also have been due to the close communication between mediastinum and heart. In human medicine, mediastinitis with subsequent pericardial involvement has been described (Scaglione, 2007; Roman et al., 2015; Ulsan and Koc, 2016). In a study by Roman et al. (2015), out of fifteen patients with descending necrotizing mediastinitis, four showed pericarditis and two myocarditis.

The culture of tracheal aspirate revealed the presence of *Kluyvera intermedia*. This enterobacteria is rarely isolated in horses (Durham, 2018) and sporadically in humans (Carter and Evans, 2005; Thele et al., 2017). According to the human literature, this bacteria is considered part of the normal flora of the digestive tract in humans and ubiquitously present in water and soil. In this case, the isolation of *Kluyvera intermedia* was considered contamination as it was isolated in a complex mixed flora of bacteria and no signs of clinical infection were present on cytology of the tracheal aspirate.

CONCLUSION

In this case report, the difficulty of differentiating non-responsive idiopathic IMHA from IMHA where the underlying cause remains undetected, is illustrated. With the currently available imaging modalities, it may be difficult to diagnose mediastinitis, which might be involved in the pathogenesis of IMHA in the horse.

REFERENCES

Al-Haidar A., Moula N., Leroux A., Farnir F., Deleuze S., Sandersen S., Amory H. (2017). Reference values of two-dimensional and M-mode echocardiographic measurements as a function of body size in various equine breeds and in ponies. *Journal of Veterinary Cardiology* 19, 492-501.

Anderson F., Secombe C., Lester G. (2013). Clostridial myonecrosis, haemolytic anaemia, hepatopathy, osteitis and transient hypertrophic cardiomyopathy after intramuscular injection in a Thoroughbred gelding. *Australian Veterinary Journal* 91, 204-208.

Barone R. (1997). Cavité thoracique et plèvres. In: Barone

R. (editor). *Anatomie Comparée des Mammifères Domestiques, Tome 3. Splanchnologie I: Appareil Digestif, Appareil Respiratoire*. Third edition, Vigot, Paris, p. 787-827.

Benders N., Veldhuis Kroeze J., Van der Kolk J. (2004). Idiopathic muscular hypertrophy of the oesophagus in the horse: a retrospective study of 31 cases. *Equine Veterinary Journal* 36, 46-50.

Bezdekova B., Janalik P. (2016). Oesophageal disorders in horses: Retrospective study of 39 cases. *Equine Veterinary Education* 30, 94-99.

Blue J., Dismore P., Anderson K. (1987). Immune-mediated hemolytic anemia induced by penicillin in horses. *The Cornell Veterinarian* 77, 263-276.

Brumbaugh G. (2001). Adverse drug reactions and interactions in the horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 17, 445-453.

Burnett C., Rosemurgy A., Pfeiffer E. (1990). Life-threatening acute posterior mediastinitis due to esophageal perforation. *Annals of Thoracic Surgery* 49, 979-983.

Butler J., Colles C., Dyson S., Kold S., Poulos P. (2017). The alimentary and urinary system. In: Butler J., Colles C., Dyson S., Kold S., Poulos P. (editors). *Clinical Radiology of the Horse*. Fourth edition, Wiley Blackwell, Chichester, p 687- 723.

Butt M., Sajid S., Sobolewski S. (2007). Autoimmune haemolytic anaemia due to Omeprazole. *Irish Medical Journal* 100, 372.

Caniglia C., Davis J., Schott H., Brakenhoff J. (2014). Septic funiculitis caused by *Streptococcus equi* subspecies *equi* infection with associated immune-mediated haemolytic anaemia. *Equine Veterinary Education* 26, 227-233.

Carter E., Evans T (2005). Clinically significant kluyvera infections. A report of seven cases. *American Society of Clinical Pathology* 123, 334-338.

Cathcart M., Thompson H., Sutton G. (2013). Spontaneous oesophageal perforation secondary to idiopathic muscular hypertrophy of the oesophagus. *Equine Veterinary Education* 25, 282-286.

Chang C., Huang J., Lai P., Yang C. (2009). Posterior mediastinal abscess in a hemodialysis patient – a rare but life-threatening complication of Staphylococcus bacteraemia. *Clinical Nephrology* 71, 92-95.

Choe J., Kim J., Lee D., Seo K., Park J., Lee M., Ryoo H., Ahn J., Moon S. (2017). Descending necrotizing mediastinitis after a trigger point injection. *Clinical and Experimental Emergency Medicine* 4, 182-185.

Cooper C., Keller S., Arroyo L., Hewson J., Kenney D., Bienzle D. (2018). Acute leukemia in horses. *Veterinary Pathology* 55, 159-172.

Cottle H., Hughes K. (2010). Haemolytic anaemia in a pony associated with a perivascular abscess caused by *Clostridium perfringens*. *Equine Veterinary Education* 22, 13-19.

Cudmore L., Jalim S., Williamson M., McKinnon A. (2015). Pancytopenia in two horses following administration of potentiated sulphonamide antimicrobials. *Equine Veterinary Education* 27, 519-523.

Dechant J., Macdonald D., Crawford W., O'Connor B. (1998). Pleuritis associated with perforation of an isolated oesophageal ulcer in a horse. *Equine Veterinary Journal* 30, 170-172.

Dunkel B. (2018). Disorders of the hematopoietic system. In: Reed S. Bayly W., Sellon D. (editors). *Equine Internal Medicine*. Fourth edition, Elsevier, Missouri, p 991-1028.

- Durham A. (2018). An evaluation of serum gentamicin concentrations and bacterial susceptibility to gentamicin in equine practice. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32, 1194-1201.
- Firstman A., Hayden D., Valberg S., McKenzie E. (2003). Horner's syndrome associated with fungal mediastinitis in a horse. *Equine Veterinary Education* 15, 82-85.
- Geor R., Clark E., Haines D., Napier P. (1990). Systemic lupus erythematosus in a filly. *Journal of the Veterinary Medical Association* 197, 1489-92.
- Gerber V., Straub R., Marti E., Hauptman J., Herbolz C., King M., Imhof A., Tahon L., Robinson N. (2004). Endoscopic scoring of mucus quantity and quality: observer and horse variance and relationship to inflammation, mucus viscoelasticity and volume. *Equine Veterinary Journal* 36, 576-582.
- Griffin R. (2002). Cranial mediastinal abscess secondary to pleuritis in a 3-year-old Thoroughbred. *Equine Veterinary Education* 14, 286-289.
- Gonzalez M., Swor T., Hines M. (2008). Perforated epiphrenic diverticulum with secondary septic pleuritis in two horses. *Equine Veterinary Education* 20, 194-200.
- Hall D. (2016). Diuretics, kidney diseases. In: Hall D. and Guyton A. (editors). *Textbook of Medical Physiology*. Thirteenth edition, Elsevier, Philadelphia, p. 427-442.
- Henneke D., Potter G., Kreider J., Yeates B. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal* 15, 371-372.
- Hepworth-Warren K., Wilgenbusch C., Wong D., Fales-Williams A., Wiechert S., Sponseller B. (2015). Intrathoracic oesophageal perforation and secondary pleuropneumoniae: Five cases. *Equine Veterinary Education* 27, 283-290.
- Hewetson M. (2013). Investigation of anaemia in the horse. In: *Proceedings of the 13th International Congress of the World Equine Veterinary Association*. Budapest, October 3-5 2013.
- Johns I., Desrochers A., Wotman K., Sweeney R. (2011). Presumed immune-mediated hemolytic anemia in two foals with *Rhodococcus equi* infection. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 21, 273-278.
- Kocher G., Hokscho B., Caversaccio M., Wiegand J., Schmid R. (2012). Diffuse descending necrotizing mediastinitis: surgical therapy and outcome in a single-centre series. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 42, 66-72.
- Komine M., Langohr I., Kiupel M. (2014). Megaesophagus in Friesian horses associated with muscular hypertrophy of the caudal esophagus. *Veterinary Pathology* 51, 979-985.
- Kouritas V., Zissis C., Bellenis I. (2012). Staphylococcal isolated anterosuperior mediastinal abscess of unknown origin. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 14, 650-651.
- Lording P. (2008). Erythrocytes. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 24, 225-237.
- Mair, T.S., Taylor, F.G. and Hillyer, M.H. (1990) Autoimmune hemolytic anaemia in eight horses. *Veterinary Record* 126, 51-53.
- Mair T., Hillyer M. (1991). Clinical features of lymphosarcoma in the horse: 77 cases. *Equine Veterinary Education* 4, 108-113.
- Marks D., Joy J., Bonheim N. (1991). Hemolytic anemia associated with the use of omeprazole. *American Journal of Gastroenterology* 86, 217-218.
- Meyer J., Delay J., Bienzle D. (2006). Clinical, laboratory and histopathologic features of equine lymphoma. *Veterinary Pathology* 43, 914-924.
- McConnico, R.S., Roberts, M.C. and Tompkins, M. (1992) Penicillin-induced immune-mediated hemolytic anemia in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 201, 1402-1403.
- McCullough S. (2003). Immune-mediated hemolytic anemia: understanding the nemesis. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33, 1295-1315.
- McGovern K., Lascola K., Davis E., Fredrickson R., Tan R. (2011). T-cell lymphoma with immune-mediated anemia and thrombocytopenia in a horse. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25, 1181-1185.
- Piek C., Teske E., van Leeuwen M., Day M. (2012). Good agreement of conventional and gel-based direct agglutination test in immune-mediated haemolytic anaemia. *Acta Veterinaria Scandinavica* 54, 1-8.
- Pierce T., Razzuk M., Razzuk L., Luterman D., Sutker W. (2000). Acute Mediastinitis. In: *Baylor University Medical Center Proceedings* 13, 31-33.
- Ploeg M., Gröne A., Saey V., de Bruijn C.M., Back W., van Weeren P.R., Delesalle C. (2015a). Morphological characterization of megaesophagus in Friesian horses, *Journal of Comparative Pathology* 152, 69-70.
- Ploeg M., Gröne A., Saey V., de Bruijn C., Back W., van Weeren P., Scheideman W., Picavet T., Ducro B., Wijnberg I., Delesalle C. (2015b). Esophageal dysfunction in Friesian horses: morphological features. *Veterinary Pathology* 52, 1142-1147.
- Ploeg M., Gröne A., van de Lest C., Saey V., Duchateau L., Wolsein P., Chiers K., Ducatelle R., van Weeren P., de Bruijn M., Delesalle C. (2017). Differences in extracellular matrix proteins between Friesian horses with aortic rupture, unaffected Friesians and Warmblood horses. *Equine Veterinary Journal* 49, 609-613.
- Reef V. (1983). *Clostridium perfringens* cellulitis and immune-mediated hemolytic anemia in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 182, 251-254.
- Reef V. (1984). Lymphosarcoma and associated immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 184, 313-317.
- Reef V., Whittier M., Allam L. (2004). Sonographic evaluation of the adult abdomen. *Clinical Techniques in Equine Practice* 3, 294-307.
- Robbins R., Wallace S., Brunner C., Gardner T., Difranco B., Speirs V. (1993). Immune-mediated hemolytic disease after penicillin therapy in a horse. *Equine Veterinary Journal* 25, 462-465.
- Roman R., Lazar M., Ghergie M., Angelescu T., Samachisa B. (2015). Descending necrotizing mediastinitis of oropharyngeal origin – a retrospective 15 years study. *Human & Veterinary Medicine – International Journal of the Bioflux Society* 4, 381-386.
- Saey V. (2016). *The Friesian Horse: Phenotypical Characterization of Aortic Rupture in Friesian Horses*. Dissertation submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Veterinary Sciences, Ghent, p 28-34.
- Saey V., Tang J., Ducatelle R., Croubels S., De Baere S., Schauvliege S., van Loon G. Chiers K. (2018). Elevated urinary excretion of free pyridinoline in Friesian horses suggests a breed-specific increase in collagen degradation. *BMC Veterinary Research* 14, 1-7.
- Sanchez L. C. (2018). Disorders of the gastro-intestinal

- tract. In: Reed S. Bayly W., Sellon D. (editors). *Equine Internal Medicine*. Fourth edition, Elsevier, Missouri, p. 709-842.
- Scaglione M, Pinto A, Giovine S, Di Nuzzo L, Giuliano V, Romano L. (2007). CT features of descending necrotizing mediastinitis--a pictorial essay. *Emergency Radiology* 14, 77-81.
- Schott H., Walldridge B., Bayly W. (2018). Disorders of the urinary system. In: Reed S. Bayly W., Sellon D. (editors). *Equine Internal Medicine*. Fourth edition, Elsevier, Missouri, p 888-990.
- Sellon D., Fuller F., McGuire T. (1994). The immunopathogenesis of equine infectious anemia virus. *Virus Research* 32, 111-138.
- Shishido H., Watanabe K., Matsumoto K., Murakami K., Sato K. (1997). Primary purulent mediastinitis due to *Streptococcus milleri*. *Respiration* 64, 131-315.
- Slater J., Herrtage M. (1995). Echocardiographic measurements of cardiac dimensions in normal ponies and horses. *Equine Veterinary Journal Supplement* 19, 28-32.
- Step D., Blue J., Dill S. (1991). Penicillin-induced hemolytic anemia and acute hepatic failure following treatment of tetanus in a horse. *The Cornell Veterinarian* 81, 13-18.
- Stockham S., Harvey J., Kinde D. (1994). Equine glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Veterinary Pathology* 31, 518-527.
- Stockham S., Scott M. (2008). Erythrocytes. In: Stockham S., Scott M. (editors). *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Second edition, Blackwell Publishing, Oxford, p. 151-193.
- Sumi Y. (2015). Descending necrotizing mediastinitis: 5 years of published data in Japan. *Acute Medicine and Surgery* 2, 1-12.
- Swann J., Glanemann B., Mackin A., Garden O., Goggs R., Whitley N., Fellman C, LeVine D. (2019). ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33, 1-32.
- Taylor F., Cooke B. (1990). Use of erythrocyte fragility profiles for monitoring immune-mediated haemolysis in horses. *Research in Veterinary Science* 48, 138-140.
- Thele R., Gumpert H., Christensen L., Worning P, Schønning K., Westh H., Hansen T. (2017). Draft genome sequence of a *Kluyvera intermedia* isolate from a patient with a pancreatic abscess. *Journal of Global Antimicrobial resistance* 10, 1-2.
- Thomas H., Livesey M. (1998). Immune-mediated hemolytic anemia associated with trimethoprim-sulfamethoxazole administration in a horse. *Canadian Veterinary Journal* 39, 171-173.
- Ulusan A., Koc I. (2016). Descending necrotizing mediastinitis. *The Ulutas Medical Journal* 2, 1-6.
- Underwood C., Southwood L. L. (2008). Haemolytic anaemia as a complication following colic surgery in a 10-year old Arabian stallion. *Equine Veterinary Education* 20, 422-426.
- Van der Kolk J.H., Ploeg M., Back W., de Bruijn C. M., Wijnberg I.D. (2011). Needle electromyography of the oesophagus in Friesian horses with and without esophageal dysfunction. ACVIM Forum June 15-18 Denver, USA, Abstract.
- Vachon, A.M., Fischer, A.T. (1998). Thoracoscopy in the horse: diagnostic and therapeutic indications in 28 cases. *Equine Veterinary Journal* 30, 467-475.
- Valdez R., Zutter M., Li S., Florea A. (2015). Hematopathology. In: Strayer D. and Rubin E. (editors). *Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine*. Seventh edition, Wolters-Kluwer, Philadelphia, p. 1079-1171.
- Waller A., Sellon D., Sweeney C., Timoney P., Newton J., Hines M. (2014). Streptococcal infections. In: Sellon D., Long M. (editors). *Equine Infectious Diseases*. Second edition, Elsevier, St-Louis, p. 265-277.
- Weiss D., Moritz A. (2003). Equine immune-mediated hemolytic anemia associated with clostridium perfringens infection. *Veterinary Clinical Pathology* 32, 22-26.
- Wilkerson M., Davis E., Shuman W., Harkin K., Cox J., Rush B. (2000). Isotype-specific antibodies in horses and dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14, 190-196.
- Winfield L., Dechant J. (2015). Primary gastric rupture in 47 horses. *Canadian Veterinary Journal* 56, 953-958.
- Yi E. (2017). Chapter 9: Non-neoplastic/inflammatory lesions in the mediastinum. In: A. Roden and A. Moreira (editors). *Mediastinal Lesions. Diagnostic Pearls for Interpretation of Small Biopsies and Cytology*. Springer, Cham, p. 217-232.
- Zanella A., Barcellini W. (2014). Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica* 99, 1547-1554.

