

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

 **FACULTEIT
DIERGENEESKUNDE**
accredited by EAEVE

MAART - APRIL 2019
VOL. 88 - NR. 2

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**

- Lidocaïne-toediening bij paarden
- Epididymale spermatozoa bij de hond
- Postoperatieve wondinfecties bij honden
- Eosinofiele dermatitis bij honden
- Partus en neonatale sterfte bij raskatten
- Allergie bij de hond in Vlaanderen
- Equine metabool syndroom
- Vilbeluiken in de 19e eeuw

MIJNDIEREN.EU

Hét communicatiekanaal tussen de praktijk en haar klanten



LEVERANCIERS

Plaats bestellingen binnen Fuga, en je nieuwe leveringen worden automatisch ingelezen



LABO'S

Fuga leest je laboresultaten in en koppelt ze automatisch aan de juiste context



SYMPHONY

Symphony zet je digitale beelden meteen in het juiste dossier



ANTIBIOTICAREGISTRATIES

Stuur rechtstreeks je antibioticagebruik door naar Sanitel-Med, AB Register, MediRund en Bigame



VERZEKERINGEN

Mogelijkheid om dieren makkelijk te verzekeren



INTEGRATIES

Verstuur sms'en en kaartjes en synchroniseer je Fuga-agenda met een externe kalender



BOEKHOUEXPORT

Fuga wisselt de nodige gegevens uit met je boekhoudpakket naar wens



FUGA

Fuga is marktleider in online software voor het beheer van de dierenartsenpraktijk.

Interesse in een **demo**?
+32 493 30 98 19 of fuga@sonetas.eu
www.fuga.eu

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

2019, vol. 88, nr. 2

INHOUD

Originele artikels

- 67 A. SALCICCIA, D.M. LOPEZ AREVALO, A. MAES, S. CROUBELS, V. BUSONI, J. DETILLEUX, C. SANDERSEN, H. AMORY
Cardiovasculaire, respiratoire, gastro-intestinale en gedragseffecten van intraveneuze lidocaïne toediening bij gezonde paarden bij bewustzijn en evaluatie van de relatie met serumconcentraties van lidocaïne en mono-ethylglycinexylidide
- 77 N. SIMONS, A. VAN SOOM, E. WYDOOGHE
Staalname en cryopreservatie van epididymale spermatozoa bij de hond

Original articles

- A. SALCICCIA, D.M. LOPEZ AREVALO, A. MAES, S. CROUBELS, V. BUSONI, J. DETILLEUX, C. SANDERSEN, H. AMORY
Cardiovascular, respiratory, gastrointestinal and behavioral effects of intravenous lidocaine in healthy, conscious horses and evaluation of the relationship with lidocaine and monoethylglycinexylidide serum concentrations
- N. SIMONS, A. VAN SOOM, E. WYDOOGHE
Collection and cryopreservation of epididymal spermatozoa in dogs

Casusreeksen

- 83 A. LYSSENS, N. DEVRIENDT, E. STOCK, T. ROGGEMAN, H. DE ROOSTER
Postoperatieve wondinfecties ondanks perioperatieve toediening van antimicrobiële middelen bij twee honden
- 91 J. DECLERCQ, G. VERCAUTEREN
Necrotiserende eosinofiele dermatitis bij drie honden

Case series

- A. LYSSENS, N. DEVRIENDT, E. STOCK, T. ROGGEMAN, H. DE ROOSTER
Surgical site infections despite perioperative antimicrobial therapy in two dogs
- J. DECLERCQ, G. VERCAUTEREN
Necrotizing eosinophilic dermatitis in three dogs

Voor de Praktijk

- 97 J. DE MOOR, A. VAN SOOM, E. WYDOOGHE
Problemen omtrent partus en neonatale sterfte bij raskatten: een studie bij Vlaamse fokkers
- 103 C. DEPESEMMEIER, E. COX, M. PELST
Allergie bij de hond: een bevraging van dierenartsen en eigenaars over de toestand in Vlaanderen

In practice

- J. DE MOOR, A. VAN SOOM, E. WYDOOGHE
Problems on parturition and neonatal mortality in Flemish pedigree cats: a questionnaire based study
- C. DEPESEMMEIER, E. COX, M. PELST
Allergy in dogs: a survey on veterinarians and owners about the situation in Flanders

Permanente vorming

- 113 P. DEPREZ
Equine metabool syndroom

Continuing education

- P. DEPREZ
Equine metabolic syndrome

Uit het verleden

- 121 J. DESMET
Uit de beginjaren van de vilbeluiken - Parijs eind 19de eeuw

Vraag en antwoord

- 126 Therapie bij *Escherichia coli*-mastitis bij melkvee

Erratum

- 90, 125, 128
Uit het verleden

Foto coverpagina: Marc Vanderbruggen

Raskatten worden nog maar honderdvijftig jaar gefokt. De eerste kattenshow vond plaats in Londen in 1871. Recent is de interesse in het fokken van raskatten toegenomen, ook in Vlaanderen. Er zijn momenteel wereldwijd een vijftig- tot zestigtal erkende kattenrassen, tegenover meer dan driehonderd hondenrassen. Een van die rassen is de **maine coon**, die in Amerika ontstaan is. Er zijn verschillende fabels in omloop over de herkomst van de maine coon en één ervan is dat de eerste maine coons ontstaan zijn uit kruisingen van lynxen en wasberen (raccoon). Het is een grote stevige kat, vaak met oorpluimpjes en een dikke gestreepte staart, vandaar de verwarring. De maine coon is een relatief populair ras in Vlaanderen en vormt samen met Britse korthaar, ragdoll, pers, siamees en Scottish fold het onderwerp van een studie naar het verloop van de geboorte en kittensterfte bij raskatten in Vlaanderen (cf. pg 97).

Tekst: Ann Van Soom

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

Cardiovascular, respiratory, gastrointestinal and behavioral effects of intravenous lidocaine in healthy, conscious horses and evaluation of the relationship with lidocaine and monoethylglycinexylidide serum concentrations

Cardiovasculaire, respiratoire, gastro-intestinale en gedragseffecten van intraveneuze lidocaïne-toediening bij gezonde paarden bij bewustzijn en evaluatie van de relatie met serumconcentraties van lidocaïne en mono-ethylglycinexylidide

^{1,3}A. Salciccia, ^{1,3}D.M. Lopez Arevalo, ⁴A. Maes, ⁴S. Croubels, ^{1,3}V. Busoni, ^{2,3}J. Detilleux, ^{1,3}C. Sandersen, ^{1,3}H. Amory

¹Equine Clinic, Department of Companion Animals and Equids, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, B 41, Avenue de Cureghem, 5D, Quartier Vallée 2, 4000 Liège, Belgium

²Quantitative Genetics Group, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, B 43, Avenue de Cureghem, 6, Quartier Vallée 2, 4000 Liège, Belgium

³FARAH, Research Center of the Faculty of Veterinary Medicine of Liège, Belgium

⁴Department of Pharmacology, Toxicology and Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

alexandra.salciccia@uliege.be

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the relationship between the serum concentrations of lidocaine/monoethylglycinexylidide (MEGX) and their effects on several systems in horses. Five healthy, conscious horses received a two-hour placebo intravenous infusion followed by a two-hour lidocaine infusion (bolus of 1.3 mg/kg over ten minutes followed by a continuous rate infusion of 0.05 mg/kg/min). Lidocaine and MEGX serum concentrations were sampled every ten to fifteen minutes during the experiment, and the presence of muscle fasciculations and loss of balance as well as the respiratory, digestive and cardiovascular systems of the five horses were evaluated by means of different non-invasive methods. During the lidocaine infusion, the mean (\pm SD) lidocaine and MEGX concentrations were respectively 768.88 ± 93.32 ng/ml and 163.08 ± 108.98 ng/ml. The infusion of lidocaine significantly influenced the presence of fasciculations, caused a statistically but non-clinically significant decrease of systolic and diastolic blood pressures, which were both correlated with lidocaine and MEGX serum concentrations, and it increased the duodenal contractions frequency, which was correlated with the serum lidocaine concentration. In this study, mild hypotensive and prokinetic effects of short-term lidocaine infusion were observed.

SAMENVATTING

Deze studie had als doel de relatie te bepalen tussen de serumconcentraties van lidocaïne/monoethylglycinexylidide (MEGX) en hun effect op de verschillende lichamelijke stelsels bij het paard. Vijf gezonde paarden bij bewustzijn kregen een twee uur durende placebo-intraveneuze infusie gevolgd door een twee uur durende lidocaïne-infusie (bolus van 1,3 mg/kg in tien minuten gevolgd door een constante infusie van 0,05 mg/kg/min). De lidocaïne- en MEGX-serumconcentraties werden om de tien à vijftien minuten gemeten. Het evenwichtsverlies, de spiertrillingen, het ademhalings-, spijsverterings- en cardiovasculaire stelsel werden beoordeeld met behulp van verschillende niet-invasieve methoden. Tijdens de toediening van de lidocaïne-infusie was de gemiddelde (\pm standaarddeviatie) lidocaïne- en MEGX-concentratie respectievelijk $768,88 \pm 93,32$ ng/ml en $163,08 \pm 108,98$ ng/ml. De toediening van een lidocaïne-infusie beïnvloedde significant de aanwezigheid van trillen. Ook veroorzaakte ze een statistisch maar niet-klinisch significante afname van de systolische en diastolische bloeddruk, die beide correleerden met de lidocaïne- en MEGX-serumconcentratie. Verder verhoogde ze eveneens de duodenale contractiefrequentie, die correleerde met de serumlidocaïne-concentratie. In de voorliggende studie werden milde hypotensieve en prokinetische kortetermijneffecten van een lidocaïne-infusie waargenomen.

INTRODUCTION

Intravenous lidocaine is frequently used in horses in different medical conditions. In cardiac pathologies, it is used as an antiarrhythmic drug to treat ventricular tachycardia (McGuirk and Muir, 1985). It has analgesic properties (Murrell et al., 2005; Robertson et al., 2005) and its systemic administration decreases the anesthetic requirements of inhalant agents (Doherty and Frazier, 1998). It is also commonly used in horses with digestive problems, to treat and prevent ileus and gastrointestinal pain in the postoperative period or in horses with small intestine inflammatory disease (Brianceau et al., 2002; Malone et al., 2006; Torfs et al., 2009), and to improve mucosal repair after ischemic intestinal injury (Cook et al., 2008). Lidocaine treatment has been associated with enhanced short-term survival of horses after colic surgery (Torfs et al., 2009).

The dosage of intravenous lidocaine commonly used in horses is a bolus of 1.3mg/kg (usually administered over 5-15 minutes) followed by a continuous rate infusion (CRI) of 0.05mg/kg/minute, as recommended by Malone et al., (1998).

When administered intravenously, lidocaine has been associated with several side effects, mainly affecting the central nervous, musculoskeletal and cardiovascular systems.

Eye blinking, anxiety, mild sedation, muscle fasciculation, ataxia and collapse are the most commonly reported signs of toxicity in clinical use in horses (Brianceau et al., 2002; Malone et al., 2006; Meyer et al., 2001).

Lidocaine is metabolized by the liver and is transformed by the cytochrome P450 system in monoethylglycinexylidide (MEGX), which is further metabolized to glycinexylidide (GX) and 4-hydroxy-2,6-xylidine (Oellerich et al., 1987). The adverse reactions related to the use of continuous intravenous lidocaine have been attributed in some cases to the accumulation of lidocaine or its principal metabolites MEGX and GX (Strong et al., 1973) and are usually associated with a too high infusion rate leading to a lidocaine serum concentration higher than the target therapeutic range of 1–2 mg/dL (Meyer et al., 2001; Brianceau et al., 2002; Malone et al., 2006). Clinically, lidocaine side effects usually respond rapidly to discontinuation or slowing of the infusion rate. There is no evidence of structural damage to nerve fibers or cells after lidocaine toxicity in other species (Richie and Greene, 1990).

The pharmacokinetics of lidocaine and its metabolites have been described in healthy, conscious horses (Dickey et al., 2008) and in healthy (Milligan et al., 2006) or colic horses (Navas de Solís and McKenzie III, 2007) after laparotomy, but the relationship between lidocaine or its metabolites concentrations and their pharmacologic effects has not been described in depth. Several studies have been conducted in con-

scious and healthy horses in order to evaluate the effect of a specific dosage of intravenous lidocaine on somatic and visceral nociception (Robertson et al., 2005), on cardiac electrical activity and blood pressure (Meyer et al., 2001) or on gastrointestinal motility (Milligan et al., 2007; Rusiecki et al., 2008).

The aim of the present study was to evaluate the effects of an infusion of lidocaine and to determine the correlations between the serum concentrations of lidocaine/MEGX and their effects on the behavior and the respiratory, cardiovascular and gastrointestinal systems of healthy horses during an infusion of lidocaine at the dosage commonly used in clinical cases.

MATERIAL AND METHODS

This study was approved by the Ethical Committee of the University of Liège (number 385).

Animals

Five warmblood horses (four mares and one gelding) were used in the study. Their weight ranged from 418 to 497 kg (mean \pm SD: 493 \pm 92,6 kg) and their age ranged from 11 to 22 years (mean \pm SD: 16,4 \pm 5,8 years). All horses were clinically healthy based on the history and on an in-depth clinical examination.

The horses were kept in stall with straw bedding. They had access to hay and water ad libitum excepted the twelve hours preceding the protocol, when they were fasted using a muzzle without restriction of water. The day before the protocol, the abdominal region of the animals was clipped. During the protocol, the horses had no access to water and food.

Study design

Each horse was evaluated during a two-hour intravenous infusion of a placebo (NaCl 0.9%, Baxter – Viaflo, Belgium) followed by a two-hour intravenous infusion of lidocaine (Xylocaine 2%, Astra Zeneca, Belgium).

Protocol

The experiment was carried out in the morning for every horse. Within one hour before starting the protocol, a 14-gauge polytetrafluoroethylene catheter (Catheter 14G Intraflon 2, Vygon, France) was placed aseptically into both the left and right jugular veins. The skin at the area of the catheter placement was not anesthetized with lidocaine in order to avoid interference with the subsequent measurements of lidocaine and MEGX. The catheter in the left jugular vein was used for administration of the infusions, and the catheter in the right jugular vein was used to collect the blood samplings.

The infusion of lidocaine was performed at the

usual clinical dosage and consisted of a single intravenous bolus of 1.3 mg/kg of lidocaine administered over 10 minutes followed by a CRI of 0.05 mg/kg/min during 110 minutes (Malone et al., 1998). One volume of commercial lidocaine 2%² (20 mg/ml) was added to four volumes of saline in order to obtain a concentration of 4 mg/ml solution of lidocaine. The infusion of placebo consisted of the administration of NaCl 0.9% at the same rate as the lidocaine infusion.

The rate of administration of both fluids was controlled by use of an intravenous fluid administration pump (Flo-Gard 6200, Baxter, Belgium).

Timing of the investigations

The following times (Tminutes) were defined: T0 (prior to lidocaine or placebo administration) and T10, T15, T30, T45, T60, T75, T90, T105 and T120 (minutes following the beginning of the lidocaine or placebo administration). The continuously evaluated parameters were classified in periods finishing at the corresponding T time (for example: T30 corresponds to the period beginning just after T15 and ending at T30).

Behavioral evaluation

The presence of muscle fasciculations and loss of balance was recorded throughout the experiment and was scored as 0 (absence) or 1 (presence) for the corresponding time period.

Respiratory evaluation

The respiratory rate was obtained by feeling the expiratory airflow with a hand placed near the external nare and watching the horse's nostril movements during one minute at each time point (McGorum and Dixon, 2007).

Cardiovascular evaluation

Heart rate and electrocardiographic (ECG) analysis

For each horse, an ECG was recorded continuously from 15 minutes preceding the start of the infusion (lidocaine or placebo) until the end of the infusion by using a Holter system (System Holter Vista, Novacor, France). Data were retrospectively blindly analyzed after their transfer on a computer. The presence of arrhythmias was evaluated by visual inspection of the ECG tracings and controlled by an ECG analyzer program (HolterSoft Ultima 2.5.5, Novacor 2001-2009, France). The heart rate was calculated by visual inspection of the ECG tracing (number of QRS complexes) during the last minute of each time period. The type and the frequency of the possible cardiac arrhythmias were recorded and attributed to the corresponding T time.

Systemic arterial blood pressure

Systolic and diastolic systemic arterial blood pressures were collected using a non-invasive oscillometric system (Digital blood pressure monitor KH 8088, Kompennass, Germany). The inflatable cuff for the blood pressure measurement had a length of 25 cm and a width of 5.5 cm. It was positioned at the base of the tail and centered over the coccygeal artery. For each time point, the systolic and diastolic arterial pressures were obtained by calculating the mean of three consecutive measurements (Parry et al., 1980).

Gastrointestinal evaluation

Gut sounds

Gut sounds were evaluated by auscultation of the left flank during one minute for each time point and recorded as the number of peristaltic sounds heard over one minute.

Duodenal ultrasonography

The duodenum was examined by transabdominal ultrasonography (Aloka SSD 900, Aloka Holding Europe AG, Switzerland) in the middle third (dorso-ventrally) of the abdomen between the fourteenth and seventeenth right intercostal spaces just ventral to the right kidney and dorsal or dorsolateral to the cecal base, as described by Kirberger et al. (1995). Appropriate contact between the ultrasonographic probe (Convex transducer UST 990-3.5 MHz, Aloka Holding Europe AG, Switzerland) and the skin was provided by the previous clipping of the hair and a contact gel applied directly on the skin at the time of the examination. The ultrasonographic images of the duodenum during the last three minutes of each T period were recorded on a videotape for later blind evaluation. Subsequently, the recording was used to obtain the frequency of the duodenal contractions and the duodenal wall thickness, which was measured when the intestine was fully open. The frequency of the contractions of the duodenum was calculated using the entire recording for each T period. The value of the duodenal wall thickness was obtained by the mean of three measurements, which were taken from the hyperechoic outer serosal surface to the inner hyperechoic mucosal surface (Figure 1).

Blood sampling and laboratory methods

At each T time, a 5-ml blood sample was collected from the right jugular catheter and placed into a plain vacuum tube (Vacuette 9 ml Z Serum Clot activator, Greiner Bio-One GmbH, Austria). The blood sample was allowed to clot before being centrifuged (Centrifuge EBA 200S, Hettich, Germany) at 4000 rpm for ten minutes at room temperature. The serum was then



Figure 1. Landmarks used to measure the duodenal wall thickness: from the hyperechoic outer serosal surface to the inner hyperechoic mucosal surface.

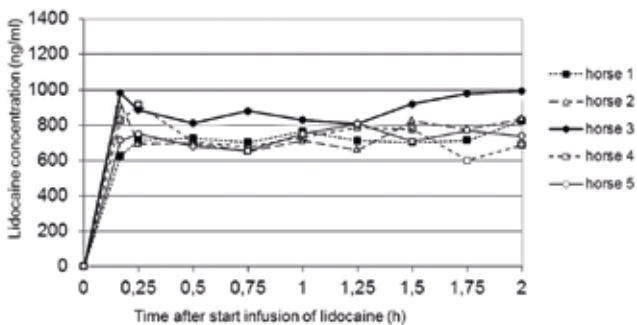


Figure 2. Serum concentrations of lidocaine (ng/ml) during an intravenous infusion of lidocaine (1.3mg/kg over ten minutes followed by a continuous rate infusion of 0.05 mg/kg/min during 110 minutes) in five healthy, conscious horses.

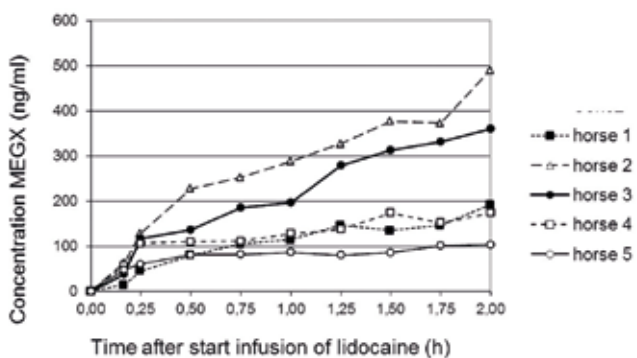


Figure 3. Serum concentrations of MEGX (ng/ml) during an intravenous infusion of lidocaine (1.3mg/kg over ten minutes followed by a continuous rate infusion of 0.05 mg/kg/min during 110 minutes) in five healthy, conscious horses.

frozen within one hour after collection (Dasgupta et al., 1996) and was kept at -20°C until analyzed.

The concentrations of lidocaine and MEGX were determined by a validated high-performance liquid chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry as described by Maes et al. (2007).

Statistical analysis

Variables are given as the mean \pm standard deviation (SD). A chi-square test was used to evaluate the effect of treatment on behavior (presence or absence of muscle fasciculation and loss of balance).

A mixed linear model was applied to the other parameters after a Boxcox transformation for the data that did not follow a Gauss distribution. The mixed model included the fixed effects of treatment and time within treatment and the random effect of horse. With this model, a sample size of five horses should be enough to detect significant differences between treatment, with a power of 80% and an alpha error of 5%.

Pearson correlations were computed between all parameters (with the exception of behavior) and the concentrations of lidocaine and MEGX obtained during the lidocaine infusion. The significance level was set at $p < 0.05$. All computations were done on SAS 9.1 (SAS/STAT 9.1 User's Guide, Cary, NC: SAS Institute Inc. 2004).

RESULTS

Serum concentrations of lidocaine and MEGX

No lidocaine nor MEGX were detected in the serum samples collected during the infusion of the placebo.

The concentrations of lidocaine and MEGX obtained from blood samples collected during the infusion of lidocaine are displayed in Figures 2, 3 and 4A.

In all horses, after a rapid increase during the infusion of the bolus, the concentrations of lidocaine reached a steady state. In all horses, the lidocaine concentrations during the steady state ranged between 601ng/ml and 992 ng/ml. The mean lidocaine concentration during the lidocaine infusion was $768.88 \pm 93.32\text{ng/ml}$.

The evolution of the MEGX concentrations presented a larger inter-horse variability with almost a steady state reached after T30 in one horse (horse 5), a continuous but slow increase in two horses (horses 1 and 4) and a quick and continuous increase in two horses (horses 2 and 3). The mean MEGX concentration during the lidocaine infusion was $163.08 \pm 108.98\text{ng/ml}$.

Effects of the infusion of lidocaine and their correlations with the lidocaine/ MEGX concentrations

Behavioral effects

There was a significant effect of treatment (placebo or lidocaine infusion) on the presence of muscle fasciculations ($p \leq 0.001$). None of the horses presented muscle fasciculations during the infusion of the placebo, while four of the five horses presented muscle fasciculations during the administration of lidocaine. In all of those four horses, the muscle fasciculations were noted at T10 and T15, corresponding to the loading dose injection (bolus) and the beginning of the CRI. However, some of the horses also presented muscle fasciculations at other T times. None of the horses showed loss of balance during both infusions.

Respiratory effects

The mean respiratory rate was significantly lower ($p \leq 0.01$) during the lidocaine infusion (8.2 ± 2.5 bpm) than during the placebo infusion (9.0 ± 2.7 bpm), and the decrease in respiratory rate was significantly correlated with the serum MEGX concentration but not with the lidocaine concentration (Table 1 and Figures 4A and 4B).

Cardiovascular effects

There was no effect of treatment on the heart rate (40 ± 8 bpm during the placebo infusion and 38 ± 5 bpm during the lidocaine infusion). There was no correlation between the heart rate and the lidocaine/MEGX concentrations (Figures 4A and B).

The complete examination of the ECG trace before and during the administration of both the placebo and the lidocaine revealed the absence of cardiac arrhythmias.

Despite the absence of influence of treatment on the heart rate, the mean systolic blood pressure was significantly lower ($p \leq 0.001$) during the lidocaine infusion (128.2 ± 17.5 mmHg) than during the placebo infusion (144.3 ± 23.4 mmHg). Similarly, the mean diastolic blood pressure was significantly lower

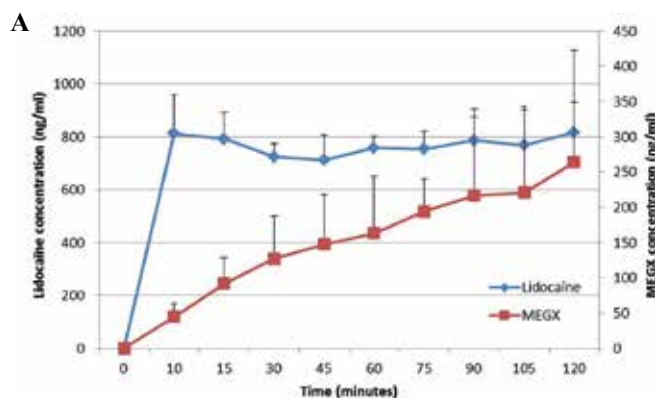


Figure 4A. Evolution of the mean (+ SD) serum concentrations of lidocaine (ng/ml) and MEGX (ng/ml) as a function of time during an experimental intravenous infusion of lidocaine (1.3mg/kg over ten minutes followed by a continuous rate infusion of 0.05 mg/kg/min during 110 minutes) in five healthy, conscious horses.

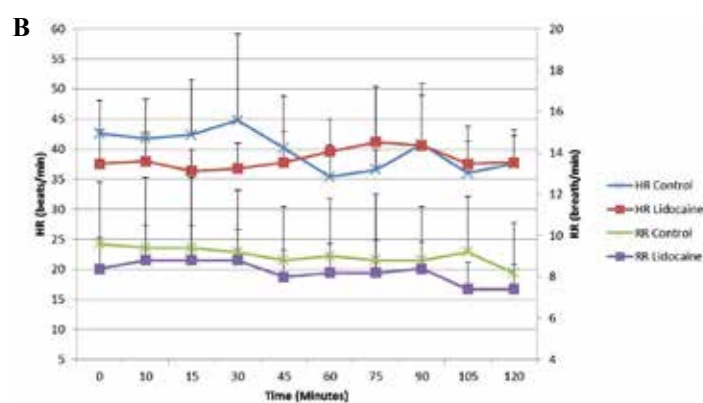


Figure 4B. Evolution of the mean (+ SD) heart rate (HR) and respiratory rate (RR) as a function of time in five horses receiving either a lidocaine infusion at 1.3mg/kg over ten minutes followed by a continuous rate infusion of 0.05 mg/kg/min during 110 minutes (lidocaine) or a saline infusion at the same rate (control) during 120 minutes. Bpm = beats/minute.

($p \leq 0.05$) during the lidocaine infusion (89.6 ± 15.9 mmHg) than during the placebo infusion (96.4 ± 18.5 mmHg).