Nertsen ‘bevrijden’

“Met ons drieën kruipen we over de schutting en sluipen de kwekerij binnen. We staan bijna tot aan onze knieën in de nertsenkak. Honderden beesten staren ons aan. Door het licht van onze zaklantaarnen lijken hun ogen griezelig groen. dan gaat het snel. Geert en ik trekken de kooien open en Mien stopt alle fokgegevens in een zak. Dat zijn de kaartjes waarop het nummer en het fokprogramma van elk dier staan.

Maar de nertsen snappen niet wat er gebeurt. Al hun hele leven zitten ze opgesloten en ineens gaan hun kooien open. Ze kennen het begrip vrijheid niet. Enkele nertsen starten een gevecht en ineens beginnen honderden beesten te krijsen. Het is een lawaai van jewelste. Plots bijt een nerts zich vast in mijn been. Een kreet ontsnapt me. Ik schud met mijn been maar het beestje lost niet. Even zie ik mezelf staan in de rechtbank met nog steeds een nerts aan mijn been: ‘Ik ben onschuldig, edelachtbare’.

Ik schud het beestje van mij los. En dan geven enkele dieren het goede voorbeeld. Ze ruiken hun vrijheid en rennen met een rotvaart onder de omheining door, het bos in. De andere nertsen volgen. een gevoel van geluk overvalt mij. Maar niet voor lang, want de ontsnapte dieren krijsen zo luid dat de eigenaar wel wakker moet zijn. Ik open nog vlug een paar kooien maar dan moeten we het hazenpad kiezen. de nog opgesloten dieren kijken ons met vragende ogen aan. De volgende dag horten we dat zeshonderd van de achthonderd dieren zijn bevrijd.”

Fragment uit:: Huyghe, W. (2007). *Anja Hermans. Van idealiste tot terroriste en terug. Kleine vonk, groot vuur.* Van Halewyck, Leuven, p. 121-122.

Naschrift: In de jaren 1998 - 2002 werden meerdere aanslagen, vooral brandstichtingen, gepleegd door het ALF (Animal Liberation Front) waartoe ook Anja Hermans en haar vrienden informeel behoorden. De moordenaar van Pim Fortuyn (1948 – 2002) verklaarde dat de smalende uitspraken van de Nederlandse politicus over de nertsenbevrijding voor hem aanleiding waren tot zijn daad.

Luc Devriese

“Boid inclusion body disease”: het enigma ontrafeld?

Boid inclusion body disease: the enigma unraveled?

T. Hellebuyck, J. Simard

Vakgroep Pathologie, Bacteriologie, Pluimveeziekten,
Faculteit Diergeneeskunde, UGent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Tom.hellebuyck@ugent.be

SAMENVATTING

“Boid inclusion body disease” (BIBD) is een wereldwijd voorkomende aandoening bij boa’s en pythons. De exacte oorzaak van de aandoening bleef gedurende lange tijd onopgehelderd. Recent werd met behulp van hedendaagse diagnostische methoden en experimentele studies overtuigend bewijs geleverd dat reptarenavirussen het oorzakelijk agens zijn van BIBD. In tegenstelling tot wat algemeen wordt verondersteld, kunnen boa’s en pythons langdurig subklinische dragers zijn van deze virale ziekte. Alhoewel het oorzakelijk agens van BIBD werd aangetoond is het diagnosticeren van BIBD een uitdaging naargelang de betrokken slangensoort. Bovendien blijft het differentiëren tussen comorbiditeiten gerelateerd aan BIBD en klachten veroorzaakt door andere gelijktijdige ziekteprocessen problematisch. In dit artikel worden het ziekteverloop van BIBD bij pythons en boa’s en het management van de ziekte bij in gevangenschap gehouden slangen beschreven.

ABSTRACT

Boid inclusion body disease is a worldwide occurring disease in boas and pythons. The identity of the etiological agent of the disease remained elusive for several decades. Recently however, contemporary diagnostic methods and experimental studies delivered compelling proof that a group of divergent reptarenaviruses are the causative agents of BIBD. In contrast to what was initially thought, boid snakes can be persistent carriers of the viral disease without showing clinical signs. Although the cause of BIBD has been demonstrated, the diagnosis of BIBD may be challenging depending on the involved snake species, and the differentiation between comorbidities related to BIBD and clinical disease caused by concurrent disorders remains problematic. In this article, the course of BIBD infection in boid snakes, the major differences that are encountered towards the diagnosis of BIBD in pythons versus boas and the overall management of BIBD in captive snake collections are described.

INTRODUCTIE

“Boid Inclusion Body Disease” (BIBD) is een wereldwijd voorkomende aandoening bij boa’s (familie Boidae) en pythons (familie Pythonidae) die veroorzaakt wordt door reptarenavirussen (Stenglein et al., 2012; 2015; 2017). De ziekte wordt gekarakteriseerd door het voorkomen van eosinofiele en amfofiele intracytoplasmatische inclusies in neuronen van het centrale zenuwstelsel (CZS) en in epitheliale cellen van een groot aantal organen (Hetzal et al., 2013; Hyndman et al., 2019; Stenglein et al., 2017). In dit artikel

wordt IBD beschouwd als het voorkomen van deze inclusies bij boa’s en pythons en wordt gerefereerd aan BIBD als een aandoening waarbij reptarenavirusinfectie vastgesteld wordt en in de meeste gevallen geassocieerd is met het voorkomen van karakteristieke BIBD-inclusies. Hoewel er voor reptarenavirussen een ondubbelzinnig oorzakelijk verband met BIBD werd aangetoond (Hetzal et al., 2013; Stenglein et al., 2017), blijven sommige aspecten van de diagnose van deze aandoening een uitdaging vormen afhankelijk van de betrokken slangensoort (Simard et al., 2019). Bovendien blijft het tot op heden onduidelijk welke

symptomen primair aan reptarenavirusinfectie kunnen toegewezen worden. Zo wordt een aanzienlijk aantal van de in gevangenschap gehouden boa constrictors (*Boa constrictor*) routinematig gediagnosticeerd met persistente en subklinische BIBD-infectie. Bij deze slangen is het vaststellen van BIBD eenvoudig maar bestaat het risico dat om het even welk klinisch symptoom toegewezen wordt aan de virale infectie zonder dat er een duidelijk causaal verband kan aangetoond worden (Simard et al., 2019). Bij pythons met suggestieve symptomen van BIBD-infectie daarentegen vormt de correcte diagnose van de aandoening een grote uitdaging en zijn de testen bij veel van de aangetaste dieren vermoedelijk valsnegatief (Hyndman et al., 2019; Simard et al., 2019).

ETIOLOGIE EN EPIDEMIOLOGIE

De eerste beschrijving van IBD werd gepubliceerd in 1994 en documenteert de associatie van klinische ziekte die sinds de jaren zeventig van de vorige eeuw bij boa constrictors (*Boa constrictor*) en pythons vastgesteld wordt, met het voorkomen van karakteristieke IBD-inclusies (Schumacher et al., 1994). Bij de met IBD geïnfecteerde boa's in de studie van Schumacher et al. (1994) werd een traag progressief verloop van symptomen beschreven. De initiële symptomen waren aspecifiek, bestonden onder andere uit intermitterende regurgitatie, anorexie en stomatitis en evolueerden na verloop van maanden naar neurologische symptomen (opisthotonus, evenwichtsstoornissen, incoördinatie, tremoren, paralyse). Bij de pythons daarentegen werden enkel snel progressieve neurologische symptomen beschreven. Volgend op de eerste rapportering werden twee beperkte experimentele infecties uitgevoerd, enerzijds met een supernatant en anderzijds met een gefiltreerd leverhomogenaat afkomstig van IBD-positieve slangen (Chang en Jacobson, 2010). Bij beide experimenten traden na inoculatie CZS-symptomen op bij de geïnoculeerde dieren. Er werd eveneens aangetoond dat de IBD-inclusies bestaan uit een accumulatie van een uniek 68 kDa-proteïne (IBD proteïne, IBDP) (Wozniak et al., 2000; Chang et al., 2013). Toch bleef de exacte oorzaak van de aandoening gedurende lange tijd onopgehelderd en de diagnose van IBD was lange tijd gelimiteerd tot het aantonen van de karakteristieke inclusies in cytologische preparaten afkomstig van aspiraten, histologische preparaten van organen en bloeduitstrijkjes. Het was op dat ogenblik echter wel reeds duidelijk dat inclusies bij boa's vaak gedissemineerd voorkwamen in de epitheliale cellen van de meeste organen, terwijl de inclusies bij pythons vaak enkel aangetroffen werden in neuronen van het CZS (Chang en Jacobson, 2010).

Initieel werden retrovirussen naar voor geschoven als kandidaat etiologische agentia omdat C-type retrovirale partikels in geïnfecteerde cellen werden gezien en reverse-transcriptase-activiteit werd aangetoond

in plasma van met IBD geïnfecteerde slangen alsook in supernatant van cellijnen afkomstig van positief testende dieren; een causaal verband kon echter niet aangetoond worden (Jacobson et al., 2001; Huber et al., 2002). Bij de start van dit decennium kwam er een doorbraak in de opheldering betreffende de oorzaak van BIBD. Via “next-generation sequencing” (NGS) werd het compleet genoom van twee arena-achtige virussen (golden gate virus (GGV) en California academy of science Virus (CASV)) bepaald na isolatie uit weefsels verzameld bij BIBD-positieve boa's (Stenglein et al., 2012). Bovendien werden de postulaten van Koch in vitro aangetoond op basis van isolatie van het CASV na inoculatie van een primaire cellijn. Ook werd het nucleocapside eiwit van een arenavirus-achtig virus in BIBD-inclusies aangetoond via immunohistochemie (IHC) en werden er RT-PCR-primers ontwikkeld om het virus kwantitatief aan te tonen in bloedstalen en weefsels afkomstig van BIBD-positieve dieren (Chang et al., 2016; Stenglein et al., 2012). Op basis van NGS, immunofluorescentie (IF), IHC en elektronenmicroscopie werden nadien nog enkele arena-achtige virussen geïsoleerd bij met BIBD geïnfecteerde dieren (Bodewes et al., 2013; Hetzel et al., 2013). Arena-achtige virussen afkomstig van BIBD-positieve slangen worden gegroepeerd als de “boïd IBD-associated viruses” (BIBDAVs). Door middel van de ontwikkeling van een competitieve ELISA waarmee anti-arenavirus-antistoffen kunnen aangetoond worden bij BIBD-positieve dieren en door het op punt stellen van verschillende RT-PCR-protocollen om reptarenavirussen te detecteren in een grote variatie van stalen, werd aangetoond dat een uitgebreide genetische variatie bestaat onder de BIBDAVs (Bodewes et al., 2013; Hepojoki et al., 2015b; Korzyukov et al., 2016). Dit heeft tot gevolg dat vals-negatieve resultaten kunnen bekomen worden voor een bepaald reptarenavirus afhankelijk van het gebruikte RT-PCR-protocol.

Arenavirussen zijn enkelvoudige RNA-virussen en de familie Arenaviridae bestaat momenteel uit drie genera: het genus *Mammarenavirus* dat zoogdieren infecteert en de genera *Reptarenavirus* en *Hartmannivirus* die voorkomen bij slangen (Stenglein et al., 2017). Op dit ogenblik worden er vijf species opgenomen in het genus *Reptarenavirus*: golden reptarenavirus (GOGV, voorheen GGV), California reptarenavirus (voorheen: California academy of science virus (CASV)), Rotterdam reptarenavirus (ROUTV, voorheen Av NL B3, en UHV), ordinary reptarenavirus (TSMV-2) en Giessen reptarenavirus (UGV 1-3).

Stenglein et al. (2017) voerden experimentele infectiestudies uit om het oorzakelijk verband tussen reptarenavirusinfectie en IBD aan te tonen en slaagden erin om de postulaten van Koch ook in vivo aan te tonen voor reptarenavirussen. Na experimentele infectie van koningspythons (*Python regius*) en boa constrictors met het GGV trad er snel na inoculatie progressieve en ernstige neurologische ziekte op bij

de pythons, terwijl de boa constrictors gedurende een twee maanden durende opvolgingsperiode geen symptomen ontwikkelden. Bij de boa's werden wel virale infectie en het veralgemeende voorkomen van grote aantallen inclusies gedetecteerd, maar er werden geen histopathologische letsels vastgesteld ter hoogte van de organen waarvan de cellen virale inclusies bevatten. Bij de geïnoculeerde pythons werden er enkel in het CZS beperkte aantallen inclusies aangetroffen. Op histopathologisch onderzoek werd echter wel inflammatie aangetoond ter hoogte van het hersenweefsel waaraan de geobserveerde CZS-symptomen konden gelinkt worden.

Hoewel IBD en gerelateerde ziekte initieel voornamelijk bij pythons werden vastgesteld, lijkt er sinds het begin van de jaren negentig van de vorige eeuw een epidemiologische shift opgetreden te zijn, waarbij BIBD sindsdien vaker bij boa constrictors dan bij pythons vastgesteld wordt (Chang en Jacobson, 2010). Een opvallende bevinding is de lage of veelal afwezige morbiditeit bij pythons in gemengde slangencollecties met een groot aantal subklinisch BIBD-positieve boa's en hevige, persistente bloedmijtinfectie, zoals werd vastgesteld in een recente, groot-schalige prevalentiestudie van Simard et al. (2019). Verder onderzoek is noodzakelijk om deze evolutie en bevindingen te verklaren en de eventuele opbouw van populatie-immuniteit bij bepaalde slangentaxa te bestuderen. Een verkeerde interpretatie van vaststellingen bij met BIBD geïnfecteerde slangen ten gevolge van het oorspronkelijk enigmatische aspect van de aandoening en het ontbreken van hoog sensitieve en specifieke diagnostische testen gedurende de eerste decennia na de eerste beschrijving van BIBD kunnen eveneens een verklaring vormen voor de schijnbaar opgetreden epidemiologische shift.

PATHOGENESE, PATHOLOGIE EN SYMPTOMEN

De exacte pathogenese van BIBD is nog steeds niet opgehelderd. Overdracht zou voornamelijk via rechtstreeks en onrechtstreeks contact optreden hoewel reptarenavirussen vermoedelijk een korte overlevings-tijd in de omgeving kennen. Zowel in de mondholte als de mest en urine en zelfs ter hoogte van de huid van geïnfecteerde slangen werden hoge virale loads aangetroffen (Stenglein et al., 2017). Recent werd er eveneens verticale transmissie van BIBD bij boa constrictors aangetoond (Keller et al., 2017). Ook bloedzuigende vectoren, onder andere de bij in gevangenschap gehouden slangencollecties vaak voorkomende mijt, *Ophionyssus natricis*, zouden een rol spelen in de transmissie alhoewel er hiervoor nog geen sluitend bewijs werd geleverd (Hepojoki et al., 2015a).

De incubatieperiode voor het verschijnen van de typische intracytoplasmatische inclusies lijkt variabel te zijn. Na experimentele infectie van boa's en

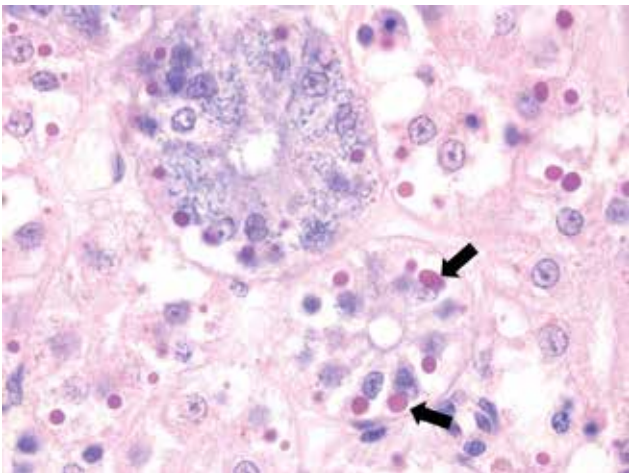
pythons werden BIBD-inclusies op het einde van de observatieperiode bij boa constrictors aangetroffen (Stenglein et al., 2017). In de studie waarbij verticale transmissie van BIBD bij boa constrictors werd bestudeerd, kon viraal RNA reeds bij embryo's aangetoond worden, terwijl inclusies bij neonatale boa's pas na twee maanden konden gedetecteerd worden (Keller et al., 2017). Volgens de auteurs treedt verticale transmissie niet routinematig op (T. Hellebuyck, persoonlijke mededeling, 2019). Bij nakomelingen van een BIBD-positief ouderpaar werden gemiddeld zes weken na de geboorte echter wel inclusies in circulerende lymfocyten vastgesteld. Opvallend was dat de inclusies zich slechts bij 50 % van de nakomelingen ontwikkelden en ernstige en fatale CZS-symptomen eveneens enkel bij de BIBD-positieve nakomelingen optraden nog voor de inclusies in de perifere witte bloedcelfractie konden gedetecteerd worden.

Sinds de eerste rapportering van BIBD wordt een hele reeks symptomen, zoals stomatitis, pneumonie, dermatitis, regurgitatie, lymfoproliferatieve aandoeningen en neurologische symptomen routinematig geassocieerd met BIBD-infectie (Schumacher et al., 1994; Chang en Jacobson, 2010). Het kan niet genoeg benadrukt worden dat er met grote voorzichtigheid dient omgegaan te worden met het correleren van een ziektebeeld met het detecteren van BIBD-inclusies en/of reptarenavirus RNA bij boa's en pythons. Voornamelijk wat betreft specifieke symptomen dient in beschouwing genomen te worden dat veel BIBD-positieve dieren latent en subklinisch geïnfecteerd zijn en de vastgestelde symptomen bij deze dieren vaak toegewezen kunnen worden aan simultaan voorkomende ziekte (Simard et al., 2019). Een correcte, allesomvattende diagnostische aanpak is aldus van het grootste belang om het vormen van verkeerde conclusies te vermijden. Anderzijds bestaat er een aanzienlijke kans dat veel van de symptomen die bij BIBD-positieve slangen gezien worden comorbiditeiten zijn die optreden of gefaciliteerd worden ten gevolge van lokale of systemische immunosuppressie die het gevolg is van infectie met reptarenavirussen (Hyndman et al., 2019; Simard et al., 2019). Verder onderzoek is noodzakelijk om de pathogenese van BIBD op te helderen en te linken aan ziektebeelden die geobserveerd worden bij geïnfecteerde slangen. Na een correcte diagnose van de onderliggende oorzaak verdwijnen veel comorbiditeiten bij het instellen van een gepaste therapie. Omwille van aanhoudende immunosuppressie bestaat er bij persistent met BIBD geïnfecteerde dieren echter een grote kans op recidieven, ook voor de meest banale aandoeningen.

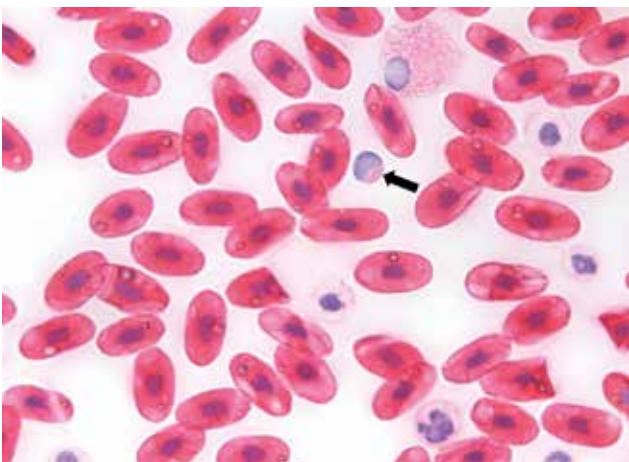
Klassiek worden neurologische symptomen ten gevolge van infectie van het centrale zenuwstelsel als het meest karakteristiek beschouwd voor klinische BIBD-infectie. Deze symptomen uiten zich in de vorm van milde tot uitgesproken incoördinatie, verlies van de omkeerreflex, tremoren en opisthotonus (Schumacher et al., 1994; Stenglein et al., 2017) (Figuur 1).



Figuur 1. “Head-tilt” en afwezige omkeerreflex bij een koningspython (*Python regius*) met “booid inclusion body disease”. Histologisch onderzoek van het hersenweefsel van deze slang toonde non-suppuratieve meningo-encefalitis en eosinofiele, intracytoplasmatische inclusies in neuronen aan.



Figuur 2. Karakteristieke eosinofiele, intracytoplasmatische BIBD-inclusies (pijltjes) in nefrocyten van een boa constrictor (*Boa constrictor*). Hematoxyline- en eosinekleuring, 1000x.



Figuur 3. Karakteristieke eosinofiele, intracytoplasmatische BIBD-inclusie (pijltjes) in een lymfocyt van een boa constrictor (*Boa constrictor*). Bloeduitstrijkje, hematoxyline- en eosinekleuring, 1000x.

Bij pythons worden occasioneel parese en paralyse vastgesteld van het distale deel van het lichaam met distentie van het caudale coeloom ten gevolge van paralytische ileus en ophoping van eindmest en urine (T. Hellebuyck, persoonlijke mededeling, 2019). Histopathologisch worden bij boa's dikwijls BIBD-inclusies aangetroffen in de cellen van het CZS, terwijl deze bij pythons meestal in beperkte mate aanwezig zijn of zelfs niet gevonden worden. Zowel bij boa's als pythons met CZS-symptomen wordt in de meeste gevallen echter wel non-suppuratieve meningo-encefalitis (NSME) vastgesteld. Indien NSME wordt vastgesteld zonder de aanwezigheid van BIBD-inclusies is het van het grootste belang om eveneens reptarenavirus RT-PCR uit te voeren op hersenweefsel.

Symptomen die een significant maar onrechtstreeks verband met BIBD-infectie lijken te vertonen, zijn neoplastische aandoeningen, vertebrale osteomyelitis, dermatitis en recidiverende respiratoire infecties (Simard et al., 2019). Zoals hoger beschreven kan er voor deze aandoeningen geen primair causaal verband met BIBD aangetoond worden, maar dienen ze beschouwd te worden als comorbiditeiten die optreden ten gevolge van viraal geïnduceerde immunosuppressie. Voornamelijk lymfoproliferatieve neoplastische aandoeningen werden reeds beschreven bij BIBD-positieve boa's (Hellebuyck et al., 2015; Schillinger et al., 2011; 2014). Zowel RNA van een reptarenavirus als BIBD-inclusies werden reeds aangetoond in neoplastische cellen van een odontogeen fibromyxoma bij een boa constrictor door Hellebuyck et al. (2015). De auteurs opperden ook in dit geval dat er geen primair verband bestond tussen de neoplasie en de virale infectie, maar het virus wel een tropisme vertoonde voor de snel delende neoplastische cellen.

Relatief vaak voorkomende aandoeningen die vastgesteld worden bij BIBD-positieve boa's zijn vertebrale discospondylitis en osteomyelitis (Simard et al., 2019). Meestal zijn de caudale thoracale of lumbale wervels aangetast met uiteindelijk het ontstaan van uitvalsverschijnselen ter hoogte van de caudale lichaamshelft tot gevolg. Veelal zijn harde, nodulaire letsels te zien of zijn deze palpeerbaar ter hoogte van de dorsale middenlijn ten gevolge van beenderige proliferatie van de onderliggende aangetaste wervels. In sommige gevallen worden eveneens orgaanlocalisaties ter hoogte van de lever en gonaden gezien. Uitvalsverschijnselen worden veroorzaakt door stenose van het wervelkanaal met ruggenmergcompressie tot gevolg. Bijna in alle gevallen worden *Salmonella* spp. geïsoleerd uit de wervelletsels. Reptielen worden beschouwd als reservoirs van veelal zoönotische *Salmonella* spp. (Pasmans et al., 2008). Opvallend is dat *Salmonella* spp. die met dit letsel geassocieerd worden, minder frequent intestinale kolonisatie lijken te vertonen en dus een extra-intestinaal tropisme lijken te hebben voor bot. Bij aangetaste, BIBD-positieve dieren wordt vermoed dat immunosuppressie het ontstaan van bacteriëmie faciliteert en aanleiding geeft

tot kolonisatie van de intervertebrale ruimtes met het ontstaan van vertebrale osteomyelitis tot gevolg. Volgens de auteurs worden klachten in deze gevallen meestal in het eindstadium opgemerkt en bijgevolg aangeboden in een stadium waar antimicrobiële behandeling inefficiënt is omwille van de reeds aanwezige botpathologie en de onomkeerbare geassocieerde neurologische schade.

DIAGNOSTIEK

De correcte diagnose van BIBD is belangrijk op het niveau van het individuele dier. Elke boa of python die met ziekte tekenen wordt aangeboden in de praktijk wordt het best routinematig getest voor BIBD. Dit vormt eveneens een belangrijk onderdeel van ingangscorolles die bij grotere collecties dienen uitgevoerd te worden.

De diagnose van BIBD berust enerzijds op het aantonen van de karakteristieke eosinofiele of amfofiele, intracytoplasmatische inclusies die in epitheliale cellen van de meeste organen en in neuronen van het centrale zenuwstelsel kunnen aangetroffen worden en anderzijds op het aantonen van reptarenavirus-RNA (Hyndman et al., 2019; Simard et al., 2019). Voornamelijk bij boa's kunnen inclusies relatief vlot aangetoond worden (Simard et al., 2019). Alhoewel het onderzoeken van histologische secties van leverweefsel vroeger als de gouden standaard werd beschouwd voor wat betreft de ante-mortemdiagnostiek van IBD, is het ondertussen bekend dat het opsporen van inclusies in de witte bloedcelfractie (voornamelijk lymfocyten) op bloeduitstrijkjes of buffy-coatuitstrijkjes erg betrouwbaar is, tenminste voor boa's (Simard et al., 2019). Hematoxyline- en eosinekleuring (H&E) is de meest aangewezen kleuring om de inclusies ondubbelzinnig te kunnen identificeren in bloed- en weefselstalen. Er blijkt een sterke correlatie te bestaan tussen het aantonen van de inclusies in buffy-coatuitstrijkjes en bloeduitstrijkjes (Simard et al., 2019). De meerwaarde van buffy-coatuitstrijkjes beperkt zich aldus tot het concentreren van witte bloedcellen, waardoor een gemiddeld kleiner aantal microscopische velden dient gescreend te worden om de aanwezigheid van inclusies in de perifere witte bloedcellen aan te tonen of uit te sluiten. Ook tussen uitstrijkjes en histologisch onderzoek van orgaancoupees blijkt een uitstekende correlatie te bestaan (Figuur 2 en 3). Op basis van langetermijnopvolging en het repetitief testen van BIBD-positieve slangen werd door de auteurs vastgesteld dat het voorkomen van transiënte infectie erg onwaarschijnlijk is en eens inclusies worden gedetecteerd bij een slang deze bij elke herhaling van inclusietesten consistente resultaten bekomen worden.

Het opsporen van inclusies in bloed- of orgaanstalen dient steeds gecombineerd te worden met het aantonen van reptarenavirusinfectie om de zekerheidsdiagnose van BIBD te stellen. Een aanzienlijk aantal commerciële labo's biedt op dit ogenblik diag-

nostische testen aan voor het aantonen van BIBD/reptarenavirus-infectie. In de meeste gevallen wordt RT-PCR toegepast op bloed- of orgaanstalen, excreta en/of tonsillaire swabs. Valsnegatieve RT-PCR-resultaten kunnen veroorzaakt worden door staalname tijdens een niet-viremische fase, in geval van transiënte infectie of op een ogenblik dat er geen virus uitgescheiden wordt zoals ook wordt vastgesteld bij zoogdieren met mammarenavirusinfectie (Hyndman et al., 2019). Anderzijds is het eveneens mogelijk dat uitgesproken genetische diversiteit binnen het *Reptarenavirus*-genus verantwoordelijk is voor vals-negatieve resultaten. Afhankelijk van het gebruikte RT-PCR-protocol is het dus mogelijk dat bepaalde reptarenavirussen aan detectie ontsnappen. Idealiter zouden stalen in die gevallen aan een combinatie van RT-PCR-protocollen of aan een "hemi-nested" RT-PCR dienen onderworpen te worden (Bodewes et al., 2013; Stenglein et al., 2017). Bij sommige slangen worden IBD-inclusies aangetroffen terwijl ze negatief testen voor reptarenavirussen via RT-PCR. Het is mogelijk dat sterk gelijkende inclusies eveneens ontstaan ten gevolge van infecties met andere agentia, waarvan het bestaan misschien nog niet bekend is, en zelfs ten gevolge van metabole aandoeningen of stapelingsziekten met de vorming van eiwitrijke, niet-infectieuze inclusies tot gevolg (Chang en Jacobson, 2010). Andere methoden, zoals NGS, IF, IHC en ELISA, laten toe infectie met een grote diversiteit aan reptarenavirussen te detecteren, maar zijn niet inzetbaar als routine diagnostische methoden.

In tegenstelling tot boa's is het cruciaal om rekening te houden met de specifieke uitdagingen die de diagnostiek van BIBD bij pythonsoorten stelt. Bij in gevangenschap gehouden boa constrictors werden prevalenties tot 37,3 % vastgesteld voor wat betreft het voorkomen van BIBD in Belgische slangencollecties (Simard et al., 2019). Het overgrote deel van deze dieren vertoont geen symptomen op het moment van diagnose of vertonen symptomen waarvoor geen causaal verband met BIBD kan aangetoond worden. Bij zowel asymptomatische als klinisch aangetaste pythons worden zelden inclusies aangetoond in circulerende witte bloedcellen of in epitheliale cellen van histologische secties van viscerale organen (Hyndman et al., 2019; Simard et al., 2019). Zelfs ter hoogte van het centrale zenuwstelsel zijn inclusies dikwijls beperkt tot neuronen en dikwijls slechts in beperkte aantallen aanwezig. Vaak wordt er bij reptarenavirus-positieve pythons met CZS-symptomen wel NSME vastgesteld op basis van histologisch onderzoek. RT-PCR op tonsillaire swabs of bloed- en orgaanbiopten lijkt dus het meest aangewezen om reptarenavirusinfectie ante mortem te testen bij pythons. Post mortem vormt RT-PCR op hersenweefsel waarschijnlijk de meest betrouwbare methode om reptarenavirus aan te tonen of uit te sluiten bij pythons.