Table 1. Pearson correlation coefficients (r) of the analysis between the tested parameters and the concentrations of lidocaine and MEGX.

Tested parameter		Lidocaine concentration	MEGX concentration
Respiratory rate	r	-0.1838	-0.2586 (*)
Heart rate	r	-0.1123	-0.1415
Systolic blood pressure	r	-0.3578 (**)	-0.3750 (**)
Diastolic blood pressure	r	-0.2537 (*)	-0.2419 (*)
Frequency of the gastrointestinal sounds	r	0.2281 (*)	-0.0094
Frequency of the duodenal contractions	r	0.2574 (*)	-0.0461
Duodenal wall thickness	r	-0.0145	-0.0444

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.001$

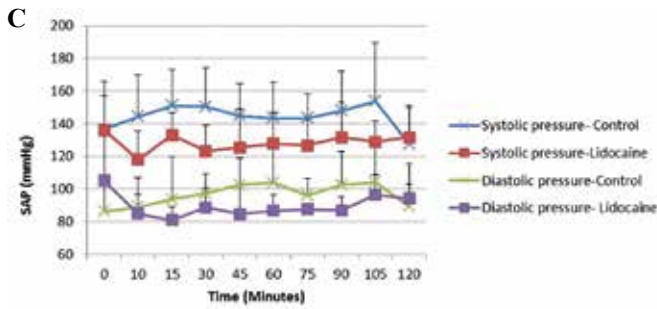


Figure 4C. Evolution of the mean (+ SD) systolic and diastolic systemic arterial pressure (SAP) as a function of time in five horses receiving either a lidocaine infusion at 1.3mg/kg over ten minutes followed by a continuous rate infusion of 0.05 mg/kg/min during 110 minutes (lidocaine) or a saline infusion at the same rate (control) during 120 minutes.

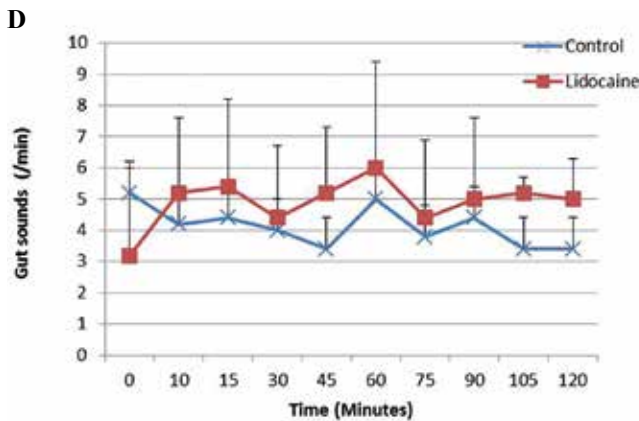


Figure 4D. Evolution of the mean (+ SD) frequency of gut sounds heard in the left flank as a function of time in five horses receiving either a lidocaine infusion at 1.3mg/kg over ten minutes followed by a continuous rate infusion of 0.05 mg/kg/min during 110 minutes (lidocaine) or a saline infusion at the same rate (control) during 120 minutes.

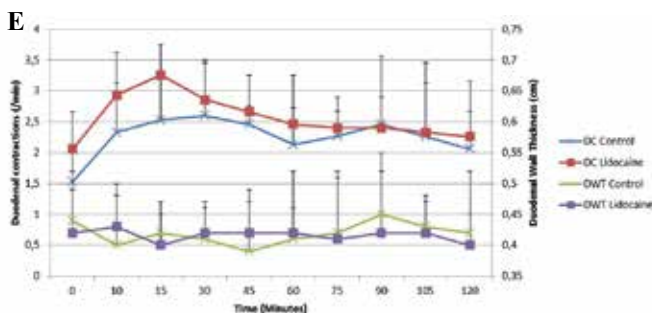


Figure 4E. Evolution of the mean (+ SD) duodenal contraction (DC) and duodenal wall thickness (DWT) as a function of time in five horses receiving either a lidocaine infusion at 1.3mg/kg over ten minutes followed by a continuous rate infusion of 0.05 mg/kg/min during 110 minutes (lidocaine) or a saline infusion at the same rate (control) during 120 minutes.

Both systolic and diastolic arterial blood pressures significantly correlated with both lidocaine and MEGX serum concentrations (Table 1 and Figures 4A and 4C).

Gastrointestinal effects

The mean frequency of the gut sounds heard in the left flank was not significantly different during the treatment with lidocaine (4.9 ± 2.5 borborygmi heard/min) and during the administration of the placebo (4.1 ± 2.2 borborygmi heard/min). However, there was a significant correlation between this clinical parameter and the serum concentration of lidocaine but not of MEGX (Table 1 and Figures 4A and 4D).

The duodenum contractions frequency evaluated by ultrasonography was significantly increased ($p \leq 0.01$) by the treatment with lidocaine (2.6 ± 0.7 contractions/min) compared with the placebo (2.3 ± 0.7 contractions/min). Moreover, this parameter significantly correlated with the serum lidocaine concentration, but not with the MEGX concentration (Table 1 and Figures 4A and 4E). The lidocaine treatment did not significantly influence the duodenal wall thickness. During the placebo infusion, the mean duodenal wall thickness was 0.41 ± 0.05 cm and it was 0.41 ± 0.04 cm during the lidocaine infusion. For this parameter, there were no correlations with the serum lidocaine and MEGX concentrations (Table 1 and Figures 4A and 4E).

DISCUSSION

While the effects of lidocaine have already been extensively evaluated in horses, the present study has the particular purpose of studying the relationship between respiratory, digestive and cardiovascular effects and the serum concentration of lidocaine and its principal metabolite, MEGX. Among the benefits of the present study, the use of conscious, fasted horses was chosen to mimic the clinical conditions of the early postoperative period of colic horses, as clearance of lidocaine has been shown to decrease when horses are fasted (Engelking et al., 1987). The study involved healthy horses in order to evaluate the specific effects of lidocaine/MEGX without a possible modification of the metabolism of lidocaine (and therefore its concentrations) by a pathological process or without the possible interference with other treatments. Ultrasonography, the recording of the ECG via a Holter system and the measurement of the blood pressure by an oscillometric system to evaluate the effects of treatment, were chosen because these methods proved to be reliable in a clinical setting, and because they are non-invasive, which allows reducing the experiment-induced stress and respect animal welfare. Moreover, the study design (saline infusion followed by lido-

caine infusion within the same day rather than given separately), was chosen to respect animal welfare.

Nevertheless, the present study also has several limitations. The study was not totally blinded and the placebo was first administered in all cases in order to avoid meddling of the effects of the residual serum lidocaine concentrations with those of the placebo during the placebo-administration period. However, the principal investigator was not aware of which treatment (lidocaine versus placebo) was administered during the experimental procedure or reading of the recorded parameters. The number of horses in this study was small ($n=5$) but this sample size was confirmed to be sufficient by a power calculation. Another important limitation was the fact that the infusions were performed in a limited period of time (two hours), which can be considered short as in clinical use, the duration of lidocaine infusion is often longer and some effects of lidocaine or its metabolites might have appeared later. Indeed, contrarily to the lidocaine concentrations that reached a steady state after the bolus administration, the concentration of MEGX continued to increase in some horses in the study, and not all of them appeared to reach a steady state after two hours of treatment. However, Dickey et al. (2008) revealed that the MEGX concentrations reached a steady state of approximately 450 ng/ml (higher than all, except one, of the MEGX values in the present study) after 3-6 hours of CRI and did not accumulate over time, while GX, another potentially toxic active lidocaine metabolite, accumulates significantly up to 48 hours. Therefore, the lack of dosage of GX in the present study is also a limitation.

Based on the study by Malone et al. (1998), the administration of 1.3mg/kg of lidocaine as a bolus followed by a CRI of 0.05mg/kg/min permits to reach the therapeutic level of 980 ng/ml (range 1000-2000ng/ml). However, in the present study, concentrations of lidocaine reached the target therapeutic level of 980 ng/ml in only one horse at the end of the bolus (T10) and at the end of the CRI (T120). During the CRI of lidocaine, the other serum lidocaine concentrations ranged from 600 ng/ml to 977 ng/ml (which can be considered as slightly below to below the target level); the toxic level of lidocaine (1850 - 4530 ng/ml (Meyer et al., 2001)) was never reached. Nevertheless, the serum pharmacokinetics of lidocaine and MEGX in the present study were close to those described by Robertson et al. (2005). In studies where lidocaine was administered to pathological or healthy horses as an infusion at the same rate as in the present study, the therapeutic level was sometimes reached (Brianceau et al., 2002; Dickey et al., 2008), and sometimes not (Robertson et al., 2005; Navas de Solís and McKenzie III, 2007; Cook et al., 2008). Several hypotheses may be made to explain the failure to reach the 980 ng/ml in the majority of cases in the present study. As already mentioned, the experiments of the present study were performed over a relatively short period of time and

included only healthy horses. Pathological cases such as horses suffering from postoperative ileus may suffer from endotoxic shock, associated with a decrease in cardiac output and/ or hepatic dysfunction, conditions that have been shown to lead to a decrease of systemic lidocaine turnover (Engelking et al., 1987; McKindley et al., 2002). Furthermore, pathologic horses are susceptible to receiving concurrent drugs that are known to potentially affect the lidocaine metabolism or clearance, such as erythromycin (Orlando et al., 2003), which can also be used as a gastrointestinal prokinetic drug, fluoroquinolones (Isohanni et al., 2005) and cimetidine (Feely et al., 1982). Finally, the serum concentration of 980 ng/ml of lidocaine may not be necessary to produce a therapeutic or toxic effect as lidocaine is protein bound ($53.06 \pm 10.28\%$ of in vitro protein binding of lidocaine in equine plasma at 2 $\mu\text{g/ml}$) and only the unbound drug is available to produce a pharmacological effect (Milligan et al., 2006). In vitro, flunixin and ceftiofur have resulted in increased unbound lidocaine concentrations (Milligan et al., 2006). Low serum protein concentration at the time of lidocaine infusion can also increase the drug available to produce an effect despite no change in total concentration. Unfortunately, the serum protein concentrations were not evaluated in the present study, but they were assumed to be within the normal range as all studied horses were healthy.

In a study conducted in healthy horses by Meyer et al. (2001), lidocaine intoxication was defined as the development of skeletal muscle tremor. In the present study, muscle fasciculations were observed in four of the five studied horses at the beginning of the lidocaine administration (during the loading dose and the beginning of the CRI); these muscle fasciculations disappeared in all cases before the end of the CRI without slowing the rate of infusion. The appearance of toxic signs, despite the low serum concentrations of lidocaine and MEGX, may possibly be caused by a high unbound lidocaine concentration. The timing of appearance of this mild toxic effect of lidocaine may also be explained by the fact that the severity of neurological symptoms caused by lidocaine are probably more dependent on the speed of exposure of brain cells to local anesthetics rather than on a defined blood concentration (Scott 1986; Haasio et al., 1988; Skarda, 1991).

The cardiovascular system of horses is considerably more resistant than the central nervous system to the toxic effects of intravenous lidocaine (Meyer et al., 2001; Wagman et al., 1967). Therefore, when lidocaine is used at the usual clinical dosage, few cardiovascular side effects have been reported. In the present study, lidocaine infusion did not modify the heart rate of the five healthy, awake horses, as was found in other studies conducted at the same dosage in conscious, healthy (Rusiecki et al., 2008) or colic horses (Malone et al., 2006), in healthy horses overdosed in lidocaine until the onset of the first signs of intoxication.

tion (muscle fasciculations) (Meyer et al., 2001) and in horses anesthetized for castration (Murrell et al., 2005) or for colic surgery (Feary et al., 2006). Administered at the dose of 1.3 mg/kg in bolus followed by a CRI of 0.05 mg/kg/min, lidocaine is not known to produce cardiac arrhythmias, as was the case in the present study. However, Mullen et al. (2009) reported a case of supraventricular tachycardia and auriculoventricular blocks in a horse with colic treated with lidocaine infusion at the usual dosage. The authors of this report suggested that the arrhythmias were caused by the abdominal distention, which is hypothesized to cause vagal stimulation in horses (Abutarbush, 2006) in combination with a mechanism (Lieberman et al., 1968), by which lidocaine increases sinoatrial nodal discharge rate. The low doses of xylazine and butorphanol administered to this horse one hour before starting the lidocaine treatment may also have contributed to the development of the arrhythmias (Mullen et al., 2009). Based on their observations, Mullen et al. (2009) advised that horses that develop skeletal muscle fasciculations during treatment with lidocaine should be evaluated for cardiac arrhythmias. If the arrhythmias appear, lidocaine administration should be slowed or discontinued. However, in a study, in which horses were administered an overdose of intravenous lidocaine until the onset of clinical signs of intoxication (muscle fasciculations), no arrhythmias were observed (Meyer et al., 2001).

In the aforementioned study by Meyer et al. (2001), lidocaine did not significantly modify the mean systolic and diastolic blood pressures. The mean arterial blood pressure was neither modified by the administration of lidocaine in a protocol of experimentally induced endotoxemia in conscious horses (Peiro et al., 2010), nor in horses anesthetized for colic surgery (Feary et al., 2006). On the contrary, lidocaine and MEGX were associated with a significant decrease of the systolic and diastolic blood pressures in the present study. Nonetheless, the blood pressure values obtained here were all within or slightly above the published ranges of normal values taken non-invasively at the coccygeal artery of resting horses (Parry et al., 1984). Therefore, although statistically significant, this hypotensive effect could be considered as clinically irrelevant. To the authors' knowledge, a severe lidocaine-induced hypotension in equids has only been described when a large and rapid lidocaine overdose was systemically delivered, i.e. 5 mg/kg administered intravenously over five minutes to ponies anesthetized with halothane (Doherty and Frazier, 1998). This hypotensive effect may be caused by the vasoactive (vasodilator) properties of the lidocaine (Demaria et al., 2003).

In *in vitro* studies, it has been demonstrated that lidocaine enhances the contractility of intestinal smooth muscle (Nieto et al., 2000; Guschlbauer et al., 2010; Tappenbeck et al., 2013). On the other hand, lidocaine has been shown to decrease the duration of

(postoperative) ileus in clinical studies on horses suffering from colic (Malone et al., 2006; Torfs et al., 2009). However, using the usual lidocaine dosage of the aforementioned studies, other authors failed to demonstrate a prokinetic effect of lidocaine on clinically normal horses by the placement of bipolar electrodes on the proximal jejunum to record the migrating myoelectrical complexes (Milligan et al., 2007) or by the administration of barium-filled microspheres by nasogastric intubation (Rusiecki et al., 2008). Therefore, the beneficial effects of lidocaine on intestinal motility in horses suffering from ileus were supposed to be more attributable to its anti-inflammatory effects than to its prokinetic or analgesic effects (Cook and Blikslager, 2008). Indeed, the visceral analgesia provided by systemically administered lidocaine has been shown to be ineffective in studies on horses (Robertson et al., 2005; Cook et al., 2008). Surprisingly, in the present study, a positive correlation value of the coefficient was found between the concentrations of lidocaine and the frequencies of the borborygmi auscultated in the left flank and of the duodenal contractions evaluated by ultrasonography. Even if the correlation with the borborygmi can be somewhat debatable as the auscultation of the intestinal gut sounds in only one place in the left flank is not very accurate nor sensitive, the result on the duodenal contractions cannot be so controversial. It can be assumed to be related to the initial peak of contractions observed after the administration of the bolus. The evaluation of the duodenum in the present study was chosen for two reasons: First, it is a part of the intestine that suffers frequently from distention when horses suffer from ileus, and thus it is an interesting zone for evaluating the effect of lidocaine. Secondly, the ultrasonography of this region allows a quantifiable and objective evaluation of the intestinal motility as the same part of the intestine, the duodenum, can be almost constantly visualized using the same ultrasonographic window (Kirberger et al., 1995). The results are in contrast with the results of a study by Brianceau et al. (2002), in which no effect of lidocaine on the duodenal contractions frequency was found. However, that study was performed in horses that underwent colic surgery, using a scoring system for the evaluation of the duodenum motility attributing the score 0 every time there was 0 to 3 duodenal contractions per minute rather than taking into account the number of contractions per minute. However, fasted horses have less contractions of the duodenum than fed horses (Kirberger et al., 1995). Therefore, this scoring system may have masked a mild effect. Although the horses of the present study were fasted, the number of duodenal contractions during both the placebo and the lidocaine infusions were closer to the number of duodenal contractions of fed horses than to those of the starved horses in the Kirberger study (1995). In the present study, the horses were subjected to a twelve-hour fasting period, whereas the horses

in the Kirberger study (1995) were fasted during 36 hours. This suggests that twelve hours of fasting is probably too short to reduce the intestinal motility of the duodenum. It would be interesting to verify if the prokinetic effect of lidocaine would still be observed after a longer fasting period.

In conclusion, in this study, it was shown that lidocaine administered intravenously at the usual clinical dosage induces a clinically non-significant systemic arterial hypotension, which is correlated with both serum lidocaine and MEGX concentrations, and stimulates the frequency of duodenal contractions, which is correlated to the serum lidocaine concentration. Further studies using longer infusion durations and/ or longer fasting periods in a larger population of horses are warranted to confirm these results.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Dr Vincent Libertiaux for his help for the redaction of the manuscript and Nazaré Storms for the Dutch translation.

REFERENCES

- Abutarbush S.M. (2006). Use of ultrasonography to diagnose large colon volvulus in horses. *Journal of American Veterinary Association* 228, 409-413.
- Brianceau P., Chevalier H., Karas A., Court M.H., Bassage L., Kirker-Head C., Provost P., Paradis M.R. (2002). Intravenous lidocaine and small-intestinal size, abdominal fluid, and outcome after colic surgery in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16, 736-74.
- Cook V.L., Blikslager A.T. (2008). Use of systemically administered lidocaine in horses with gastrointestinal tract disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 232, 1144-1148.
- Cook V.L., Jones Shults J., McDowell M., Campbell N.B., Davis J.L., Blikslager A.T. (2008). Attenuation of ischaemic injury in the equine jejunum by administration of systemic lidocaine. *Equine Veterinary Journal* 40, 353-357.
- Dasgupta A., Blackwell W., Bard D. (1996). Stability of therapeutic drug measurement in specimens collected in Vacutainer plastic blood-collection tubes. *Therapeutic Drug Monitoring* 18(3), 306-309.
- Demaria R.G., Vernhet H., Aya G., Oliva-Lauraire M. C., Juan J.M., Dauzat M.M. (2003). Experimental model for comparative evaluation of pharmacologically induced vasodilation of arterial wall mechanical properties. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 42, 389-394.
- Dickey E.J., McKenzie H.C. 3rd, Brown K.A., De Solis C.N. (2008). Serum concentrations of lidocaine and its metabolites after prolonged infusion in healthy horses. *Equine Veterinary Journal* 40, 348-352.
- Doherty T.J., Frazier D.L. (1998). Effect of intravenous lidocaine on halothane minimum alveolar concentration in ponies. *Equine Veterinary Journal* 30, 300-303.
- Engelking L.R., Blyden G.T., Lofstedt J., Greenblatt D.J. (1987). Pharmacokinetics of antipyrine, acetaminophen and lidocaine in fed and fasted horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 10, 73-82.
- Feary D.J., Mama K.R., Thomasy S.M., Wagner A.E., Enns R.M. (2006). Influence of gastrointestinal tract disease on pharmacokinetics of lidocaine after intravenous infusion in anesthetized horses. *American Journal of Veterinary Research* 67, 317-322.
- Feely J., Wilkinson G.R., Mcallister C.B., Wood A.J. (1982). Increased toxicity and reduced clearance of lidocaine by cimetidine. *Annals of Internal Medicine* 96, 592-594.
- Guschlbauer M., Hoppe S., Geburek F., Feige K., Huber K. (2010). In vitro effects of lidocaine on the contractility of equine jejunal smooth muscle challenged by ischaemia-reperfusion injury. *Equine Veterinary Journal* 42, 53-58.
- Haasio J., Hekali R., Rosenberg P.H. (1988). Influence of premedication on lignocaine-induced acute toxicity and plasma concentrations of lignocaine. *British Journal of Anaesthesia* 61, 131-134.
- Isohanni M.H., Ahonen J., Neuvonen P.J., Olkkola K.T. (2005). Effect of ciprofloxacin on the pharmacokinetics of intravenous lidocaine. *European Journal of Anaesthesiology* 22, 795-799.
- Kirberger R.M., Van Den Berg J.S., Gottschalk R.D., Guthrie A.J. (1995). Duodenal ultrasonography in the normal adult horse. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 36, 50-56.
- Lieberman N.A., Harris R.S., Katz R.I., Lipschutz H.M., Dolgin M., Fisher V.J. (1968). The effects of lidocaine on the electrical and mechanical activity of the heart. *American Journal of Cardiology* 22, 375-380.
- Maes A., Weiland L., Sandersen C., Gasthuys F., De Backer P., Croubels S. (2007). Determination of lidocaine and its two N-desethylated metabolites in dog and horse plasma by high-performance liquid chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 852, 180-187.
- Malone E., Ensink J., Turner T., Wilson J., Andrews F., Keegan K., Lumsden J. (2006). Intravenous continuous infusion of lidocaine for treatment of equine ileus. *Veterinary Surgery* 35, 60-66.
- Malone E., Turner T., Wilson J. (1998). Intravenous lidocaine for the treatment of equine ileus. In: *Sixth Equine Research Colic Symposium*. Athens, Georgia. p 42.
- McGorum B.C., Dixon P.M. (2007). Clinical examination of the respiratory tract. In: McGorum B.C., Dixon P.M., Robinson N.E., Schumacher J. (editors). *Equine Respiratory Medicine and Surgery*. Elsevier, Philadelphia, pp 103-117.
- McGuirk S.M., Muir W.W. (1985). Diagnosis and treatment of cardiac arrhythmias. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 1, 353-370.
- McKindley D.S., Boulet J., Sachdeva K., Wang P., Chichester C. (2002). Endotoxic shock alters the pharmacokinetics of lidocaine and monoethylglycinexylidide. *Shock* 17, 199-204.
- Meyer G.A., Lin H.C., Hanson R.R., Hayes T.L. (2001). Effects of intravenous lidocaine overdose on cardiac electrical activity and blood pressure in the horse. *Equine Veterinary Journal* 33, 434-437.
- Milligan M., Beard W., Kukanich B., Sobering T., Waxman S. (2007). The effect of lidocaine on postoperative jejunal motility in normal horses. *Veterinary Surgery* 36, 214-220.

- Milligan M., Kukanich B., Beard W., Waxman S. (2006). The disposition of lidocaine during a 12-hour intravenous infusion to postoperative horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29, 495-499.
- Mullen K.R., Gelzer A.R., Kraus M.S., Mitchell K., Divers T.J. (2009). ECG of the month. Cardiac arrhythmias in a horse after lidocaine administration. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235, 1156-1158.
- Murrell J.C., White K.L., Johnson C.B., Taylor P.M., Doherty T.J., Waterman-Pearson A.E. (2005). Investigation of the EEG effects of intravenous lidocaine during halothane anaesthesia in ponies. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 32, 212-221.
- Navas De Solís C., McKenzie III H.C. (2007). Serum concentrations of lidocaine and its metabolites mepx and gx during and after prolonged intravenous infusion of lidocaine in horses after colic surgery. *Journal of Equine Veterinary Science* 27, 398-404.
- Nieto J.E., Rakestraw P.C., Snyder J.R., Vastistas N.J. (2000). In vitro effects of erythromycin, lidocaine, and metoclopramide on smooth muscle from the pyloric antrum, proximal portion of the duodenum, and middle portion of the jejunum of horses. *American Journal of Veterinary Research* 61, 413-419.
- Oellerich M., Raude E., Burdelski M., Schulz M., Schmidt F.W., Ringe B., Lamesch P., Pichlmayr R., Raith H., Scheruhn M., Wrenger M., Wittekind C. (1987). Monoethylglycinexylidide formation kinetics: a novel approach to assessment of liver function. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 25, 845-853.
- Orlando R., Piccoli P., De Martin S., Padrini R., Palatini P. (2003). Effect of the CYP3A4 inhibitor erythromycin on the pharmacokinetics of lignocaine and its pharmacologically active metabolites in subjects with normal and impaired liver function. *British Journal of Clinical Pharmacology* 55, 86-93.
- Parry B.W., Gay C.C., Mccarthy M.A. (1980). Influence of the head height on arterial blood pressure in standing horses. *American Journal of Veterinary Research* 41, 1626-1631.
- Parry B.W., Mccarthy M.A., Anderson G.A. (1984). Survey of resting blood pressure values in clinically normal horses. *Equine Veterinary Journal* 16, 53-58.
- Peiro J.R., Barnabe P.A., Cadioli F.A., Cunha F.Q., Lima V.M., Mendonca V.H., Santana A.E., Malheiros E.B., Perri S.H., Valadao C.A. (2010). Effects of lidocaine infusion during experimental endotoxemia in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24, 940-948.
- Ritchie JM, Greene NM. (1990). Local anesthetics. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P (editors). Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. Eighth edition, New York, NY, Pergamon Press, pp 311-331.
- Robertson S.A., Sanchez L.C., Merritt A.M., Doherty T.J. (2005). Effect of systemic lidocaine on visceral and somatic nociception in conscious horses. *Equine Veterinary Journal* 37, 122-127.
- Rusiecki K.E., Nieto J.E., Puchalski S.M., Snyder J.R. (2008). Evaluation of continuous infusion of lidocaine on gastrointestinal tract function in normal horses. *Veterinary Surgery* 37, 564-570.
- Scott D.B. (1986). Toxic effects of local anaesthetic agents on the central nervous system. *British Journal of Anaesthesia* 58, 732-735.
- Skarda R. (1991). Local anesthetics and local anesthetic techniques in horses. In: Muir W., Hubbel J. (editors). *Equine Anaesthesia Monitoring and Emergency Therapy*. Mosby Year Book, Saint -Louis., pp 209-210.
- Strong J.M., Parker M., Atkinson A.J. Jr. (1973). Identification of glycinexylidide in patients treated with intravenous lidocaine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 14, 67-72.
- Tappenbeck K., Hoppe S., Hopster K., Kietzmann M., Feige K., Huber K. (2013). Lidocaine and structure-related mexiletine induce similar contractility-enhancing effects in ischaemia-reperfusion injured equine intestinal smooth muscle in vitro. *The Veterinary Journal* 196, 461-466.
- Torfs S., Delesalle C., Dewulf J., Devisscher L., Deprez P. (2009). Risk factors for equine postoperative ileus and effectiveness of prophylactic lidocaine. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 606-611.
- Wagman I.H., De Jong R.H., Prince D.A. (1967). Effects of lidocaine on the central nervous system. *Anesthesiology* 28, 155-172.