Voor niet-viremische slangen, slangen waarbij op het ogenblik van staalname geen uitscheiding plaatsvindt en voornamelijk voor pythons waarbij zowel

Tabel 1. Belangrijkste aandachtspunten met betrekking tot “boid inclusion body disease” bij boa’s en pythons.

	Boa’s	Pythons
Prevalentie	Hoog (tot bijna 40 %)	Onbekend
Overdracht	In hoofdzaak rechtstreeks, verticale transmissie werd aangetoond	Verticale transmissie werd nog niet beschreven maar treedt waarschijnlijk eveneens op
Ziekteverloop	Een groot aantal BIBD-positieve dieren vertoont latente, subklinische infectie	Er wordt aangenomen dat er zich relatief snel na infectie progressieve en in hoofdzaak neurologische ziekte ontwikkelt. Er is echter meer en meer bewijs dat ook pythons frequent latente infectie kunnen vertonen
Symptomen	Subklinisch, centraal zenuwstelsel (CZS) symptomen, lymfoproliferatieve aandoeningen, recidiverende respiratoire infectie, dermatitis en vertebrale osteomyelitis	Subklinisch of CZS-symptomen
Diagnostiek	BIBD-inclusies in perifere witte bloedcellen. Reptarenavirus RT-PCR op bloedstaal of weefselstaal	BIBD-inclusies vaak gelimiteerd tot CZS of afwezig. Herhaaldelijk RT-PCR op bloedstalen of orgaanbiopten noodzakelijk. Post mortem: RT-PCR op hersenweefsel

viraal RNA als inclusies dikwijls gelimiteerd zijn tot neuronen in het centrale zenuwstelsel, zou het aantonen van antistoffen een alternatief kunnen zijn om contact met reptarenavirus op te sporen (Korzyukov et al., 2016). Ook in dit geval kunnen valsnegatieve antistoftesten niet uitgesloten worden wanneer er geen affiniteit is van de gebruikte merkers met het betrokken arenavirus en in geval van recente infectie; het is ook mogelijk dat er antistoffen aangetoond worden terwijl virale infectie reeds geëlimineerd werd op het ogenblik van het uitvoeren van de serologische test.

HET MANAGEMENT VAN BIBD IN SLANGENCOLLECTIES

Rekening houdend met het wijdverspreid voorkomen van BIBD bij boa’s en pythons in gevangenschap vormt screening van deze aandoening een belangrijk onderdeel van de ingangscntroles bij de introductie van nieuw aangekochte boa’s of pythons in slangencollecties (Pasmans et al., 2008). In sommige landen zijn hobbyisten en kwekers zich goed bewust van het voorkomen van deze aandoening en eisen ze dat boa’s of pythons reeds getest worden voor BIBD voorafgaand aan de aankoop of overdracht van de slang.

Aangezien de exacte incubatieperiode van reptarenavirusinfectie of het detecteerbaar worden van BIBD-inclusies niet bekend is, wordt een quarantaineperiode van minimum twee maanden aangera-

den. Idealiter dienen er testen bij de start en het einde van de quarantaineperiode uitgevoerd te worden.

Binnen bestaande collecties kan er steekproefsgewijs of op het niveau van individuele dieren routinematig gescreend worden. Voornamelijk voor pythons is het noodzakelijk herhaaldelijk te testen rekening houdend met het veelal beperkt en gelokaliseerd voorkomen van BIBD-inclusies en reptarenavirus-RNA ter hoogte van het CZS (Hyndman et al., 2019; Simard et al., 2019). Op basis van de resultaten van een dergelijke screening kunnen positief van negatief testende dieren binnen een collectie gescheiden worden of kunnen meer drastische maatregelen in combinatie met ingangstesten en quarantaine van nieuwe dieren tot BIBD-negatief testende collecties leiden. Als preventieve maatregel en rekening houdend met de reeds aangetoonde verticale transmissie kan er eveneens beslist worden om niet met geïnfecteerde dieren te kweken.

Insleep van ectoparasitaire infectie dient steeds vermeden te worden of adequaat bestreden te worden aangezien voornamelijk bloedzuigende vectoren een potentiële rol in de transmissie van BIBD-infectie kunnen spelen.

CONCLUSIE

Op basis van de huidige kennis omtrent BIBD kunnen de volgende aandachtspunten en conclusies geformuleerd worden (Tabel 1):

- BIBD komt wijdverspreid voor bij boa's en pythons. Voornamelijk bij in gevangenschap gehouden boa constrictors worden hoge prevalenties van persistent, subklinisch geïnfecteerde dieren vastgesteld
- rechtstreekse en onrechtstreekse overdracht via excreta of overdracht via bloedzuigende vectoren vormen waarschijnlijk de belangrijkste route tot transmissie. Verticale transmissie van BIBD werd reeds aangetoond bij boa constrictors
- het opsporen van BIBD-inclusies in H&E-gekleurde bloeduitstrijkjes bij boa constrictors vormt een erg betrouwbare methode om infectie aan te tonen aangezien er een uitstekende correlatie is met RT-PCR-testen voor reptarenavirussen
- het aantonen van BIBD-infectie bij pythons is uitdagend. Meestal is infectie beperkt tot het CZS en worden BIBD-inclusies niet aangetroffen. Reptarenavirus RT-PCR op een bloedstaal of orgaanbiopt is het meest aangewezen als diagnostische methode ante mortem. Het uitvoeren van RT-PCR en histologisch onderzoek op hersenweefsel zijn het meest betrouwbaar bij pythons om de diagnose van BIBD te stellen.
- bij de meeste BIBD-positieve slangen worden geen symptomen gezien op korte tot middellange termijn.
- boa's of pythons met neurologische symptomen dienen steeds getest te worden op BIBD-infectie. Neoplastische aandoeningen, voornamelijk lymfoproliferatief, vertebrale osteomyelitis en recidiverende respiratoire problemen en dermatitis zijn vaak voorkomende comorbiditeiten bij BIBD-positieve boa constrictors en worden vermoedelijk gefaciliteerd door reptarenavirusgeïnduceerde immunosuppressie

REFERENTIES

- Bodewes, R., Kik, M.J., Schapendonck, C.M., Haagmans, B.L., Smits, S.L., Osterhaus, A.D. (2013). Detection of novel divergent arenaviruses in boid snakes with inclusion body disease in The Netherlands. *Journal of General Virology* 94, 1206-1210.
- Chang, L-W., Jacobson, E.R. (2010). Inclusion body disease, a worldwide infectious disease of boid snakes: a review. *Journal of Exotic Pet Medicine* 19, 216-225.
- Chang, L-W., Fu, A., Wozniak, E., Chow, M., Duke, D.G., Green, L., Kelley, K., Hernandez, J.A., Jacobson, E.R. (2013). Immunohistochemical detection of a unique protein within cells of snakes having inclusion body disease, a world-wide disease seen in members of the families Boidae and Pythonidae. *PLoS ONE* 8, e82916.
- Chang, L., Stenglein, M.D., Hernandez, J.A., DeRisi, J.L., Jacobson, E.R. (2016). Detection and prevalence of boid inclusion body disease in collections of boas and pythons using immunological assays. *The Veterinary Journal* 218, 13-18.
- Hellebuyck, T., Pasmans, F., Ducatelle, R., Saey, V., Martel, A. (2015). Detection of arenavirus in a peripheral odontogenic fibromyxoma in a red tail boa (*Boa constrictor constrictor*) with inclusion body disease. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 27, 245-248.
- Hepojoki, J., Kipar, A., Korzyukov, Y., Bell-Sakyi, L., Valapalahti, O., Hetzel, U. (2015a). Replication of boid inclusion body disease-associated arenaviruses is temperature sensitive in both boid and mammalian cells. *Journal of Virology* 89, 1119-1128.
- Hepojoki, J., Salmenperä, P., Sironen, T., Hetzel, U., Korzyukov, Y., Kipar, A., Valapalahti, O. (2015b). Arenavirus coinfections are common in snakes with boid inclusion body disease. *Journal of Virology* 89, 8657-8660.
- Hetzel, U., Sironen, T., Laurinmäki, P., Liljeroos, L., Patjas, A., Henttonen, H., Vaheri, A., Artelt, A., Kipar, A., Butcher, S.J., et al. (2013). Isolation, identification, and characterization of novel arenaviruses, the etiological agents of boid inclusion body disease. *Journal of Virology* 87, 10918-10935.
- Huber, J.B., Böni, J., Hatt, J.M., Soldati, G., Lutz, H., Schüpbach, J. (2002). Identification and characterization of two closely related unclassifiable endogenous retroviruses in pythons (*Python molurus* and *Python curtus*). *Journal of Virology* 76, 7607-7615.
- Hyndman, T.H., Marschang, R.E., Bruce, M., Clark, P., Vitali, S.D. (2019). Reptarenaviruses in apparently healthy snakes in an Australian zoological collection. *Australian Veterinary Journal* 97, 93-99.
- Jacobson, E.R., Oros, J., Tucker, S.J., Pollock, D.P., Kelley, K.L., Munn, R.J., Lock, B.A., Mergia, A., Yamamoto, J.K. (2001). Partial characterization of retroviruses from boid snakes with inclusion body disease. *American Journal of Veterinary Research* 62, 217-224.
- Keller, S., Hetzel, U., Sironen, T., Korzyukov, Y., Vapalahti, O., Kipar, A., Hepojoki, J. (2017). Co-infecting reptarenaviruses can be vertically transmitted in *Boa constrictor*. *PLoS Pathogens* 13, e1006179.
- Korzyukov, Y., Hetzel, U., Kipar, A., Vapalahti, O., Hepojoki, J. (2016). Generation of anti-boa immunoglobulin antibodies for serodiagnostic applications, and their use to detect anti-reptarenavirus antibodies in *Boa Constrictor*. *PLoS ONE* 11, e0158417.
- Pasmans, F., Blahak, S., Martel, A., Pantchev, N. (2008). Introducing reptiles into a captive collection: the role of the veterinarian. *Veterinary Journal* 175, 53-68.
- Schillinger, L., Selleri, P., Frye, F.L. (2011). Lymphoblastic lymphoma and leukemic blood profile in a red-tailed boa. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23, 159-162.
- Schillinger, L., Rossfelder, A., Bonwitt, J., Di Girolamo, N., Rival, F., Gandar, F., Selleri, P., Nicolier, A. (2014). Antemortem diagnosis of multicentric lymphoblastic lymphoma, lymphoid leukemia, and inclusion body disease in a boa constrictor. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 24, 11-19.
- Schumacher, J., Jacobson, E.R., Homer, B.L., Gaskin, J.M. (1994). Inclusion body disease in boid snakes. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 25, 511-524.
- Simard, J., Marschang, R.E., Leineweber, C., Hellebuyck, T. (2019). Prevalence, clinical importance and long term follow-up of inclusion body disease in captive collections of boid snakes. In: *Avian Herpetological and Exotic Mammal Medicine*. Abstracts presented at the 4th International Conference on Avian Herpetological and Exotic Mammal Medicine (ICARE 2019).

Stenglein, M.D., Sanders, C., Kistler, A.L., Ruby, J.G., Franco, J.Y., Reavill, D.R., Dunker, F., DeRisi, J.L. (2012). Identification, characterization, and in vitro culture of highly divergent arenaviruses from boa constrictors and annulated tree boas: candidate etiological agents for snake inclusion body disease. *mBio* 3, e00180-12.

Stenglein, M.D., Jacobson, E.R., Chang, L-W., Sanders, C., Hawkins, M.G., Guzman, D.S-M., Drazenovich, T., Dunker, F. Kamaka, E.K., Fischer D., et al. (2015). Widespread recombination, reassortment and transmission of unbalanced compound viral genotypes in natural arenavirus infections. *PLoS Pathogens* 11, e1004900.

Stenglein, M.D., Guzman, D.S-M., Garcia, V.E., Layton, M.L., Hoon-Hanks, L.L., Boback, S.M., Keel, M.K., Drazenovich, T., Hawkins, M.G., DeRisi, J.L. (2017). Differential disease susceptibilities in experimentally reptarenavirus-infected boa constrictors and ball pythons. *Journal of Virology* 91, e00451-17.

Wozniak, E., McBride, J., DeNardo, D., Tarara, R., Wong, V., Osburn, B. (2000). Isolation and characterization of an antigenically Distinct 68- kd Protein from nonviral intracytoplasmic inclusions in boa constrictors chronically infected with the inclusion body disease virus (IBDV: Retroviridae). *Veterinary Pathology* 37, 449-459.

Vind de juiste werker voor je bedrijf

www.mediaservice.be

Plaats je
personeelsadvertentie in
Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift
en krijg 15% korting.



Mediaservice  
gericht adverteren

Het aanspannen van trekdieren: een beknopt overzicht

Animal traction: a short review

J. De Smet

Diergeneeskundig Verleden, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

j-desmet@skynet.be

SAMENVATTING

Het paard werd in onze contreien eeuwenlang als trekdier gebruikt. Ossen-, koeien- en niet te vergeten menselijke trekkracht vormden voor kleine bedrijven tot halverwege vorige eeuw de oplossing. In de 19^{de} eeuw werden bij ons en in enkele andere streken trekhonden ingespannen. Ezels en muilieren, hier niet inheems, werden in meer zuidelijke gebieden ingezet.

De primitieve opstelling met één trekdier evolueerde tot gespannen van meerdere dieren met complex tuigage. In de loop der eeuwen werd de kunst van het aanspannen steeds meer geperfectioneerd tot ogenschijnlijk een stadium van volmaaktheid bereikt werd halverwege de twintigste eeuw. Na de Tweede Wereldoorlog verdween die hele professionele knowhow. Nu zit het aangespannen rijden nog enkel in de vrijetijdssfeer en bij koninklijke staatsie. In deze bijdrage wordt een kort overzicht gegeven van de verschillende manieren van aanspannen van trekdieren.

ABSTRACT

A short description is given of different ways of using oxen, dogs, draught- and cart horses for traction, mainly in agriculture, in Western Europe in recent centuries. The primitive way of hauling with one animal evolved to complex systems with up to six horses for one carriage. The art attained a state of perfection around 1940-1950, before disappearing rapidly and completely, except for recreative use and in royal celebrations.

INLEIDING

In de middeleeuwen moest elk 'heerlyk hof' (leenhof in eigendom van een 'heer') in oorlogstijd een gewapende ruiter leveren (vandaar de naam 'ridder', Frans: *chevalier*, uit *cheval*). In vreedstijd gingen soms jaren voorbij zonder dat dit het geval hoefde te zijn. Intussen zette de gebruiker van het leenhof zijn strijdros voor de ploeg of liet het de wagen trekken (Figuur 1). Vandaar dat in ons land het veldwerk sinds onheuglijke tijden met paarden gedaan werd (Lindemans, 1952). Men streefde ernaar het trekpaard zo zwaar mogelijk te maken. De fokkerij van lichtere paarden voor de koetsen of het leger kende bij ons maar weinig bijval.

In meer zuidelijke landen werd het paard pas vanaf de 19^{de} eeuw als trekdier ingezet: de boeren behielden zich met ossen. Ook muilieren (*mulet*) werden veel gebruikt, een kruising van een ezelhengst en een merrie. Daarvoor is een groot uitgevallen ezelas nodig, zoals de Poitou-ezel en, waar beschikbaar, een



Figuur 1. Een vroeg tweespan. Zuid-Nederlands paard, met afhangend kruis en korte ledematen, de voorloper van ons trekpaard. De berijder draagt sporen. Gravure van Pieter Bruegel (Uit: Lindemans, 1952).



Figuur 2. Ossenwagen. Schilderij door Vincent van Gogh (1884), bewaard in het Kröller-Müller Museum in Otterlo, Gelderland. Bemerkt de intens lijdzame houding van het dier.

mulassière, een merrie van een Frans trekpaardenras dat uitermate geschikt is voor de productie van muil-dieren. Een muilezel (*bardot*), een kruising van een hengst en een ezelmierrie, valt kleiner uit - er moet een kleine hengst gebruikt worden - en is veel minder sterk (Egter van Wissekerke, 2010). Muilezels komen praktisch enkel voor op Corsica en Sicilië (Willems, 1973).

Het aanspannen van paarden en andere equidae begon in de oudheid met enkel een band om de nek. De lasten mochten dus niet te zwaar zijn, anders riskeerde het paard zich te verhangen (Spruytte, 1977). De uitvinding van de borstriem en later van het schoudergareel (vermoedelijk ontstaan in China, binnengekomen in Europa in de 12^{de} eeuw) vormde de start van een economisch en maatschappelijk belangrijke evolutie. Een hypothese ging zelfs zo ver te stellen dat dit een belangrijk aandeel had in het verdwijnen van de slavernij in Europa (Lefèbvre des Nouëttes, 1931).

In deze bijdrage worden de Franse termen naast de Nederlandse aangegeven (Lahaye et al., 1943). Die waren sterk ingeburgerd in de Vlaamse en Brabantse dialecten. Sommige dialecttermen werden trouwens uit het Frans afgeleid. Een deel 2 van de landbouwwoordenschat over het paard in het 'Woordenboek van de Vlaamse Dialecten' (met de benamingen van het paardentuig) bleef onafgewerkt en onuitgegeven (Magda Devos, persoonlijke mededeling).

OSSENTRACTIE

Wanneer er geen paarden beschikbaar waren, konden ossen en koeien gebruikt worden op het veld. Ook in de middeleeuwse kloosters, die geen krijgsros met ruiter hoefden te leveren, was dit het geval. Vergeleken met de aanspanning van paarden was het werk met ossen zelfs economisch voordelig te noemen. Na een paar jaar dienst werden de beesten afgedankt en ze leverden dan vlees en vet op, dit laatste vooral gebruikt in 'roetkaarsen'. Trekossen waren vooral in-

geburgerd in de Kempen en het 'Land van Luyck'. Eenmaal uitgediend konden ze voor goed geld verkocht worden (Figuur 2). De opkopers trokken met de dieren van de arme zandgronden naar de vette weiden om ze vet te mesten (Lindemans, 1952).

De trekossen, *zeylossen* genoemd (zeyl: koord), werden gekoppeld voor het werk. Met een 'prikstok' leerde de ene os naar links te gaan en de andere naar rechts. Men had dus 'linkse' en 'rechtse' ossen die samen ingespannen werden. Men kon het ossenspan naar links of naar rechts doen gaan door de linkse of de rechtse os met de prikstok aan te porren (Lindemans, 1952).

Op zware leemgronden droegen de ossen een gemeenschappelijk kopjuk uit essen- of beukenhout, waaraan de lange dissel van de ploeg bevestigd was. Op lichte zandgronden trokken beide dieren door-gaans aan een afzonderlijk nekjuk. Dit werd met twee ijzeren staven onder de keel vastgemaakt of met lederen riemen aan de horens vastgebonden. Aan de nekjukken werden de strengen of kettingen van de last bevestigd. Soms werd een voorhoofdsjuk gebruikt: de os trok dan op het voorhoofd. Maar ook een aangepast schoudergareel was gebruikelijk voor ossen en koeien. Het trekpunt op de schouders, waar de strengen bevestigd waren, lag wat hoger dan bij het paard (Van Puymbrouck, 2008).

In de Kempen werd geen prikstok maar een 'muil-iijzer' gebruikt om de ossen te leiden. De dieren droegen een hoofdstel zoals een paard, waarbij de neusrriem vervangen was door twee scharnierende en getande ijzers. Die werden onder de kin samengebonden. Het *kordeel* of menkoord was aan die 'schaar' bevestigd. Door eraan te trekken werd de os door de tanden geprikkeld en leerde hierbij naar links of naar rechts te gaan. De boer had de andere hand vrij om de ploeghaak te leiden. Het kordeel liep dan verder over de kop van de ossen, en werd vastgemaakt aan de linkerhoorn van de os die rechts ging en aan de rechterhoorn van de os die links ging. Als het gespan naar links moest draaien, trok men aan de hoorn van de rechtse os, die dan links draaide en zijn maat mee naar links duwde (Lindemans, 1952).

In andere gevallen werd de tweedelige neusband vervangen door een schaarbit in de muil met een kinketting. De os werd gemend op kordeel zoals een landbouwpaard. Oogkleppen waren niet gebruikelijk. En soms werd een os ingespannen naast een paard. Ook konden koeien als trekdier gebruikt worden voor wie zelfs een os te duur was. In sommige streken was dit nog tot na de Tweede Wereldoorlog het geval. Er werden aangepaste koeiengarelen gemaakt. In West-Vlaanderen gingen twee koeien soms in een 'raamjuk' (Van Puymbrouck, 2008).

Ezels, muildieren en muilezels zijn mediterrane dieren die in ons land niet gekweekt werden. Al in de vroege middeleeuwen werden ze hier toch gebruikt; dit waren dan ingevoerde dieren (Lindemans, 1952). Soms werden kleine karren door een geit of een bok voortgetrokken. Die waren gemakkelijk te

besturen door links of rechts aan de teugel te trekken (Van Puymbrouck, 2008).

TREKHONDEN

Hondenkarren doken in Vlaanderen en Brabant sporadisch op vanaf de 17^{de} eeuw, maar enkel in de steden, niet op het platteland. In de meeste Europese landen was de hond als trekkier onbekend. Er waren enkel trekhonden in België en Nederland, in Elzas-Lotharingen en enkele steden in Zwitserland (Lindemans, 1952). Onder Napoleon waren massale aantallen paarden nodig voor de legers en was er in Frankrijk, waartoe toen ook onze streken behoorden, een tekort aan paarden ontstaan, zodat forse honden voor de karren gespannen werden. In 1811 stond er op de officiële lijst van de diligences ook een *brouette trainée par un chien* (kruiwagen getrokken door een hond) op het korte traject tussen de twee textielsteden Roubaix en Tourcoing (Dépt. du Nord). In Rijsel waren er in 1820 meer dan 250 trekhonden. Ze werden onder andere gebruikt om steenkool te vervoeren en om patiënten en goederen naar het *Hôpital Général* te brengen (Viaene, 1974).

In België bleef het gebruik vóór de 19^{de} eeuw heel beperkt, zeker bij de boeren. De gewone man had enkel een kruiwagen of een stootkar als vervoermiddel. In het westen van Brabant werd een zware hond gebruikt om de kruiwagen te helpen trekken, die door de boer vooruit geduwd werd (Lindemans, 1952). Een hond was goedkoper dan een paard en hij kon ook tussen de berries van een tweewielkar lopen (Figuur 3). In geval er meerdere honden ingespannen waren, was er maar één die tussen de berries liep. Het hondentuig bestond uit een borstgareel, een rugzadel met buikriem en een riem met lussen waardoor de berries staken.

De melkkarren om de melk naar de stad te brengen werden getrokken door één of twee honden. Ook kollehandelaars, visleurders en voddenmarchands spannen trekhonden in. Er werden soms honderden kilo's in de laadbak geladen en daarvoor waren vijf tot zes grote honden nodig. Ook onder de stootkarren werd een trekhond gebonden. Kleine boeren gebruikten ze om hun producten naar de markt te brengen. Er werden kippen en biggen mee vervoerd, zelfs reisduiven (Devriese, 2017). Sommige bakkers lieten een ingespannen hond naast hun bakfiets lopen, soms aan elke kant één. In 1898 waren er in België 50.000 trekhonden, in Brussel alleen al 10.000 (Van Puymbrouck, 2008).

In 1876 vermeldde het politiereglement in Brugge dat al de ingespannen honden een muilband moesten dragen (*tous les chiens attelés doivent être muselés*). Honden die invaliden vervoerden (één of twee honden per karretje) waren ontslagen van hondentaks. In 1888 suggereerde een Gentse hoogleraar dat een hond van 40 à 50 kg een last van 250 à 275 kg mocht trek-

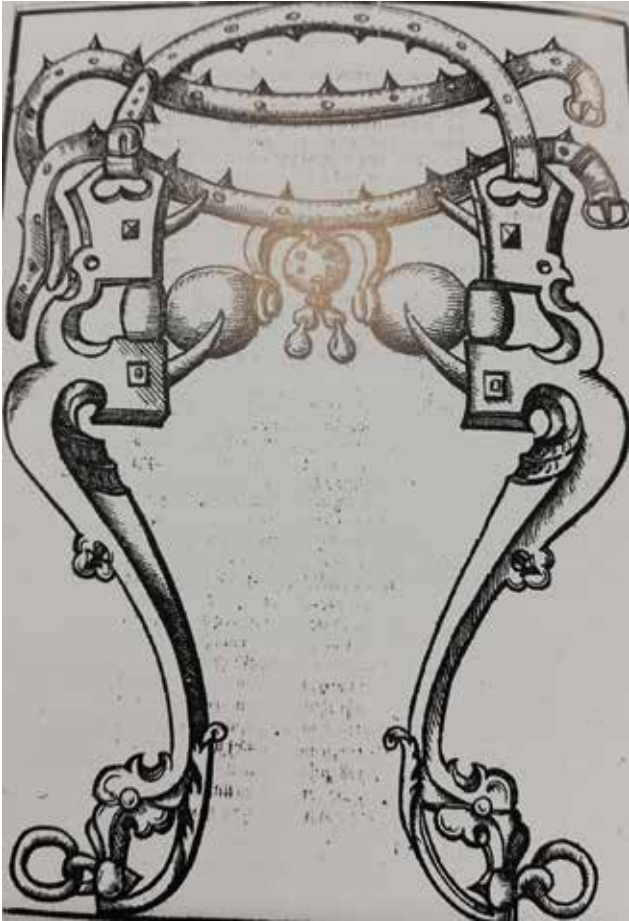
ken (Devriese, 2001). In 1889 stond in het provinciaal verkeersreglement dat het verboden was om trekhonden te gebruiken die er ongeschikt voor waren. En in de zomer was het verboden om de honden onbeschermt in de zon te laten staan. Het politiereglement werd uitgebreid in 1890: ingespannen honden moesten door de voerder aan de leiband gehouden worden (*de geleider zal links aan het hoofd van het gespan gaan*). Binnen de stad mocht de voerder dus niet op de kar



Figuur 3. Hondenkar (Uit: Zaczek I. 2000).



Figuur 4. Hondentractie bij de Belgische infanterie in augustus 1914 (Uit: Andriessen, 2002).



Figuur 5. Martelende breidel in 1608 in gebruik bij de paardendressuur (Fayser von Arnstain J.) (Uit: von den Driesch en Peters, 2002).



Figuur 6. Trekpaard met zaaimachine in de Gentse kanaalzone (Foto: Philip Claus).

zitten. En als er een paardengespan naderde moesten de hondenkarren opzij gaan (Jos. De Smet, 1967).

De hondentractie kende een bloeitijd in de Eerste Wereldoorlog. De Belgische infanterie gebruikte hondenkarren om machinegeweren en munitiekisten te vervoeren (Figuur 4). In het bezette landsdeel eisten de Duitsers bijna alle paarden op. Ze hadden blijkbaar meer medelijden met de honden dan met de mensen:

zo was het verboden om personen boven de drie jaar in een hondenkar te vervoeren (Jos. De Smet, 1967). Na de Eerste Wereldoorlog werden beperkende maatregelen ter bescherming van de trekhond van kracht. De wet van 22 maart 1929 legde de toepassingsdecreten vast.

In België duurde het tot het einde van de jaren '50 van de vorige eeuw vooraleer trekhonden verboden werden. In Groot-Brittannië was dit al honderd jaar eerder het geval. De wet op de dierenbescherming van 2 juli 1975 maakte ook in ons land officieel een einde aan de hondentractie, maar toen was de hondenkar al lang uit het straatbeeld verdwenen.

TREKPAARDEN

Enkelspan

Het gareel (*collier*) werd vervaardigd uit leer en essenhout, met ijzeren beslag en opgevuld met hooi, stro en paardenhaar. Er bestonden verschillende uitvoeringen: het gareel van een trekpaard weegt ongeveer 13 kg. Garelen om wagens te trekken op verharde wegen waren minder zwaar, en bij een koetspaard waren en zijn (nog altijd) de garelen heel licht. Een regenkraag of -kap bovenaan het gareel moest beletten dat er water tussen het gareel en de schouders van het paard sijpelde (Van Puymbrouck, 2008). Soms was het gareel bijna helemaal van hout gemaakt: dit noemde men een haam (bijvoorbeeld bij artilleriepaarden, de paarden die de kanonnen voorttrokken).

De wagen of het te trekken landbouwwerktuig zat met twee strengen (*traits*) of kettingen vast aan het gareel op ongeveer een derde van de hoogte. De strengen moesten een rechte hoek vormen met het gareel, zodat dit niet naar boven of naar beneden kon schuiven (Lahaye et al., 1943). De positie hing ook af van de stand van de schouders. Als de strengen te schuin liepen, had het paard de neiging om de kar of het landbouwalaam omhoog te heffen, wat een nutteloze inspanning betekent. De strengen moesten één lijn vormen naar de last toe. Meestal waren schokdempers aangebracht, vooral als het paard dikwijls moet halt houden en opnieuw starten (Lahaye et al., 1943). De strengen liepen doorgaans door lederen kokers om het paard niet te kwetsen. Om dezelfde reden werden de strengen bij trekpaarden gedeeltelijk vervangen door essenhouten of ijzeren flanklatten of 'bassen'. Tussen die bassen zaten ringen om de rugriemen aan vast te maken (Van Puymbrouck, 2008).

Een alternatief voor het gareel was de borstriem (*bricole*); die werd eerder voor lichte lasten gebruikt. Een gareel bracht de trekkracht beter over, vooral bij zware lasten, mits het op maat gemaakt was en perfect op de schouderbladen rustte. Met een gareel werd enkel druk uitgeoefend op de schouderbladen. Bij zware paarden hinderde een borstriem de werking van de schouders. Bovendien werd de borst van het paard samengedrukt.

Het schoftstuk of schoftzadel (*sellette*), ook rugkussen genoemd, droeg het disselraam of lamoen (*limonière*). Dit bestond uit twee berries (*brancards*), waar het paard tussen liep (de *tramen* in het West-Vlaams). Zo stond het paard steeds in één lijn met de kar. Als bij een tweewielkar het gewicht van de kar te veel op de rug van het paard drukte werden de berries verhoogd (Lahaye et al., 1943). Het rugzadel was doorgaans breed bij landbouwpaarden en smaller voor vervoer op de weg. De buikriem (*ventrelle*) hield het schoftstuk op zijn plaats. De startriem (*culeron*), die ook vastzat aan het schoftstuk, moest beletten dat het tuig naar voor schoof.