Staalname en cryopreservatie van epididymale spermatozoa bij de hond

Collection and cryopreservation of epididymal spermatozoa in dogs

N. Simons, A. Van Soom, E. Domain, E. Wydooghe

Vakgroep Verloskunde, Voortplanting en Bedrijfsdiergeneeskunde
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

nick-simons@hotmail.com

SAMENVATTING

Wanneer een reu niet kan ejaculeren, kan epididymaal sperma gebruikt worden om een teef kunstmatig te insemineren. In deze studie werden twee methoden vergeleken om epididymaal sperma te verzamelen na castratie, namelijk de “float-up”-methode en de aspiratiemethode. Met de float-up-methode konden meer spermatozoa verzameld worden dan met de aspiratiemethode (1810±718,1 miljoen versus 694±244,5 miljoen respectievelijk, p-waarde = 0,018). Wanneer sperma verzameld werd met de float-up-methode, kon na het invriezen een trend tot een hogere motiliteit waargenomen worden dan met de aspiratiemethode (52±9,4% versus 44±9,4% respectievelijk, p-waarde = 0,060). Deze stalen vertoonden meer bloedcontaminatie dan de stalen verzameld met de aspiratiemethode. Dit bleek echter geen nadelig effect te hebben op de spermakwaliteit en -kwantiteit. Daarom kon geconcludeerd worden dat bij voorkeur de float-up-methode dient gebruikt te worden, wanneer epididymaal sperma verzameld moet worden bij honden.

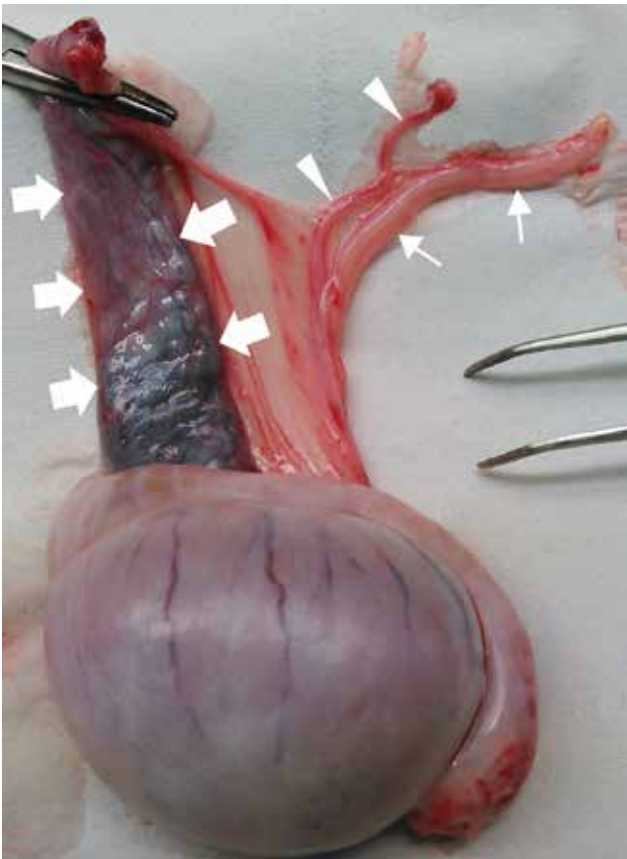
ABSTRACT

When a male dog is not able to ejaculate, epididymal spermatozoa can be used to artificially inseminate the bitch. In the present study, two methods to collect epididymal sperm after castration were compared, i.e. the float-up method and the aspiration method. With the float-up method, more spermatozoa were collected than with the aspiration method (1810±718.1 million versus 694±244.5 million respectively, p-value = 0.018). A trend towards a higher post-thaw motility was observed when using the float-up method compared to the aspiration method (52±9.4% versus 44±9.4%, p-value = 0.060). Semen samples collected with the float-up method showed more blood contamination than with the aspiration method; however, this seemed to have no effect on the quality and quantity of the semen. It can therefore be concluded that the float-up method is the method of choice when epididymal sperm has to be collected in dogs.

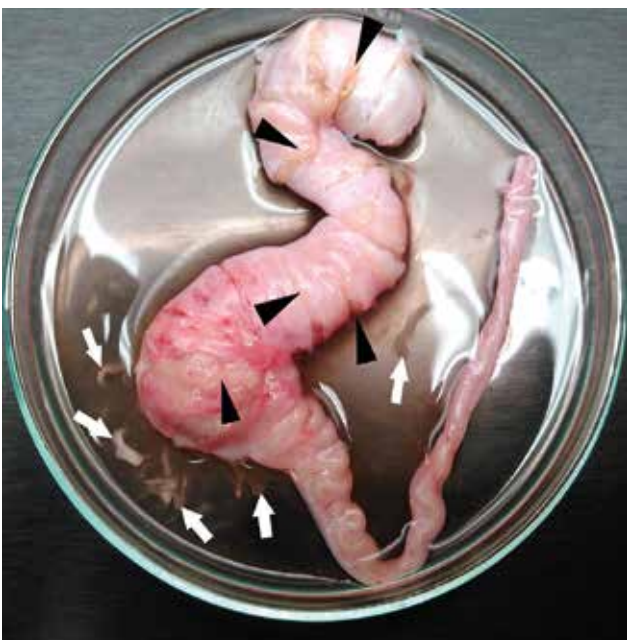
INTRODUCTIE

De laatste decennia is de interesse in het fokken van honden aanzienlijk toegenomen en ook de vraag naar geassisteerde reproductie bij honden stijgt (Peña et al., 2006). Het groeiende aantal kunstmatige inseminaties vraagt meer onderzoek naar verschillende technieken voor de opslag van hondensperma. Dit is vooral interessant wanneer het genetisch materiaal van waardevolle reuen bewaard moet blijven, zoals bijvoorbeeld bij assistentiehonden, zeldzame rassen

met weinig beschikbare fokdieren, genetisch belangrijke honden en reuen van bedreigde wilde hondachtigen (Hori et al., 2011). Naast inseminatie met vers, gekoeld of ingevroren-ontdooid, geëjaculeerd sperma, wordt ook het gebruik van epididymaal sperma onderzocht (Hewitt et al., 2001; Hori et al., 2003; Hori et al., 2004; Hori et al., 2011). Na de onverwachte dood van hun reu willen eigenaars soms nog nageslacht van deze hond (Wydooghe et al., 2016). Op dit moment zijn er minstens twee casussen beschreven waarbij een teef een levende puppy heeft voortgebracht na



Figuur 1. Testis na castratie alvorens de float-up-methode werd toegepast. Een klem werd geplaatst op de plexus pampiniformis (grote witte pijlen). Het proximale deel van de ductus deferens (kleine witte pijlen) en de nabijgelegen arterie (witte pijlpunten) werden reeds van elkaar verwijderd.



Figuur 2. Epididymis in een petrischaal nadat incisies werden gemaakt tijdens de float-up-methode. Merk op dat er via de incisies (zwarte pijlpunten) uitgetreden spermawolken (witte pijlen) zichtbaar zijn in het Hesp-TALP-medium.

inseminatie met postmortem gewonnen, epididymaal sperma (Wydooghe et al., 2016; Marks et al., 1994). In beide gevallen werd slechts één levende puppy geboren, wat kan wijzen op inferieure spermakwaliteit, een minder goede techniek van spermabewerking, een probleem bij de teef of suboptimale timing of techniek van inseminatie. Het is dus mogelijk om nageslacht te produceren uit sperma dat verzameld werd nadat de reu gestorven is.

Geëjaculeerd sperma wordt meestal verzameld door middel van masturbatie of sporadisch door elektro-ejaculatie of middels farmacologische methoden (Kutzler, 2005). Epididymaal sperma daarentegen dient verzameld te worden op alternatieve manieren. De methode die aan de Universiteit Gent gebruikt wordt voor het verzamelen van epididymaal sperma bij honden is de float-up-methode (Wydooghe et al., 2016). De epididymis en de proximale ductus deferens worden hierbij ingesneden en ondergedompeld in een medium om de spermatozoa toe te laten in het medium te stromen. Echter, omdat de epididymis ingesneden wordt, wordt het omliggende weefsel beschadigd en kunnen zich ook bloedcellen verspreiden in het medium. Bloedcontaminatie zou nadelig kunnen zijn voor de spermakwaliteit, omdat onder andere hemoglobine, dat vrijkomt na hemolyse bij het invriezen en ontdooien, schadelijk zou zijn voor de spermatozoa (Rijsselaere et al., 2003). Dit zou gedeeltelijk kunnen verklaren waarom het drachtigheidspercentage na kunstmatige inseminatie met ingevroren-ontdooid epididymaal sperma zo laag is.

Een andere methode om epididymaal sperma te verzamelen, is de aspiratiemethode (Angrimani et al., 2014 en 2017). Bij deze methode worden meerdere incisies gemaakt in de caput, corpus en cauda epididymidis. Daarbij worden de bloedvaten nauwkeurig vermeden. Met een geautomatiseerde pipet wordt het uitvloeiende epididymale sperma verzameld. Er kan verwacht worden dat deze techniek stalen oplevert met spermatozoa van betere kwaliteit, aangezien de schadelijke gevolgen van bloedcontaminatie afwezig zijn.

Beide technieken werden begin jaren negentig van de vorige eeuw reeds vergeleken voor het verzamelen van epididymaal sperma bij ratten (Klinefelter et al., 1991). In tegenstelling tot de eerder genoemde veronderstelling dat de float-up-methode spermastalen van relatief slechte kwaliteit zou opleveren, resulteerde net deze methode, in een studie van Klinefelter et al. (1991), in minder variabele, kwalitatief betere en minder beschadigde spermastalen. Seed et al. (1996) bevestigden deze resultaten met een vergelijkbare studie bij ratten, en ook bij konijnen en honden.

Het is duidelijk dat er tegenstrijdige gegevens te vinden zijn in de literatuur en dat verder onderzoek aangewezen is. Het doel van deze studie is om deze methoden te vergelijken en zodoende te evalueren welke van de twee, i.e. de float-up-methode of de aspiratiemethode, het meest praktisch is wanneer epididymaal sperma moet worden ingevroren om later voor kunstmatige inseminatie gebruikt te kunnen worden.

MATERIAAL EN METHODEN

Dieren

Voor deze studie werden negen gezonde, intacte, mannelijke honden gebruikt van verschillende leeftijd (tussen vijf maanden en elf jaar), verschillend ras (een labrador-retriever, pomeriaan, Amerikaanse stafford, Franse bulldog, twee Australische herders, een Deense dog, Peruviaanse naakthond en een kruising), met verschillend lichaamsgewicht (tussen 2,3 kg en 53 kg), die nooit gedekt hadden. Deze reuen werden aangeboden voor castratie aan nabijgelegen dierenartspraktijken of aan de dierenkliniek van de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent. Na castratie werd elke testis tijdelijk en apart bewaard aan 4°C in fysiologische vloeistof aangevuld met 50 µg/ml gentamycine. Binnen de 24 uur werden de testes behandeld in het labo.

Staalname van het spermastaal

Om voor eenzelfde hond beide methoden te kunnen vergelijken, werd elk van de twee technieken toegepast op één van beide testes van dezelfde hond. De testes werden gewogen en de staalnamemethoden werden at random toegepast op de zwaarste of lichtste testis. Eerst werden de testes gewassen met Dulbecco's fosfaat-gebufferde zoutoplossing en voorzichtig gedroogd. Alle handelingen werden uitgevoerd onder laminaire flow op een verwarmde plaat (37,5°C).

Float-up-methode

Het weefsel tussen de ductus deferens en de overgebleven arterie werd met een pincet verwijderd door deze uit elkaar te trekken (Figuur 1). Vervolgens werd de epididymis losgesneden van de testis met een scalpel. De overgang tussen de testis en de cauda epididymidis werd doorgesneden en een klem werd geplaatst op het einde van de cauda om te voorkomen dat sperma uit de epididymis zou lekken. Vervolgens werd de epididymis in een petrischaal geplaatst gevuld met Hapes gebufferd Tyrode's albumine-lactaat-pyruvaat (Hapes-TALP) -medium (De Pauw et al., 2003) en de klem werd verwijderd. Met een scalpel werden meerdere parallelle incisies gemaakt in alle delen van de epididymis, terwijl de grote bloedvaten zo goed mogelijk werden vermeden. Het sperma begon snel uit de epididymis te diffunderen in het medium (Figuur 2). De petrischaal werd bedekt om schade aan de spermatozoa door licht te voorkomen. Nadat de spermatozoa gedurende dertig minuten toegelaten werd om uit de epididymis in het medium te zwemmen, werd het spermatozoa-bevattende medium verzameld met een automatische pipet en in een proefbuis geplaatst. Van dit finale staal werden de kwaliteitsparameters bepaald.



Figuur 3. Incisie in de cauda epididymidis (geïndividualiseerd door een klem) waarin sperma reeds zichtbaar was voordat het verzameld werd met een pipet tijdens de aspiratiemethode.

Aspiratiemethode

Een van de grootste verschillen met de float-up-methode is het feit dat de epididymis bij de aspiratiemethode niet van de testis losgesneden wordt.