De broek (*avaloire*) was een brede riem rond de billen van het paard, op zijn plaats gehouden door de heup- en lendenriemen. De broek zat met kettingen of riemen vast aan twee haken ongeveer in het midden van de berries. Zo werd belet dat de kar tegen de hielen van het paard doorreed bij een halte of bij vertragen en in afdalingen. Er moest ongeveer 0,75 m afstand zijn tussen de zwenkel (*palonnier*) en de sprong van het paard. De broek kwam ook van pas om de kar achteruit te steken. Als de broek te hoog geplaatst was, kon hij omhoog schuiven tot onder de staart. Bij een te laag geplaatste broek kon het paard geen kracht meer geven. Als er geen disselraam was, werd de broek vastgemaakt aan de borstriem (Lahaye et al., 1943). Voor landbouwaanspanning was doorgaans geen broek nodig: de zware lading stopte vanzelf op een onverharde bodem als het paard niet meer trok.

Het hoofdstel (*bride*) bestond uit de kopriemen met het bit (*mors*), dat verbonden was met de leidsels (*rênes*). Meestal waren er oogkleppen (*oeillères*) aanwezig. Het trensbit bestond uit twee gebogen ijzeren hefbomen (*branches*), met elkaar verbonden door een rechte stang (al dan niet in twee delen) die in de ruimte gelegd werd tussen de snijtanden en de kiezen (*embouchure*). De kinketting (*gourmette*) was eraan vastgemaakt. Als aan de teugel getrokken werd, trokken de hefbomen de kinketting omhoog tot tegen de kin van het paard, dat op die manier gestopt werd (Van Puymbrouck, 2008). In de loop der tijden hebben paardenmenners steeds blijk gegeven van een bijzondere vindingrijkheid om onwillige paarden aan zich te onderwerpen. Sommige bitten, gebruikt in de dressuur, waren echte marteltuigen (Figuur 5). De menner of koetsier zat doorgaans rechts op de bok. Links zat eventueel een palfrenier (*groom*). Die moet bij een halte aan de kop van het paard gaan staan om gevaarlijke schrik- en vluchtreacties te vermijden.

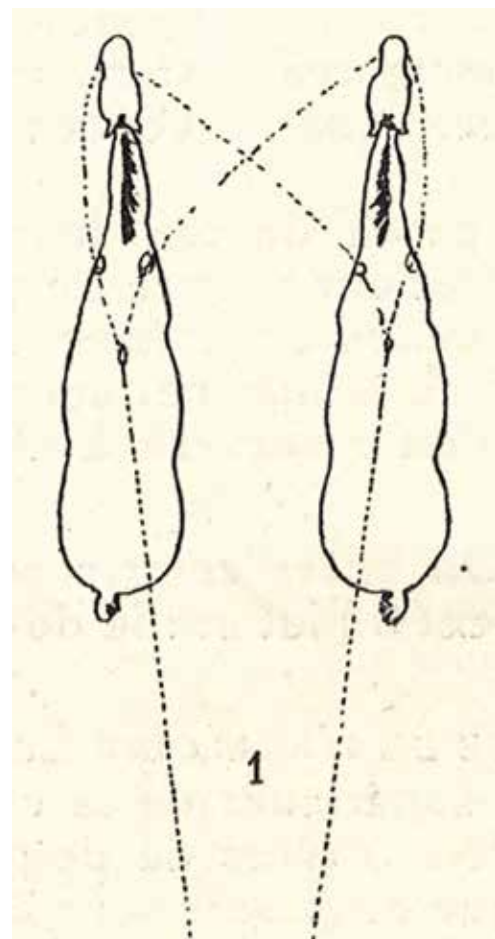
Een landbouwpaard werd gemend met één menkoord (*cordeau*) of *kordeel*. Zo had de boer één hand vrij om de ploeg of de zaaimachine te leiden (Figuur 6). Het kordeel liep gaffelvormig uit naar de twee uiteinden van het bit. Er kon geen afzonderlijke druk gegeven worden op de linker- of de rechtermondhoek van het paard, dus moesten er andere signalen gegeven worden. Aanhoudend traag trekken betekende voor het paard dat het naar links moest draaien; korte

kleine snokjes deden het paard naar rechts afbuigen (Lahaye et al., 1943; Van Puymbrouck, 2008).

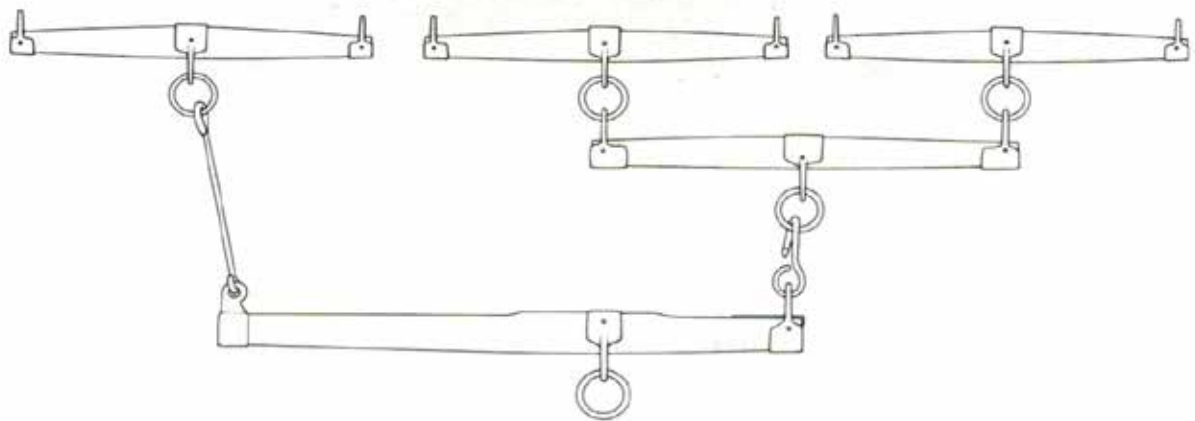
Tweespan

Bij een tweespan was er geen lamoen: de twee paarden trokken aan weerskanten van de dissel of disselboom (*timon*). Ook de broek ontbrak: die functie werd overgenomen door twee kettingen die beide garen met de dissel verbindt. De menner had één paar leidsels (*le meneur est en petites guides*) waarmee hij moest zorgen voor een gecoördineerde actie van de twee paarden. Die konden doorgaans méér trekken dan het dubbele van één paard. De leidsels hadden een gaffelvormig uiteinde (Figuur 7). Het leidsel dat in de linkerhand gehouden werd, zat vast aan de linkerkant van het bit van beide paarden, het rechtse leidsel aan de rechterkant (Lahaye et al., 1943). Als de bitten aan elkaar verbonden waren, had de menner genoeg aan één leidsel voor het linkse en één voor het rechtse paard.

In de landbouw werd alleen het linkse paard gemend: dit was het 'handpaard'. Het rechtse paard, het 'roepaard', was met een bindtouw verbonden aan het handpaard (Lahaye et al., 1943). Dit touw zat vast aan



Figuur 7. Het mennen van een tweespan met één paar leidsels (Uit: Lahaye et al., 1943).



Figuur 8. Positie van de zwenkels bij een driespan (landbouwaanspanning) (Uit: Devliegher, 1992).

de koppelriem aan de rechterkant van het gareel van het handpaard. De koppelriem van het roepaard zat aan de linkerkant van zijn gareel. Zo moest het roepaard steeds het handpaard volgen. Bovendien was het bit van het roepaard met een touw verbonden aan de zwenkel (*palonnier*) van het handpaard. Als het roepaard vlugger stapte dan het handpaard werd het hierdoor afgeremd. Dit touw werd met een speciale knoop vastgelegd: het zat muurvast, maar was in één beweging weer los te maken.

Minder efficiënt was de ‘tandem’, de twee paarden achter elkaar. Het achterpaard liep in het disselraam. Dit paard werd *limonier* genoemd (disselpaard). Het voorpaard liep er los voor (*cheval de volée*). Het menen vereiste veel handigheid: er waren twee paar leidsels nodig. Zaak was het voorpaard in één lijn te laten lopen met het achterpaard. Nog moeilijker was de ‘tridem’, met drie paarden achter elkaar (Lahaye et al., 1943).

Driespan

Deze aanspanning was anno 1900 en vroeger in gebruik bij postwagens en ‘omnibussen’ voor passagiersvervoer, de voorlopers van onze trams en autobussen. Drie aldus ingespannen paarden waren in staat dezelfde last te trekken als een vierspan. Het middelste paard, het lamoenpaard of *limonier*, liep in een disselraam of lamoen. De twee laterale paarden werden *bricoliers* genoemd (‘bijpaarden’ met een borstriem). Bij omnibussen droegen de drie paarden een gareel. De koetsier gebruikte één paar leidsels. Het linkerleidsel zat vast aan de linkerkant van het bit van het linkse paard, het rechterleidsel aan de rechterkant van het bit van het rechtse paard. De bittens van de drie paarden waren met elkaar verbonden. Als aan het linker- of rechterleidsel getrokken werd, gingen de drie paarden tegelijk naar links of naar rechts (Van Puymbrouck, 2008).

In de landbouw werden driespannen ingezet als de last te groot was voor twee paarden, bijvoorbeeld om de maaibinder (pikbinder) te trekken, een zware ploeg of een bietenwagen. De last werd aan een sterke zwenkel, het ‘derde harnas’ genoemd, vastgemaakt op ongeveer één derde van de balklengte (Figuur 8). Aan het rechtse uiteinde ervan kwam een tweede zwenkel met daaraan een zwenkel voor het roepaard en een voor het middenpaard. Aan het linkse uiteinde werd een tussenstang bevestigd met de zwenkel voor het handpaard (Devliegher, 1992).

Een bijzonder driespan was de trojka, eertijds in gebruik bij de Russische postdiensten, met een Orlov-draver in het midden (*le limonier*) en twee galoperende buitenpaarden links en rechts (*les bricoliers*) (Figuur 9). De draver droeg een schoudergareel en liep tussen twee losse berries, die bijeen gehouden werden door een *duga* (boog) in mahonie- of notelaarhout. De buitenpaarden droegen een borsttuig. De paarden werden gemend met twee paar leidsels: de twee middelste waren voor de draver bestemd, de



Figuur 9. Trojka. Schilderij door Alfred Wierusz Kowalski (1849-1915).

twee buitenste gingen naar de buitenkant van de zijpaarden. Moest het span naar links, dan trok de menner de draver en het linkerpaard naar links. Het rechterpaard volgde automatisch, want het hangt vast aan de draver. Bij het naar rechts gaan werden de draver en het rechterpaard naar rechts getrokken en het linkerpaard moest volgen (Van Puymbrouck, 2008).

Bij de aanspanning in *arbalète* waren er twee *timoniers* aan weerszijden van de dissel, met één paard ervoor (*le cheval de volée*). Ook deze aanspanning was moeilijk te besturen: het voorpaard moest in lijn blijven. Er werden twee paar leidsels gebruikt: één paar om het voorpaard te menen en één paar voor de twee achterpaarden (Lahaye et al., 1943). In Engeland werd dit een *unicorn* genoemd, en het voorpaard heette *one horn* (eenhoorn).

Vier- en meerspan

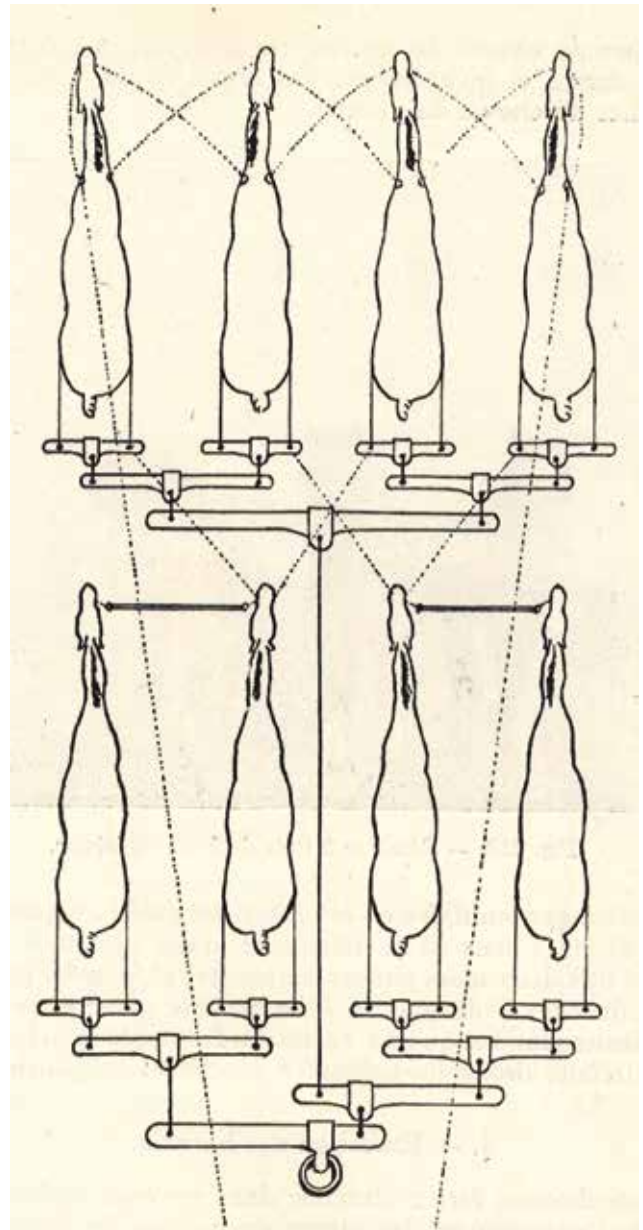
De achterpaarden werden *timoniers* genoemd omdat ze aan weerszijden van de dissel (*timon*) stappen. Die dissel liep niet door tot de voorpaarden (*chevaux de volée*). De menner had twee paar leidsels (*le meneur est en grandes guides*), waarmee hij ernaar streefde om van de vier verschillende individuen één 'span' te maken. De paarden moesten in één lijn lopen, de achterpaarden in het spoor van de voorpaarden. Er bestonden ook zes- en achtspannen.

Bij landbouwaanspanningen met twee voor- en twee achterpaarden werden enkel de voorpaarden gemend. Er liep een koord van het bit van het linkerachterpaard naar het linkse uiteinde van de zwenkel van het rechtervoorpaard. Een andere koord liep van het bit van het rechterachterpaard naar het rechtse uiteinde van de zwenkel van het linkervoorpaard (Lahaye et al., 1943).

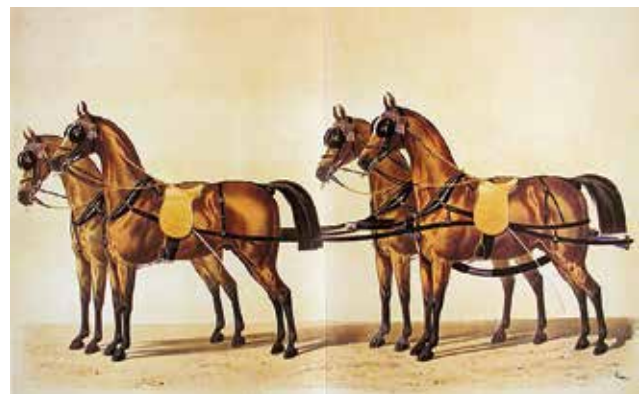
Als men vroeger vier landbouwpaarden naast elkaar inspande, zat één van de leidsels vast aan de linkerkant van het bit van het linkerpaard, de andere aan de rechterkant van het bit van het rechterpaard. De paarden in het midden waren met elkaar verbonden door koorden of stokken aan hun bit. Een andere mogelijkheid bestond erin telkens het bit van het ene paard met een koord te verbinden aan het gareel van het paard ernaast en omgekeerd (Lahaye et al., 1943).

Bij multi-pele aanspanningen in de landbouw achter elkaar (vier voor- en vier achterpaarden) werden enkel de voorpaarden gemend, de achterpaarden waren onderling verbonden met een stok gefixeerd aan hun bitten, en met koorden aan de zwenkels van de voorpaarden (Lahaye et al., 1943) (Figuur 10).

Een bescheiden maar krachtig werktuig was de boomezel of 'mallejan', gebruikt om boomstammen uit de kapegebieden te halen. Dit was een énasige 'kar' waaronder de stam met kettingen gehangen werd. Het trekken gebeurde door een of meerdere paarden. Soms werden twee driespannen met twee menners ingezet om zware exemplaren uit moeilijke terreinen te halen (Devriese en Maes, 2013).



Figuur 10. Meerspan (landbouwaanspanning): alleen de twee buitenste voorpaarden werden gemend met één paar leidsels (Uit: Lahaye et al., 1943).



Figuur 11. Daumontaanspanning (Uit: Lahaye et al., 1943).

Daumontaanspanning

Deze vorm van aanspannen is genoemd naar de Franse edelman d'Aumont (1709-1782) en was in gebruik voor postwagens en bij de artillerie (Figuur 11). Op het getrokken voertuig was geen bok voor de koetsier: de aanspanning werd dus op een andere manier bestuurd. Gewoonlijk ging het om een vierspan, soms was het een tweespan: dit was dan een halve Daumont (Lahaye et al., 1943).

Op de linkerpaarden (*porteurs*) lag een zadel, waarop een postiljon zat. Dit waren de *bijdehandse* paarden. De rechterpaarden (*sous-verges*) droegen alleen zadeltassen. Dit waren de *vandehandse* paarden. De achterpaarden waren verbonden met de dissel, de voorpaarden niet. De achterpaarden droegen een ga-reel en een broek, de voorpaarden trokken doorgaans met een borstriem en hadden geen broek.

De voorste berijder gaf de richting aan, de achterste hield zich bezig met de eigenlijke tractie. Beiden moesten bovendien hun respectievelijke *sous-verge* in de gaten houden. De voorste ruiter leidde het vandehands voorpaard met een lijn die liep van dit paard naar het zadel van het bijdehands voorpaard. De achterste ruiter had een zweep bij om het vandehands achterpaard desgevallend aan te sporen.

Zes- en achtspannen waren in gebruik bij de artillerie om de zware kanonnen in stelling te brengen op de slagvelden van Waterloo en de Eerste Wereldoorlog. De Engelse koningin wordt hedentendage bij plechtigheden rondgereden in een Daumontspan van zes paarden.

SLOT

Aan het eind gekomen van dit verhaal mogen we niet nalaten te vermelden dat onze beroepsnaam 'veterinair' afgeleid is van deze zo behulpzame en nederige dieren. De Latijnse term *veterina* betekent lastdieren of trekdieren (Devriese, 2012).

En vergeet niet: 'Love and marriage go together like a horse and carriage' (Cahn en Van Heusen, vertolkt door Frank Sinatra, 1955 en 1965).

DANKBETUIGING

Aan Luc Devriese, Omer Gunst, Paul Bonte, Paul Desmet, Marc Stalpaert, Daniël Vereenoghe, Joris Maes en Nadia Eeckhout.

REFERENTIES

- Andriessen J. (2002). *De Eerste Wereldoorlog in Foto's*. Rebo Productions, Lisse.
- Anonim (1933). *Handboek voor het Reservekader der Artillerie*.
- De Smet, Jos. (1967). De hondenkar in het volksleven. *Biekorf* 68, 38-42.
- Devliegher, L. (1992). *Landelijk en Ambachtelijk Leven*. Provinciaal Museum Bulskampveld, Beernem.
- Devriese, L. (2001). Dierenwelzijn in het 19^{de}-eeuwse Gent. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 70, 14-16.
- Devriese, L. (2012). From mules, horses and livestock to companion animals: a linguistic-etymological approach to veterinary history, mirroring animal and (mainly) human welfare. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 81, 237-246.
- Devriese, L., Maes, A. (2013). Paardentrekkracht. *Van Mensen en Dingen* 11, 74-80.
- Devriese, L. (2017). Duiven met de hondenkar naar Parijs (1830). *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 86, 15.
- Egter van Wissekerke, J. (2010). *Van Kwade Dries tot Erger. Gebruik en Veterinaire Verzorging van Paarden in het Leger (1762-1874)*. Erasmus Publishing, Rotterdam.
- Lahaye, J., Marcq, J., Cordiez, E. (1943). *Le Cheval*, tome II. Duculot, Gembloux.
- Lefèbvre des Nouëttes, R. (1931). *L'Attelage à travers les Âges, Contribution à l'Étude de l'Esclavage*. Picard, Paris.
- Lindemans, P. (1952). *Geschiedenis van de Landbouw in België*, deel II. De Sikkels, Antwerpen.
- Sidney, S. (1879). *The Book of the Horse*. Cassell, London.
- Spruytte, J. (1977). *Études Expérimentales sur l'Attelage*. Crépin-Leblond, Paris.
- Van Puymbrouck, M. (2008). *Garelenmozaïek*. Drukkerij Marc Janssens, Melsele.
- Viaene, A. (1974). Vervoerdienst per hondenkar (1798-1820). *Biekorf* 75, 173.
- von den Driesch A., Peters, J. (2002). *Geschichte der Tiermedizin*. Schattauer, Stuttgart.
- Willems, A.E.R. (1973). *De Paardenrassen*. Gakko, Gents Akadernisch Koöperatief.
- Zaczek, I. (2000). *Honden in de Kunst en de Literatuur*. Librero, Hedel.

Effect van de eindbeerlijn op groeiprestaties, karkas- en vleeskwaliteit

^{1,2} E. Kowalski, ¹M. Aluwé, ²E. Vossen, ¹S. Millet, ²St. De Smet, ³Sa. De Smet, ³E. Beeckman

¹ILVO, Scheldeweg 68, B-9090 Melle

²Laboratory for Animal Nutrition and Animal Product Quality, Vakgroep Dierwetenschappen en Aquatische Ecologie, Coupure Links 653, B-9000 Gent

³Varkensloket, Scheldeweg 68, B-9090 Melle

Uit onderzoek van ILVO en LANUPRO (UGent) blijkt het belang van de eindbeerkeuze op de technologische en sensorische vleeskwaliteit. Vleesvarkens met een Canadese Durocbeer als vader gaven de beste vleeskwaliteit, gevolgd door nakomelingen van de Franse Piétrain en tenslotte de Belgische Piétrain. Maar als varkenshouder is het thans nog het meest rendabel om de Belgische Piétrain als eindbeerlijn te gebruiken, aangezien de uitbetaling hoger is door de betere karkaskwaliteit. Mogelijkheden om een meerprijs te krijgen voor de vleesvarkens met een betere vleeskwaliteit zijn bijvoorbeeld door deze zelf te commercialiseren of aan te sluiten bij een label.

Al meerdere decennia wordt in Vlaanderen geselecteerd op magere vleesvarkens met een lage voederconversie en een hoog versnijdingsrendement. De laatste jaren groeit evenwel de bezorgdheid over onvoldoende sensorische (dit wil onder andere zeggen weinig smaak gerelateerd aan het lage intramusculaire vetgehalte) en technologische kwaliteit (onder andere het hogere dripverlies) van het varkensvlees voor vers gebruik en verdere verwerking.

Bij ILVO en LANUPRO (UGent) wordt daarom onderzocht wat de mogelijkheden zijn om de vleeskwaliteit via de eindbeerlijn te verbeteren en wat de eventuele gevolgen zijn voor de karkaskwaliteit en de voederkost. In een eerste proef werden drie eindbeerlijnen: Belgische Piétrain (BP), Franse Piétrain (FP) en Duroc met Canadese afkomst (CD) vergeleken vanaf de vleesvarkensstal tot op het bord.

De homozygoot stresspositieve Belgische Piétrain werd gekozen als referentiebeer voor het Vlaamse vleesvarken. Deze referentiebeer wordt gekenmerkt door een lage voederconversie en een hoge karkaskwaliteit. De referentielijn werd vergeleken met twee eindbeerlijnen: een lijn met deels Franse Piétrain (Hypor Maxter) en een Duroc-lijn van Canadese afkomst (Hypor Magnus). Beide lijnen zijn homozygoot stressnegatief.

Van de drie eindbeerlijnen werden vijf of zes verschillende eindberen ingezet. In totaal werden hiervan 215 nakomelingen (gelten en immunocastraten) opgevolgd vanaf negen weken oud tot de slacht en werden zoötechnische prestaties en karkaskwaliteit vergeleken. Van 120 van deze vleesvarkens werden de carré

en de ham verzameld voor vleeskwaliteit.

De Belgische Piétrain heeft een gunstigere voederconversie dan de Canadese Duroc en Franse Piétrain.

De gemiddelde groeisnelheid verschilde bijna 200 gram per dag tussen de nakomelingen van de drie eindbeerlijnen. De nakomelingen van de Canadese Duroc groeiden opmerkelijk sneller dan deze van de Franse Piétrain die op hun beurt sneller groeiden dan deze van de Belgische Piétrain. In lijn met de groeiresultaten was de dagelijkse voederopname ook het hoogst voor de Canadese Duroc en Franse Piétrain en het laagst voor de Belgische Piétrain. Bij de Belgische Piétrain werd tevens een trend gezien tot de laagste en meest gunstige voederconversie in vergelijking met de twee andere eindbeerlijnen, de Franse Piétrain en Canadese Duroc.

Het karkasrendement van de vleesvarkens van de Belgische Piétrain was het hoogst, gevolgd door deze van de Franse Piétrain. Het karkasrendement van de Canadese Duroc was het laagst. Ook voor het mager-vleespercentage scoorden de nakomelingen van de Belgische Piétrain het best, wederom gevolgd door de Franse Piétrain en Canadese Duroc. In lijn met bovenstaande bevindingen waren de MBI, een maat voor karkasconformatie in combinatie met het mager-vleesaandeel en dus ook de uitbetaling per kg karkas in het slachthuis waar de dieren geslacht werden, het gunstigste voor de Belgische Piétrain en beduidend beter dan voor de Franse Piétrain en Canadese Duroc.

Om "pale soft and exudative" (PSE) vlees te kunnen detecteren aan de slachtlijn werd de pH-waarde van de carré en ham 35 minuten na het slachten gemeten. Indien de pH-waarde van het spierweefsel kort na het slachten te snel daalt (pH na 40 min <5,8) en de lijkstijfheid snel ingaat, kan dit aanleiding geven tot PSE-vlees. In het onderzoek was de gemiddelde pH-waarde van de carré voor de Franse Piétrain (6,6) en de Canadese Duroc (6,7) hoger dan voor de Belgische Piétrain (6,5). Anderzijds was het niet mogelijk om een verschil op te merken tussen de gemiddelde pH-waarde van de ham voor de drie eindbeerlijnen (BP: 6,6; FP: 6,6; CD: 6,7). In deze proef werden geen karkassen met PSE-eigenschappen geobserveerd.

Er werd eveneens een verschil opgemerkt in het dripverlies, i. e. maat voor het waterhoudend vermo-

gen, tussen de vleesvarkens. Een hoog dripverlies wordt niet geapprecieerd door de consumenten en de vleesindustrie. De nakomelingen van de Belgische Piétrain hadden een hoger dripverlies in de carré (7,7%) dan de Franse Piétrain (7,0%) en de nakomelingen van de Canadese Duroc (4,9%) hadden duidelijk het laagste dripverlies. Ook in de verse ham was het dripverlies van de nakomelingen van de Belgische Piétrain hoger in de verse ham (4,1%) dan van de twee andere lijnen (3,1% voor Franse Piétrain en 2,3 % voor Canadese Duroc).

Het verschil in pH-daling en dripverlies tussen de drie eindbeerlijnen kan grotendeels verklaard worden door het effect van het stress-gen. De heterozygote vleesvarkens afkomstig van de Belgische Piétrain stresspositieve eindbeerlijn hebben een grotere kans op een snellere pH-daling (en bijgevolg PSE-vlees) en hoger dripverlies dan de homozygoot stressnegatieve nakomelingen van de Franse Piétrain en de Canadese Duroc. Naast het stress-gen, kan het grote verschil in dripverlies tussen de Piétrain-lijnen en Duroc-lijnen ook verklaard worden door hun genetisch verschillende achtergrond.

Betreffende waterhoudend vermogen kan er dus besloten worden dat de Canadese Duroc het beste scoorde, de Belgische Piétrain het slechtste en de Franse Piétrain tussenin.

Ook het intramusculair vetgehalte (vet in het vlees of marmering) verschilde tussen de eindbeerlijnen. Nakomelingen van de Canadese Duroc hadden het hoogste intramusculair vetgehalte (3,0%) gevolgd door de Franse Piétrain (2,5%) en de Belgische Pié-

train (2,0%). Een negatieve correlatie tussen het aandeel mager vlees en het intramusculair vetgehalte is hiervoor de verklaring.

Het vlees werd door de experten significant sappiger en smakelijker bevonden bij de Canadese Duroc en Franse Piétrain dan bij de Belgische Piétrain. Er was ook een trend naar een hogere taatheid bij de Belgische Piétrain vergeleken met de twee andere lijnen.

Op basis van de resultaten van deze proef was het economisch voordeligst om de Belgische Piétrain als eindbeer in te zetten in een markt waarin de uitbetaling voornamelijk afhangt van de karkaskwaliteit. Het grote verschil in saldo per varkensplaats tussen de Belgische Piétrain en de andere lijnen is voornamelijk te verklaren door het verschil in opbrengst wegens de betere uitbetaling voor een hoger magervleespercentage in het slachthuis. De snellere groei van de Franse Piétrain en Canadese Duroc kan het lagere saldo/varkensplaats/ronde niet compenseren op jaarbasis. Als men als varkenshouder een andere eindbeer wil inzetten om een betere vleeskwiteit aan te bieden, moet men dus een meerprijs kunnen realiseren om de hogere voederkost, het lagere karkasrendement en het lagere magervleespercentage te compenseren. Mogelijkheden hiervoor zijn bijvoorbeeld deze zelf te commercialiseren of aan te sluiten bij een label dat een bonus geeft voor betere eetkwiteit.

Voor vragen of verdere informatie: Eline Kowalski: eline.kowalski@ilvo.vlaanderen.be

INFECTIEUZE RISICO'S VAN VOEDING OP BASIS VAN RAUW VLEES

VRAAG

“De laatste jaren kiezen veel klanten diepvriesvoeding voor hun hond of kat wegens het zogenaamde wolfs patroon. Gezien deze voeding bacteriologisch waarschijnlijk niet steriel is, wat kan de bijdrage ervan zijn tot het verspreiden van immuun-resistente bacteriën, zowel bij mens als dier?”

“Werd dit reeds onderzocht en kan deze voeding een bedreiging voor de volksgezondheid betekenen die door de overheid moet worden gemonitord?”