De epididymis werd daarentegen enkel geïndividualiseerd door een klem te plaatsen op het deel van de epididymis het dichtste tegen de testis aan. Daardoor moest er niet gesneden worden tussen de epididymis en de testis, wat de kans op bloedcontaminatie verminderde. Bovendien zorgde de klem voor een opwaartse druk zodat het aanwezige sperma vlot kon uitvloeien tijdens de volgende stap. Daarbij werd met een scalpel een incisie gemaakt in de verschillende delen van de epididymis, waardoor gemakkelijker bloedvaten vermeden konden worden in tegenstelling tot de float-up-methode. Eerst werd de cauda epididymidis ingesneden om het merendeel van het aanwezige sperma te verzamelen, aangezien dit deel dienst doet als de opslagplaats van de spermatozoa (Figuur 3). Het beschikbare sperma in de incisie werd geaspireerd met een automatische pipet en in een testbuisje met Hapes-TALP-medium geplaatst. Daarna werd op een gelijkaardige manier het sperma uit het corpus en de caput epididymidis verzameld en in dezelfde proefbuis overgebracht. Van dit finale staal werden de kwaliteitsparameters bepaald.

Evaluatie van de spermakwaliteit

De basisparameters zoals het totale aantal spermatozoa, de motiliteit en de morfologie van de spermatozoa werden beoordeeld door middel van conventionele technieken. Dit gebeurde zowel van de stalen verzameld met de float-up-methode, als die bekomen met de aspiratiemethode. Eerst werd de spermatozoa-concentratie bepaald met een hematocytometer. Door dit aantal spermacellen per ml te vermenigvuldigen met het volume van het staal werd het totaal

aantal spermatozoa berekend per staal. De spermotiliteit werd geschat door microscopische evaluatie van het staal op een voorverwarmd draagglas. Tot slot werd een eosine-nigrosinekleuring gemaakt om de morfologie van de spermatozoa te beoordelen. Op deze manier werden de levend/dood-verhouding, het aantal spermatozoa met een normale morfologie en het aantal abnormaliteiten, zoals een abnormale kop, abnormale staart, proximale protoplasmadruppen en distale protoplasmadruppel, geteld.

Invries- en ontdooiproces

Nadat de kwaliteitsparameters voor het invriezen geëvalueerd waren, kon het invriesproces opgestart worden. Het protocol dat gebruikt werd in deze studie was de Uppsala-methode (Linde-Forsberg, 2010) met kleine aanpassingen, zoals beschreven door Rijsselaere et al. (2011). De proefbuisen werden met medium en spermatozoa, die verzameld werden volgens de corresponderende methode, gedurende vijf minuten gecentrifugeerd aan 37°C en aan 720g. Daarna werd de bekomen spermapellet geresuspendeerd in een eerste verdunner; op die manier werd het sperma over een verloop van 90 tot 120 minuten au bain-marie gekoeld tot 4°C. Vervolgens werd het sperma verder verdund met een tweede verdunner, waarna het in gelabelde rietjes werd overgebracht die in een geautomatiseerde invriesmachine werden geplaatst en ingevroren volgens het temperatuurprotocol van Schäfer-Somi (2006). De bevroren stalen werden bewaard in containers met vloeibare stikstof. Bij het ontdooien werden de rietjes gedurende tien seconden aan de lucht



Figuur 4. Testbuisjes met Hapes-TALP-medium en sperma verzameld met de aspiratiemethode (links) en met de float-up-methode (rechts), waarbij meer bloed aanwezig was dan bij aspiratie.

Tabel 1. Effect van ras, leeftijd, lichaamsgewicht, gewicht van de testes en een mogelijk gezondheidsprobleem op het totaal aantal spermatozoa. De testes inclusief epididymis van alle honden wogen tussen 3,7g en 39,5g met een gemiddelde van 16,2g.

Hond ID	Ras	Leeftijd (jaar; maand)	Lichaamsgewicht (kg)	Staalnamemethode	Gewicht testis (g)	Totaal aantal spermacellen (10 ⁶)	Spermatozoa per gram testisweefsel
1	Pomeriaan	3	3,45	Float-up-methode	3,8	80	21,05
				Aspiratiemethode	3,7	44	11,89
2*	Franse bulldog	2; 2	15,6	Float-up-methode	7,6	268	35,26
				Aspiratiemethode	7,3	88	12,05
3	Australische herder	9; 4	32,6	Float-up-methode	25,2	3328	132,06
				Aspiratiemethode	23,7	1456	61,43
4	Deense dog	1; 10	53	Float-up-methode	39,5	4448	112,61
				Aspiratiemethode	35,6	1136	31,91
5*	Peruviaanse naakthond	6	10,5	Float-up-methode	8,35	896	107,31
				Aspiratiemethode	8,34	384	46,04
6	Australische herder	0; 7	27,7	Float-up-methode	18,7	1840	98,40
				Aspiratiemethode	18,7	1056	56,47

*Gezondheidsproblemen: brachycefal obstructief syndroom (BOS) (hond 2); perineale hernia + staal 48 u koel voor invriezen (hond 5).

geëquilibreerd en daarna gedurende één minuut ontdooit in water van 37°C. Na het ontdooien werden de spermamotiliteit en -morfologie opnieuw bepaald met dezelfde technieken als hierboven beschreven.

Statistiek

De statistische analyse gebeurde via het programma SPSS25 door middel van een gepaarde t-toets. De data worden weergegeven als het gemiddelde \pm standaardfout. Verschillen waarbij de p-waarde kleiner was dan 0,05 werden als significant beschouwd en verschillen met een p-waarde kleiner dan 0,1 werden beschouwd als een trend.

RESULTATEN

In deze studie kon er van zes van de negen honden een bruikbaar spermastaal van voldoende kwaliteit bekomen worden. Het spermastaal van de drie andere honden vertoonde azoöspermie: de hond van vijf maanden was vermoedelijk nog niet geslachtsrijp, de hond van elf jaar had een testistumor en testisatrofie en voor de derde hond was er geen aanwijsbare reden van de azoöspermie.

Resultaten voor het invriezen

Met de float-up-methode konden significant meer spermacellen verzameld worden dan met de aspiratiemethode (Tabel 1 en 2). Wat betreft de kwaliteit van het verkregen spermastaal kon er geen verschil vastgesteld worden voor wat betreft de motiliteit en de levend/dood-verhouding. Het aantal spermatozoa met een abnormale morfologie was voor beide methoden hoog en vergelijkbaar (Tabel 2).

Resultaten na het ontdooien

Na het ontdooien van de spermastalen werd het totaal aantal spermatozoa niet meer opnieuw bepaald, aangezien de spermaconcentratie niet mag veranderen tijdens het invriesproces. Bij de float-up-methode werd een trend tot een hogere motiliteit na ontdooiing waargenomen dan bij de aspiratiemethode (Tabel 2).

De levend/dood-verhouding fluctueerde rond 85/15 en was opnieuw vergelijkbaar voor beide methoden (Tabel 2). De morfologie van de spermacellen toonde een zeer hoog aantal abnormale spermatozoa, maar verschilde niet tussen beide methoden.

DISCUSSIE

Wanneer een eigenaar nageslacht wil van een reu die niet meer kan ejaculeren, is kunstmatige inseminatie met epididymaal sperma een mogelijke oplossing. Echter, zelfs als dit lukt, wordt een slechte fertiliteit bekomen (Wydooghe et al., 2016; Marks et al., 1994). Een mogelijke verklaring is dat epididymaal sperma niet het volledige rijpingsproces, inclusief de ejaculatie zelf en het mengen met seminaal plasma vanuit de prostaat, heeft doorgemaakt en daarom van inferieure kwaliteit is. Bovendien beïnvloedt het invriesproces de spermakwaliteit, zowel voor geëjaculeerd als voor epididymaal sperma en is de fertiliteit na inseminatie met gecryopreserveerd sperma lager dan met vers sperma. Daarnaast is ook de methode van staalname voor epididymaal sperma belangrijk en kan ze het fertiliserend vermogen beïnvloeden. Het is duidelijk dat een heel aantal factoren nog onderzocht moet worden.

In deze studie werd ingegaan op de staalname methoden van epididymaal sperma en werd getracht te bepalen welke methode het beste gebruikt wordt in de praktijk. Middels de float-up-methode is de kans groter dat het sperma onderhevig is aan de mogelijk nadelige effecten van bloedcontaminatie dan met de aspiratiemethode. Daarom zou verwacht kunnen worden dat het bekomen sperma met deze laatste techniek kwalitatief superieur zou zijn, alhoewel in sommige studies met ratten het tegenovergestelde gesuggereerd wordt (Klinefelter et al., 1991; Seed et al., 1996). In de voorliggende studie werd duidelijk aangetoond dat met de float-up-methode een hoger aantal spermatozoa verzameld kon worden dan met de aspiratiemethode. De evaluatie van de spermakwaliteit toonde een tendens naar een hogere motiliteit zowel voor het invriezen als na het ontdooien.

Mogelijke verklaringen voor de grotere spermaopbrengst van de float-up-methode dan de aspiratiemethode is de combinatie van een groter, totaal ingesne-

Tabel 2. Karakteristieken van spermastalen afgenomen met de twee verschillende methoden voor en na het invriezen.

	Voor invriezen		Na invriezen	
	Float-up-methode	Aspiratiemethode	Float-up-methode	Aspiratiemethode
Totale sperma-output	1 810 \pm 718,1 miljoen ^a	694 \pm 244,5 miljoen ^b	-	-
Motiliteit (%)	75 \pm 4,1	70 \pm 5,3*	52 \pm 9,4	44 \pm 9,4*
Levend (%)	88 \pm 1,6	89 \pm 1,5	88 \pm 1,6	87 \pm 2,4
Abnormale morfologie (%)	51 \pm 4,4	60 \pm 6,7	74 \pm 4,6	80 \pm 4,0

Verschillen waarbij de p-waarde kleiner is dan 0,05 worden als significant beschouwd en worden weergegeven met een verschillend superscript. Verschillen met een p-waarde kleiner dan 0,1 worden beschouwd als een trend en worden aangeduid met een asterisk.

den oppervlak van de epididymis en een grotere tijdspanne. Door de vele incisies bij de float-up-methode kunnen spermacellen uit het hele parenchym van de epididymis gedurende dertig minuten zwemmen. Bij de aspiratiemethode kunnen echter alleen de spermatozoa die aanwezig zijn in het vocht dat uit de incisie vloeit, verzameld worden. De cellen die nog achterblijven in het parenchym dat niet ingesneden is, worden niet verzameld door de beperkte zuigkracht van de pipet. De betere kwaliteit van het staal gewonnen via de float-up-methode kan mogelijk verklaard worden door de verschillende mate waarin beide technieken interfereren: bij de aspiratiemethode is er een hoger risico op beschadiging door de kracht van de aspiratie alsook door schuinvorming door het intensiever mengen met lucht. Opmerkelijk in de voorliggende studie is de afwezigheid van het nadelige effect van bloedcontaminatie met de float-up-methode. Hoewel op Figuur 4 duidelijk zichtbaar is dat in het staal gewonnen via de float-up-methode meer bloed aanwezig was dan in het staal verkregen met de aspiratiemethode, was de spermakwaliteit zowel voor als na het invriezen beter. Zodoende lijkt het dat bloedcontaminatie geen nadelige invloed heeft op het sperma indien het behandeld wordt zoals in de voorliggende studie.

CONCLUSIE

In deze studie werd aangetoond dat de float-up-methode verkozen dient te worden boven de aspiratiemethode voor het verzamelen van epididymaal sperma. Toch garandeert kunstmatige inseminatie met epididymaal sperma verzameld met de float-up-methode geen succesvolle bevruchting. Tussen het moment van sperma-verzameling en de fertilisatie van de oocyt is er een aantal factoren die het succes van de inseminatie bepalen. In de voorliggende studie werd enkel aangetoond dat de float-up-methode geprefereerd dient te worden boven de aspiratiemethode. Dit beslaat echter slechts één stap in de complexe procedure van kunstmatige inseminatie met epididymaal sperma. Bovendien zijn de conceptie-resultaten verre van ideaal te noemen. Om de kans op conceptie en de worpgrootte bij gebruik van epididymaal sperma te verhogen, dient nog verder onderzoek te gebeuren naar de invloed van het gebruik van alternatieve verdunners en van de componenten van prostaatvocht om de resultaten met dit sperma te verbeteren.

LITERATUUR

Angrimani, D.S.R., Losano, J.D.A., Lucio, C.F., Veiga, G.A.L., Pereda, M.C., Nichi, M., Vannucchi, C.I., (2014). Role of residual cytoplasm on oxidative status during sperm maturation in dogs. *Animal Reproduction Science* 151, 256-261.

Angrimani, D.S.R., Losano, J.D.A., Lucio, C.F., Veiga, G.A.L., Landim, F.C., Nichi, M., Vannucchi, C.I., (2017). Cytoplasmic droplet acting as a mitochondrial modulator during sperm maturation in dogs. *Animal Reproduction Science* 181, 50-56.

Angrimani, D.S.R., Nichi, M., Losano, J.D.A., Lucio, C.F., Veiga, G.A.L., Franco, M.V.M., Vannucchi, C.I., (2017). Fatty acid content in epididymal fluid and spermatozoa during sperm maturation in dogs. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 8, 18.

De Pauw, I. M. C., Van Soom, A., Mintiens, K., Verberckmoes, S., de Kruif, A., (2003). In vitro survival of bovine spermatozoa stored at room temperature under epididymal conditions. *Theriogenology* 59, 1093-1107.

Hewitt, D.A., Leahy, R., Sheldon, I.M., England, G.C.M., (2001). Cryopreservation of epididymal dog sperm. *Animal Reproduction Science* 67, 101-111.