ANTWOORD

Nowadays, veterinarians receive more and more questions about raw meat-based diets (RMBDs). It is well recognized that these diets may act as a carrier of bacteria and parasites, which may present a health issue not only for pets but also for humans. Therefore, the role of veterinarians in the distribution of the knowledge of and communication about the risk of consuming RMBDs has become essential.

Raw meat, whether sold for human consumption or included in commercial RMBDs, may be contaminated with a variety of pathogens, of which some are well-known zoonotic agents. The most common of these agents are *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Clostridium* spp, *Campylobacter* spp, and *Listeria* spp. Parasites, such as *Toxoplasma gondii*, have also been identified in raw meats.

Despite the control programs implemented by the European Food Safety Authority on food-borne disease, several reports have been published on the presence of *Salmonella* spp and other pathogens in commercial and home-prepared RMBDs. Meat may become contaminated during the evisceration, processing and packing stages. Because freezing and freeze-drying do not destroy all of these pathogens, both home-prepared and commercial RMBDs are at risk of being contaminated with these and other pathogens.

Some RMBD manufacturers currently use high hydrostatic pressure processing in an attempt to reduce the risks of pathogen presence. Although this process can reduce the number of many pathogens, it usually does not eliminate all of them.

Once the dog or cat eats an RMBD, contaminating bacteria can colonize the pet and may result in (sub-clinical) infection. Even though excretion of the

pathogen is usually higher during disease episodes, pets can also shed these pathogens without showing any symptoms and spread them into the environment, which is a risk factor for infection of humans. Humans may get infected with these pathogens due to increased infection pressure in the pet's environment in general, during the preparation of RMBD for their pet, or even in case the animal licks its owner immediately after having eaten raw food. It has been shown that bacteria contaminating meat can be resistant to one or more antimicrobial agents. The presence of antibiotic-resistant bacteria in RMBDs could pose a serious risk to both animal and public health, not only because infections with these bacteria can be more difficult to treat, but also because feeding RMBDs may contribute to the spread of antimicrobial resistant bacteria and antimicrobial resistance genes in pets and their environment.

REFERENCES

- Bree, FPJ, et al. (2018). Zoonotic bacteria and parasites found in raw meat-based diets for cats and dogs. *Veterinary Record* 182 (2), 50.
- Freeman, Lisa M., et al. (2013). Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 243 (11), 1549-1558.
- Hellgren, Josefin, et al. (2019). Occurrence of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium* and *Enterobacteriaceae* in raw meat-based diets for dogs. *Veterinary Record* 184, 442.
- EFSA (European Food Safety Authority) - <http://www.efsa.europa.eu/>

Dierenarts C. Baptista da Silva
 Vakgroep Diervoeding, Genetica en Ethologie,
 Faculteit Diergeneeskunde, UGent,
 Heidestraat 19, B-9820 Merelbeke



EXAMENUITSLAGEN EERSTE EN TWEDE ZITTIJD 2018-2019

Behaalden de academische graad van dierenarts

Optie herkauwers

Bearelle Jan, Blockhuys Carlien, Boone Edward, Brack Marjolein, Braeckvelt Floor, Buijs Déna, Chantillon Laurens, Conraads Charlotte, Coppens Jolien, De Beul Clara, De Knoop Alexis, De la Haye Raphaële, De Vleeschauwer Sammy-Jo, Debruyne Florian, Denys Anthony, Devoet Sebastien, Haems Kristof, Holsbeek Nand, Janssens Sien, Kamstra Marije, Kop Alexandra, Lambrecht Celine, Lauriks Matthias, Leclerc Tom, Mampay Lotte, Mertens Anneleen, Mertens Caroline, Nelissen Grade Briec, Nelson La-Rissa, Nuyts Anthe, Oosterhaven Maarten, Pieraets Lennert, Reydams Helena, Roelants Benedicte, Rogge Elise, Ruigrok Evi, Schierbeek Gedy, Teschke Hanna, Valckx Marjolein, van Altveer Else Marijke Johanna, Van Audenhove Elena, Van Camp Kasja, van de Meulengraaf Floortje, Van de Voorde Sam, Van de Weyer Yannick, Van Looy Liesbeth, Van Steyvoort Sarah, van Westerveld Sébastienne Aimée, van Wissen Martha, Vanderlinden Gerben, Vroman Simon, Vuylsteke Sebastien, Willockx Marie

Optie varken, pluimvee en konijn

Cans Simon, de Bruin Maria Woutrina, Gevaert Stien, Hollevoet Thomas, Lazzarotto Priori Nathascha, Paepe Marie-Laure, Vallaeys Eline, Van Trappen Liesl

Optie gezelschapsdieren

Andree Liza, Biscop Ann, Boer Matthijs, Boone Delphine, Boonstra Marvin, Bos Kimberly, Bostoen Yentl, Bracke Aline, Braeckmans Viktor, Brans Marleen, Braunstein Nathalie, Brugada, Terradellas Céline, Buyck Marie-Claire, Chan Yan-Hong, Claerbout Céline, Claessens Cynthia, Dalm Yvette, Davits Marie-Suzanne, De Baets Justine, De Marez Pauline, De Mey Stefanie, De Rocker Sigrid, De Smedt Lara, De Vlam Matthias, De Waele Orilie, Debruyne Emma, Debusschere Elisabeth, Dedic Dino, Demeulemeester Ines, Denkers Tessa Carmen, Depoortere Victoria, Dierckx Tim, Dillen Xantha, Elmendorp Veerle Silvana Bernadina, Expeels Lisa, Eykens Nele, Franck Marie-Emilie, Frejlich Moranne, Georges Sophie-Louise, Ghislain Nanda, Goldewijk Thijs, Gulpers Gaëlle, Heldens Anneleen, Hellemans Christophe, Hemelaers Daphne, Hey Isabelle, Hiltrop Raphaela, Hofstra Iris, Houtsager Cyrelle, Joosten Lotte, Kalk Margriet, Keijzer Marloes, Kleinman Dennis, Knoop Martine, Koenders Inge, Komdeur Esmeralda, Kopilova Olga, Kwik Jenhe, Landuyt Roxanne, Larue Aurore, Ledeganck Liesbet, Loenders Hanna, Massy Anke, Matthys Sophie, Meulders Ben, Meulman Chiara, Meysman Layla, Michiels Lotte, Mostart Jule, Nasirloo Arezoo, Nelissen Elise, Niesten Charlotte, Normon Niels, Oostenbrink Sascha, Oranje Evelien, Palper Dominique, Peeters Mari, Reiter Sylvia, Rigaux Noortje, Ritico Bert, Rombouts Maarten, Schilke Björn, Schils Lana, Segers Kimberly, Smeets Marloes, Smits Leanne, Soetemans Silke, Svendsen Romy, Swaalf Wouter, Teunissen Susanna, Timmermans Matty, Tondeur Dorien, Vagevuur Lisa, van den Boogaart Catharina, van der Does Gerlinde, van der Wijst Maria Senna, Van Ginneken Katrijn, Van Hulle Evie, van Koulil Quinten, van Riel Iris, Van Riet Tessa, Vangeel Vicky, Vantilborgh Laura, Vermaire Nadine, Vermeulen Paul, Vervloet Natacha, Voois Karlijne, Vrydaghs Tom, Waterkeyn Marine, Weckx Sofie, Williams Lianie

Optie paard

Belien Wout, Beullens Indi, Boccasile Letizia, Braem Sean, Bütetisch Anna Lisa, Cattoir Delphine, Ceulemans Stéphanie, Chardon Jasmijn, De Brabander Christophe, De Buyser Kirsten, De Prijcker Emily, De Waele Elisabeth, Deman Jasmien, Den Hondt Stien, Deserranno Bram, Dormans Floor, Dorny Carole, Dorny Manon, Dorssemont Joran, Flemings Valérie, Geerinck Sofie, Gelhard Stephanie, Ghodrati Zahra, Goossens Kathy, Gysens Lien, Holvoet Evelien, Huygh Kevin, Ingels Jolien, Janssens Jade, Jochoms Lisa, Knoops Inge, Koole Mireille, Korsos

Szabolcs, Kraak Lynn, Lemmens Katinka, Ligtenberg Annet, Luijten Elsa, Meelberghs Valerie, Meeusen Maureen, Merchiers Alexandre, Mercie Chiara, Minnoye Fanny, Mussly Iris, Nantke Ellen Maria, Nelis Dorthé, Peeters Xavier, Priester Reinoud, Radstake Anna, Ramaekers Karolien, Robertson Suzanne, Salaets Evelyne, Schaubroeck Elsa, Schwacke Derya, Serneels Elsa, Smisaert Isaline, Steenacker Diana, Troch Lucas, Van Bergen Nakiska, Van Bree Babette, van der Laan Maylin, Van Hal Shauni, Van Havermaet Leeuwe, Van Heeswijk Maité, Van Hoof Charlotte, Van Mol Chelsey, Van Weyenberg Brontë, Vanden Berghe Sigrid, Vanhée Céline, Vennegoor op Nijhuis Dize, Verbraak Samantha, Verheyden Marie, Verhille Céline, Verpaele Valerie, Wallaert Lien, Westphal Jana

Optie onderzoek

Cuypers Bram, De Sterck Tom, Deleu Sara, Demedts Karin, Geerardyn Michelle, Gheeraert Margot, Hendrickx Alizée, Hillaert Amber, Plekhova Vera, Saelens Ganna, Stakenborg Veerle, Vaernewyck Victor, Van Crombrugge Eline, Van den Eynde Claudia, Van Den Meersch Stephen, Vanden Eynde Jérôme, Vaughan Dani, Vernemmen Ingrid, Vervaeet Andy

Natuurlijke plagen niet aan toverij toeschrijven

“Het mishaagt grotelijks aan God, lichtveerdiglijk de natuurlijke plagen aan toverij of diergelijke plagen toe te schrijven, en hierin meer geloof te geven aan eenen ongeleerden bedrieger dan aan geleerde geneesheeren of priesters. Het mishaagt nog meer aan God bijgeloovige middelen te gebruiken en bezelingen toe te laten, door degenen die onder de mantel der godvruchtigheid de lichtgelovige Landlieden bedriegen, daar de priesters, zelfs om zware redenen, dit nooit mogen doen zonder uitdrukkelijke toelating van de Bisschop. Laat uwe huizen en stallen zeegenen en wijden door de n priester vooraleer gij dezelve gebruikt. Weest dan zuiver en net ten allen tijde en iveral. Onthoudt u van het kwaad en verbiedt het aan uwe onderdanen. Zij deugdzaam en milddadig en ge zult gezegend zijn in uw vee, in uw stallen en gezegend in uw vruchten.”

Uit: Caytan, L.A.. *De Godvruchtige Landman*. Eerste druk 1786. Het fragment werd overgenomen uit de ‘Nieuwe uitgaaf, verbeterd volgens de noodwendigheden van onzen tijd’, uitgegeven door Beyaert, Brugge, 1895, p. 247.

Luc Devriese

Wij hebben jou in 't oog. Jij ons?

www.mediaservice.be



© SHUTTERSTOCK 1277451100133

Mediaservice  
gericht adverteren



Advocate®



Advocate® werkt preventief en curatief tegen *Angiostrongylus vasorum*!



Meer info op www.slakkendodelijk.be



Advocate® spot-on oplossing voor honden. (100 mg/ml imidacloprid en 25 mg/ml moxidectine). • **Indicaties:** Voor honden die lijden aan, of risico lopen op, gemengde parasitaire infecties: Voor de preventie en behandeling van vlooiënbesmetting (*Ctenocephalides felis*), de behandeling van bijtende luizen (*Trichodectes canis*), de behandeling van oormijtinfestatie (*Otodectes cynotis*), schurft (veroorzaakt door *Sarcoptes scabiei var. canis*), demodicosis (veroorzaakt door *Demodex canis*), de preventie van hartworm (L3 en L4 larven van *Dirofilaria immitis*), de behandeling van circulerende microfilariae (*Dirofilaria immitis*), de behandeling van cutane dirofilariosis (volwassen stadia van *Dirofilaria repens*), de preventie van cutane dirofilariosis (L3 larven van *Dirofilaria repens*), de vermindering van circulerende microfilariae (*Dirofilaria repens*), de preventie van *Angiostrongylus vasorum* (angiostrongylosis) (L4 larven en onvolgroeide stadia), de behandeling van *Angiostrongylus vasorum* en *Crenosoma vulpis* de preventie van spirocerosis (*Spirocerca lupi*), de behandeling van *Eucloptus gyn. Capillaria* (volwassen stadia), de behandeling van de oogworm *Thelazia callipaeda* (volwassen stadia), de behandeling van infecties met gastro-intestinale nematoden (L4 larven, onvolgroeide en volwassen stadia van *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum* en *Uncinaria stenocephala*, volwassen *Toxascaris leonina* en *Trichuris vulpis*). Het product kan gebruikt worden als onderdeel van een behandelingsstrategie tegen door vlooiën veroorzaakte allergische dermatitis (FAD). • **Contra-indicaties:** Niet gebruiken bij puppets jonger dan 7 weken. Niet gebruiken bij overgevoeligheid voor één van de bestanddelen van dit product. Niet gebruiken bij honden geïncubeerd als klasse 4 voor hartworm want de veiligheid van het product is niet onderzocht in deze diergroep. Bij katten moet het corresponderende product 'Advocate voor katten' (0,4 of 0,8 ml) gebruikt worden, dat 100 mg/ml imidacloprid en 10 mg/ml moxidectine bevat. Bij fretten: Advocate voor honden niet gebruiken. Enkel 'Advocate voor kleine katten en fretten' (0,4 ml) mag gebruikt worden. Niet gebruiken bij kanaries. • **Bijwerkingen:** Het gebruik van het product bij honden kan gepaard gaan met een voorbijgaande jeuk. In zeldzame gevallen kunnen vetzig haar, erythema en braken voorkomen. Deze symptomen verdwijnen zonder verdere behandeling. In zeldzame gevallen kan het product een lokale overgevoelighedsreactie veroorzaken. Wanneer het dier na de behandeling op de plaats van toediening ligt, kunnen in zeer zeldzame gevallen neurologische symptomen (waarvan de meeste van voorbijgaande aard) waargenomen worden. Het product smaakt bitter en speeksel kan voorkomen wanneer het dier de plaats van toediening likt onmiddellijk na behandeling. Dit is geen symptoom van intoxicatie en verdwijnt na enige minuten zonder behandeling. Correct gebruik minimaliseert de mogelijkheid voor het dier de toedieningsplaatsen te likken. In zeer zeldzame gevallen kan het product ter hoogte van de toedieningsplaats een sensatie veroorzaken, resulterend in voorbijgaande gedragsveranderingen zoals sloomheid, agitatie of gebrek aan eetlust. Een veld studie heeft aangetoond dat honden positief voor hartworm met microfilaraemia risico lopen op ernstige respiratoire symptomen (hoesten, tachypneu en dyspneu) die snelle veterinaire behandeling kan vereisen. In de studie werden deze bijwerkingen waargenomen bij 2 van 106 behandelde honden. Ook gastro-intestinale symptomen (braken, diarree, gebrek aan eetlust) en lethargie zijn mogelijke bijwerkingen na de behandeling. • **Dosering:** Doseringsschema: De aanbevolen minimumdosering bedraagt 10 mg/kg lichaamsgewicht imidacloprid en 2,5 mg/kg lichaamsgewicht moxidectine, equivalent aan 0,1 ml/kg lichaamsgewicht Advocate voor honden. Het behandelingschema dient gebaseerd te worden op de lokale epidemiologische situatie.