Hori, T., Ichikawa, M., Kawakami, E., Tsutui, T., (2003). Artificial insemination of frozen epididymal sperm in Beagle dogs. *The journal of Veterinary Medical Science* 66, 37-41.

Hori, T., Haguida, K., Kawakami, E., Tsutsui, T., (2004). Unilateral intrauterine insemination with prostatic fluid-sensitized frozen caudal epididymal sperm in Beagle dogs. *Theriogenology* 63, 1573-1583.

Hori, T., Matsuda, Y., Kobayashi, M., Kawakami, E., Tsutsui, T., (2011). Comparison of fertility on intrauterine insemination between cryopreserved ejaculated and cauda epididymal sperm in dogs. *The journal of Veterinary Medical Science* 73, 1685-1688.

Klinefelter, G.R., Gray, L.E., Suarez, J.D., (1991). The method of sperm collection significantly influences sperm motion parameters following ethane dimethanesulphonate administration in the rat. *Reproductive Toxicology* 5, 39-44.

Kutzler, M.A., (2005). Semen collection in the dog. *Theriogenology* 64, 747-754.

Linde-Forsberg, C., (2010). Canine artificial insemination: State of the art. In: *Proceedings 7th EVSSAR Congress*, Louvain-La-Neuve, Belgium, pp. 22-26.

Marks, S.L., Dupuis, J., Michelsen, W.D., Menton, M.A., Platz, C.C. Jr., (1994). Conception by use of postmortem epididymal semen extraction in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 204, 1639-1640.

Peña, F.J., Núñez-Martínez, I., Morán, J.M., (2006). Semen technologies in dog breeding: an update. *Reproduction of Domestic Animals* 41, 21-29.

Rijsselaere, T., Van Soom, A., Maes, D., Verberckmoes, S., de Kruif, A., (2003). Effect of blood admixture on in vitro survival of chilled and frozen-thawed canine spermatozoa. *Theriogenology* 61, 1589-1602.

Rijsselaere, T., Maes, D., Van den Berghe, F., Van Soom, A., (2011). Preservation and shipment of chilled and cryopreserved dog semen. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 80, 248-253.

Schäfer-Somi, S., Kluger, S., Knapp, E., Klein, D., Aurich, C., (2006). Effects of semen extender and semen processing on motility and viability of frozen-thawed dog spermatozoa. *Theriogenology* 66, 173-182.

Seed, J., Chapin, R.E., Clegg, E.D., Dostal, L.A., Foote, R.H., Hurtt, M.E., Klinefelter, G.R., Makris, S.L., Perreault, S.D., Schrader, S. (1996). Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. *Reproductive Toxicology* 10, 237-244.

Wydooghe, E., Snoeck, F., Van Soom, A., (2016). Establishment of live birth following intravaginal artificial insemination with chilled epididymal dog semen collected post mortem: case report. In: *Proceedings of the 8th International Symposium on Canine and Feline Reproduction ISCFR (Paris, France)*, 231.

Development of surgical site infections despite perioperative antimicrobial therapy in two dogs

De ontwikkeling van postoperatieve wondinfecties bij twee honden ondanks perioperatieve toediening van antimicrobiële middelen

¹A. Lyssens, ¹N. Devriendt, ²E. Stock, ¹T. Roggeman, ¹H. de Rooster

¹Small Animal Department

²Department of Medical Imaging of Domestic Animals and Orthopedics of Small Animals
Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

aurelie.lyssens@ugent.be

ABSTRACT

Surgical site infections (SSI) are common complications with a prevalence of 0.8 to 18%. Many risk factors, such as patient, environmental and treatment factors can contribute to the development of SSI. Two dogs that developed a SSI after forelimb amputation are discussed. The first dog was presented with an open comminuted intra-articular fracture of the right elbow. The second dog was diagnosed with a soft-tissue sarcoma at the right elbow. Perioperative cefazolin was administered in both patients. Only in the first patient, antimicrobial therapy was continued in the postoperative period. Both dogs developed an SSI within four to five days postoperatively. Yet, prophylactic antimicrobials can help to prevent SSI, provided that the correct antimicrobial is used at the correct dose, at the right time and given IV. Factors, such as hypothermia, violating the Halsted's principles and the number of people present in the theater may increase the risk of SSI. Besides the meticulous use of antimicrobials, perioperative management is thus also important in SSI prevention.

SAMENVATTING

Postoperatieve wondinfecties zijn een veel voorkomend probleem. Een prevalentie van 0,8 tot 18% wordt beschreven in de diergeneeskunde. Factoren met betrekking tot de patiënt, omgeving en chirurgie hebben een invloed op het ontstaan van postoperatieve wondinfecties.

Twee honden die na voorpootamputatie een postoperatieve wondinfectie ontwikkelden, worden besproken. De eerste hond werd aangeboden met een complexe open intra-articulaire fractuur van de rechterelleboog. De andere hond onderging een amputatie omwille van een wekedelensarcoma ter hoogte van de rechterelleboog. In beide gevallen werd er perioperatief cefazoline toegediend. Bij de eerste patiënt werd het antibioticum postoperatief verdergezet. De andere hond kreeg geen postoperatief antibioticum. Beide honden ontwikkelden na vier tot vijf dagen een postoperatieve wondinfectie. De aanwezigheid van verschillende risicofactoren kan de kans op postoperatieve wondinfecties doen toenemen. Naast het correct gebruik van antimicrobiële middelen speelt ook het vermijden van deze risicofactoren een belangrijke rol in de preventie van postoperatieve wondinfecties.

INTRODUCTION

Surgical site infections (SSI) are infections that occur at the level of a surgical wound. They usually occur within fourteen to thirty days of the procedure (or within one year if an implant is left in place) (Sal-

kind and Rao, 2008; Yap et al., 2015). The reported incidence of SSI in veterinary medicine ranges from 0.8 to 18% (Boothe and Boothe, 2015; Walker et al., 2016; Hayes et al., 2017). The source of bacterial contamination can be endogenous and/or exogenous. A reduced quality of life, increased morbidity and in-

Table 1. Surgical wound classification system (adapted from Vasseur et al., 1988).

Classification of surgery	Description	Infection rate	Use of prophylactic antimicrobials?
Clean	A surgery in which no inflammation is encountered and in which the respiratory, alimentary, genital or infected urinary tract are not entered	1.6- 6%	Controversial, depends on the individual situation. When the consequences of a surgical wound infection would be severe or when surgical implants are inserted, prophylactic antimicrobials should be given as well when surgery is expected to take longer than 90 minutes
Clean-contaminated	Surgeries, in which the respiratory, alimentary, genital, or infected urinary tract are entered under controlled conditions without major contamination. Clean surgeries with a minor break in sterile surgery technique are also included	4.5- 10%	Controversial, depends on the individual situation. The duration of anesthesia and surgery, and the immune status of the patient are factors that may help to determine whether or not antimicrobials should be given prior to surgery
Contaminated	Surgeries with major breaks in sterile technique or gross spillage from the alimentary tract and incisions, in which acute non-purulent inflammation is encountered	6-29%	Indicated. The antimicrobial should be selected based on the expected type of bacteria in the surgical field or based on the results of the culture and the susceptibility tests
Dirty	Surgeries, in which viscera are perforated or surgeries with fecal contamination	10-20%	Therapeutic use of antimicrobials is indicated. The selected drugs should have a broad-spectrum and should be changed once bacterial culture and susceptibility test results are known to narrow the spectrum

creased mortality are some of the consequences for patients with an SSI (Kurz et al., 1996; Hayes et al., 2017; Gonzalez et al., 2017). Surgical site infections also result in significantly higher costs for the owner caused by prolonged hospitalization, more intensive postoperative care and frequent control visits (Nicoll et al., 2014).

The risk of SSI correlates directly with preoperative, perioperative and postoperative factors (Barie, 2002; Nelson, 2011). Some reported risk factors in veterinary medicine are signalment, presence of endocrinopathies, perioperative hypoxia and hypothermia, skin antisepsis, number of persons in the operation room, duration of anesthesia and surgery, presence of drains and inappropriate use of antimicrobials (Howe and Boothe, 2006; Nelson, 2011). Wrong type, dose or timing of the antimicrobial therapy, administration of prophylactic antimicrobials in clean or clean-contaminated procedures, or postoperative prophylaxis longer than twenty-four hours may facilitate SSI development and it may result in antimicrobial resistance and alterations in bacterial flora, leading to changes in colonization (Prospero et al., 2011; Aiken et al., 2015; Boothe and Boothe, 2015; Pratesi et al., 2015).

Prophylactic antimicrobials are administered prior to surgery to prevent a non-established infection (Howe and Boothe, 2006; Boothe and Boothe, 2015).

Recommendations are based on a surgical classification system (Vasseur et al., 1988; Mishriki et al., 1990; Nelson, 2011) (Table 1). Besides their prophylactic use, antimicrobials can also be used therapeutically. Therapeutic use of antimicrobials is indicated in patients undergoing contaminated or dirty surgical procedures and in case an infection is present at the surgical site or in a body cavity (Howe and Boothe 2006; Nelson, 2011; Bratzler et al., 2013).

In this paper, two dogs are described that underwent forelimb amputation and subsequently developed an SSI.

CASE HISTORIES

Case 1

A fourteen-year-old, male, intact Fox terrier was hit by a car. At initial presentation to the referring veterinarian, the dog was very painful and it was sedated intramuscularly (IM) with a combination of medetomidine and ketamine. In the right axillary region, a wound was observed. Radiographs disclosed a comminuted open intra-articular fracture of the right elbow. The wound was flushed with saline and a protective bandage was applied. Prior to referral, fluid

therapy was installed and amoxicillin, meloxicam and methadone were intravenously (IV) administered.

Within six hours after the original trauma, the dog was presented to the Small Animal Department of the Faculty of Veterinary Medicine (Ghent University). On physical examination, the dog was mildly sedated, hypothermic (35.8°C), and mildly increased lung sounds were present on auscultation. Oral mucosae were sticky, capillary refill time was two seconds and heart rate was one hundred beats per minute. Hair was entangled in the wound in the right axilla and damaged muscles were visualized in the depth; no active bleeding was present.

Fluid therapy was increased to correct for 5% dehydration (Ringer lactate, Hartmann®, Baxter 5 mL/kg/h IV). Methadone (Comfortan, Eurovet Animal Health B.V., Bladel, the Netherlands, 0.1 mg/kg IV) and cefazolin (Cefazoline Sandoz, Sandoz S.A., Vilvoorde, Belgium, 20 mg/kg IV) were installed. General blood examination revealed a significant increase of alanine aminotransferase and hyperglycemia. Radiographs of the thorax and additional views of the right elbow were obtained. The thoracic radiographs were within normal limits. An open comminuted intra-articular fracture of the right elbow with multiple, severely displaced ulnar and radial fragments was visualized (Figure 1). Because of the complexity of the fracture, fracture reduction and osteosynthesis were likely to result in a poor outcome concerning elbow joint function. Therefore, right front limb amputation was advised.

Ten hours after the insult, the dog was premedicated with a combination of dexmedetomidine (Dexdomitor, Orion Corporation, Espoo, Finland 5 µg/kg IV) and methadone (0.2 mg/kg IV), induced with propofol (Propovet Multidose, Abbott Laboratories, Berkshire, United Kingdom, 4-6 mg/kg IV to effect), and anesthesia was maintained with isoflurane vaporized in oxygen. Since the last cefazolin (20 mg/kg IV) administration was two hours prior to surgery, it was not repeated at the time of induction. During anesthesia, Ringer lactate (5 mL/kg/h IV) was administered as well as a constant rate infusion (CRI) of fentanyl (Fentanyl, Eurovet Animal Health B.V., Bladel, the Netherlands, 5 µg/kg/h IV with a loading dose of 2 µg/kg) for intraoperative analgesia. The plexus brachial nerves were infiltrated with bupivacaine (Marcaine 0.5%, AstraZeneca, Brussels, Belgium, 2 mL) before surgical dissection.

A standard forelimb amputation with removal of the scapula was performed. Prior to closure of the skin, an active drain (Multipurpose drain 10 French, Mila) was placed. A bandage made with a synthetic padding and cohesive bandage material was applied. The total duration of anesthesia and surgery was two hours and twenty-five minutes and one hour and forty-five minutes, respectively.

Postoperatively, the dog was hospitalized. Anal-

gesia consisted initially of IV methadone (0.2 mg/kg every four hours) and was changed the next day to tramadol hydrochloride (Tramadol EG, Eurogenerics S.A., Brussels, Belgium, 3 mg/kg orally every eight hours) combined with meloxicam (Metacam, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Ingelheim/Rhein, Germany, 0.1 mg/kg orally once daily). Intravenous cefazolin (20 mg/kg every eight hours) was continued until the day after surgery when it was changed to the oral administration of cephalexin (Rilexine 300mg, Virbac, Carros, France, 15 mg/kg twice daily). One day after surgery, the dog was able to walk with limited support. The drain was minimally productive and was removed two days after surgery. The incision remained dry and clean. The dog was discharged. Antimicrobial therapy was prescribed for another seven days and analgesia for another five days.

Five days after surgery, the dog developed total anorexia and the owners noticed discharge from the wound. On physical examination, wound dehiscence and necrotic skin edges were noticed. The wound was debrided and flushed with saline (Vetivex, Dechra Regulatory B.V., Bladel, the Netherlands). A sample was taken for culture and sensitivity testing, and a silicone sheet impregnated with honey (Tulle, L-Mesitran, Theo Manufacturing B.V., Maastricht, the Netherlands), covered by non-adhesive compresses (Melolin, Smith & Nephew, Hull, United Kingdom) was applied. Bacteriological examination showed the presence of multiple colonies of *Escherichia coli* (*E.*



Figure 1. Mediolateral radiograph of the right front leg. There is a large, heterogeneous soft tissue swelling, containing multiple gas opacities surrounding the right front leg. An open comminuted intra-articular fracture of the proximal radius and ulna is present.



Figure 2. Mass at the right elbow of a thirteen-year-old, male, castrated crossbreed dog.



Figure 3. Right-left lateral projection of the right elbow. A large soft tissue swelling containing mineralized opacities (arrows), centered on the caudal aspect of the elbow is present.



Figure 4. Wound dehiscence in case 2, four days post-operatively.

coli). Antimicrobial therapy was changed to amoxicillin clavulanic acid, based on the antibiogram (Kesium, Ceva Santé Animale B.V., Brussels, Belgium, 12.5 mg/kg orally twice daily). Delayed primary wound closure was performed after resection of the wound edges and curettage of the wound bed six days after wound dehiscence. Antimicrobial therapy was continued for another ten days; the wound healed without further complications.

Case 2

A thirteen-year-old, male, castrated crossbreed dog was presented with an eroded mass at the level of the right elbow. The mass had been present for three to four years. The dog was not lame, but its endurance was decreased. The dog had received tramadol hydrochloride and carprofen for four weeks prior to presentation on the Faculty. The referring veterinarian performed fine-needle aspirates nine days prior to referral and made a tentative diagnosis of a synovial cell sarcoma. Because of continued sero-hemorrhagic oozing from the puncture sites, a protective bandage was placed. A week later, the mass eroded at a different site and a large amount of bloody discharge was evacuated. On physical examination, the dog was alert but calm. An enlarged prescapular lymph node was noticed at the right side. A large soft tissue mass with extensive central necrosis was present caudal to the right elbow (Figure 2).

General blood examination revealed mild leukocytosis, mild monocytosis and mild neutrophilia, as well as very mild hypoalbuminemia. Fine-needle aspirates of the mass were repeated but they were not diagnostic.

A mediolateral radiograph of the right elbow revealed a large soft tissue swelling caudal to the elbow. The mass had a heterogeneous appearance with the presence of multiple small mineralized opacities. There were no signs of bony involvement (Figure 3). Thoracic radiographs were free of metastasis, and front limb amputation was advised.

Premedication consisted of methadone (0.2 mg/kg IV). Midazolam (0.2mg/kg IV) was administered just prior to induction with propofol (1.5 mg/kg IV to effect). Isoflurane vaporized in oxygen was used to maintain anesthesia. Thirty minutes prior to surgery, cefazolin (20 mg/kg IV) was administered, and it was repeated once, two hours after its first administration. During surgery, Ringer lactate was administered at 5 mL/kg/h as well as a CRI of fentanyl (5 µg/kg/h with a loading dose of 2 µg/kg) to obtain intraoperative analgesia. Additionally, the brachial plexus was infiltrated with lidocaine (Xylocaine 2%®, Astra Zeneca, Brussels, Belgium, 2 mL).

Amputation of the right front leg and type of postoperative bandage were performed as described before, but no drain was placed. The total duration of the anesthesia was three hours and twenty-five

minutes; the total duration of surgery was two hours and forty minutes. The entire right forelimb, including the axillary and prescapular lymph nodes, was sent for histology. The mass was diagnosed as a soft tissue sarcoma grade two, with no evidence of metastasis in the lymph nodes.

Postoperatively, analgesia was provided with methadone (0.2 mg/kg IV every four hours) and carprofen (Rimadyl, Zoetis S.A., Louvain-la-Neuve, 2 mg/kg orally, every twelve hours).

Although the dog was reluctant to walk, he was discharged two days after surgery. A small zone of dehiscence, as well as inflammation of the skin around the surgical incision were present. A new bandage was placed using a synthetic padding and cohesive bandage material. Carprofen (2 mg/kg orally, twice daily) was prescribed for another seven days and tramadol hydrochloride (3 mg/kg orally, every eight hours) for five days.

Four days postoperatively, the bandage was soaked by fluid discharge; the wound had dehisced at the distal half of the suture line (Figure 4). The owners went to the referring veterinarian and a swab for culture and sensitivity testing was taken. A honey dressing was placed and systemic antimicrobial therapy with amoxicillin-clavulanic acid and enrofloxacin was installed. One day later, the dog was presented at the Small Animal Department of Ghent University. Wound debridement was performed and samples for cytology were taken. On cytology, several intracellular bacteria were detected. An antimicrobial compress based on nanocrystalline silver (Acticoat, Smith & Nephew, Hull, United Kingdom) was placed within the wound and the skin was loosely apposed. Bacteriological examination showed the presence of numerous colonies of *Enterococcus faecalis* and *Enterobacter cloacae* complex. Antimicrobial therapy was continued and consisted of only amoxicillin clavulanic acid since both types of bacteria showed resistance to enrofloxacin.

Three days later, the antimicrobial compress was removed. Cytology of the wound bed was repeated after rinsing the wound with saline. Neutrophils and a small number of macrophages were seen; intracellular bacteria were no longer detected. Secondary wound closure was performed after debridement of the wound edges and curettage of the wound bed. Amoxicillin clavulanic acid was given once more after the revision surgery and then stopped. Three days after wound closure, the dog was discharged. Recovery was uneventful and seven months after the revision surgery, the owner reported the dog to be in perfect health.

DISCUSSION

Both dogs described underwent forelimb amputation for pathology at the level of the elbow. Amputa-

tion in a dog with an open elbow fracture is considered a contaminated surgery, whereas surgery in a dog with an eroded skin tumor is categorized as clean-contaminated. In case of contaminated or dirty surgeries or when preoperative infection is present, perioperative antimicrobial treatment is therapeutic rather than prophylactic (Zanetti et al., 2001; Howe and Booth, 2006; Nelson, 2011). In clean-contaminated cases, antimicrobial prophylaxis might be considered in an attempt to reduce the risk of SSI (Nicholson et al., 2002; Turk et al., 2015). Administration of prophylactic antimicrobials is not always indicated, as several prospective studies have reported no significant decrease in SSI when prophylactic antimicrobials were administered in clean or clean-contaminated surgeries (Vasseur et al., 1985; Brown et al., 1997; Daude-Lagrave et al., 2001).

The ideal antimicrobial prophylaxis should fulfil some conditions. First, the antimicrobial agent must be safe. The product associated with the lowest grade of toxicity and side effects must be chosen if more than one can be administered for prophylactic use (Polk and Christmas, 2000). Secondly, the antimicrobial should be based on the location and type of surgery and the expected pathogens (Weber et al., 2008; Willard and Schulz, 2012). However, antimicrobials do not need to be active against every type of bacteria that is present in the surgical wound, since not every organism results in SSI (Waddell and Rotstein, 1994; Weed et al., 2003). In companion animals, many bacteria found in SSI are opportunistic bacteria that are part of the normal flora of the patient. They only harm the patient if the host defense is impaired (Stull and Weese, 2015). Mainly *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *E. coli* and other *Staphylococcus* spp. are cultured from surgical sites (Howe and Boothe, 2006; Turk et al., 2015; Verwilghen and Singh, 2015). In the first dog, *E. coli* was isolated; in the second, *Enterococcus faecalis* and *Enterobacter cloacae* complex. All three bacterial species are part of the gastrointestinal flora in mammals (Hooper, 2004). It is unlikely that the dogs licked the wound since prevention of automutilation was explicitly discussed with the owners at the time of discharge. In both dogs, an Elizabethan collar was placed for fourteen days postoperatively.

It is recommended to choose antimicrobials with a relatively broad spectrum for prophylaxis to avoid the emergence of antimicrobial resistance. Ideally, antimicrobial selection should also be based on published data on the microbiology of common infections in the treated species (Dellinger et al., 1994; Willard and Schulz, 2012). For these reasons, cephalosporins are often used as a prophylactic antimicrobial in dogs and cats (Salkind and Rao, 2011). First-generation cephalosporins, such as cefazolin, are preferred because they are highly effective against pathogens that mostly cause SSI (Ohge, 1999; Weed, 2003; Gonzalez

et al., 2017). Cefazolin is also as effective as second-, third- or fourth-generation cephalosporins if no anaerobic bacteria are expected to be present in the wound. Lastly, first-generation cephalosporins are cheaper than cephalosporins of the other generations (Boothe and Boothe, 2015).

The timing of administration of antimicrobials is important for prophylaxis to be effective (Burke, 1961; Bratzler and Houck, 2005). Intravenous administration of cefazolin thirty to sixty minutes prior to the surgical incision would be ideal (Gonzalez et al., 2017). The IV route guarantees quick and high concentrations of the antimicrobial at the surgical wound (Waddell and Rotstein, 1994; Rosenberg et al., 2008; Boothe and Boothe, 2015). Furthermore, adequate antimicrobial levels in tissue and serum need to be maintained throughout surgery (Polk and Christmas, 2000; Gonzalez et al., 2017). To be efficacious in prophylaxis, the antimicrobial concentrations should exceed the minimal inhibitory concentration (MIC) for the expected pathogens in the surgical field (Tourmousoglou et al., 2008; Yap et al., 2015). In a recent pharmacokinetic study in dogs, an IV dose of cefazolin of 22 mg/kg has been reported to result in effective tissue concentrations for at least three hours of surgery (Gonzalez et al., 2017). In both dogs described, a traditional dose of 20 mg/kg of cefazolin IV was administered prior to surgery. The historical advice of re-dosing the prophylactic antimicrobial in companion-animal surgery every one hour and a half to two hours has been deduced from human pharmacokinetic studies (Verwilghen and Singh, 2015; Yap et al., 2015); in a recent canine study, it has been shown that intraoperative re-dosing of cefazolin is only necessary three hours post incision (Gonzalez et al., 2017).

Prophylactic antimicrobial use should be limited in time. A short duration, less than twenty-four hours after the end of surgery, is recommended (Waddell and Rotstein, 1994; Barie, 2002). In different studies in veterinary medicine, no benefits have been reported of administering postoperative antimicrobials for longer than twenty-four hours (Aiken et al., 2015; Yap et al., 2015). On the contrary, an increased risk of nosocomial infections, increased costs and the development of antimicrobial resistance have been reported (Bratzler and Houck, 2005; Aiken et al., 2015; Pratesi et al., 2015).

Besides the use of prophylactic antimicrobials, the presence of risk factors may influence the development of SSI. The risk to develop SSI was moderately high in both cases since various risk factors described in the literature were present in both cases. Forelimb amputation in dogs is a rather lengthy procedure, and the risk of SSI is positively correlated with the length of anesthesia (Beal et al., 2000; Eugster et al., 2004). Therefore, it is a concern to minimize the non-surgical duration of anesthesia (Eugster et al., 2004). The bandage applied to the unshaved distal leg should ideally

contain a sterile impermeable barrier to prevent bacteria entering the surgical field (Vince et al., 2008). None of the presented dogs had an impermeable layer incorporated in their bandage, but at the time of writing, the application of this barrier was added to the used protocol. During surgery, it is a focus of attention to comply with the principles of Halsted by gentle tissue handling and ensuring proper hemostasis (Barbieri, 2018). Placement of a drain should be considered to prevent seroma formation (Remedies, 1999). However, drains are ideal routes for bacteria to migrate into the surgical wound (Magee et al., 1976). In the first case, an active closed suction drain, instead of a passive drain, was placed to decrease this risk of bacterial migration. Alternatively, an absorbing dressing should cover the distal end of the drain. In both cases, a supportive circumferential bandage was placed around the thorax to prevent seroma formation by applying mild pressure. In the prevention of SSI, it is also important to maintain a normal intraoperative body temperature by using heat pads, forced air devices or hot water gloves (Kurz et al., 1996). Both patients became hypothermic during surgery. Furthermore, the amount of people attending the surgery increases the risk of postoperative problems (Eugster et al., 2004). The more persons present in the operating room, the more bacteria present in the air. It is important to communicate to students and surgical crew to enter (and leave) the operation room only if necessary and as little as possible.

CONCLUSION

Plenty of perioperative parameters, such as hypothermia, the number of people attending a surgery and violating the principles of Halsted, might facilitate microbial proliferation in surgical wounds. It is important to try to avoid those potential risk factors. In selected cases, the correct use of antimicrobials (correct type, dose, dose interval and IV route) can decrease the risk of SSI but they can never replace aseptic techniques, meticulous tissue handling and/or appropriate wound care.

REFERENCES

- Aiken, M.J., Hughes, T.K., Abercromby, R.H., Holmes, M.A., Anderson, A.A. (2015). Prospective, randomized comparison of the effect of two antimicrobial regimes on surgical site infection rate in dogs undergoing orthopedic implant surgery. *Veterinary Surgery* 44, 661-667.
- Barbieri, R.L. (2018). Tactics for reducing the rate of surgical site infection following cesarean delivery. *OBG Management* 30 (4), 7-10.
- Barie, P.S. (2002). Surgical site infections: epidemiology and prevention. *Surgical Infections* 3, S9-S21.

- Boothe, D.M., Boothe, H.W. (2015). Antimicrobial considerations in the perioperative patient. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 45, 585-608.
- Bratzler, D.W., Houck, P.M. (2005). Antimicrobial prophylaxis for surgery: an advisory statement from the National Surgical Infection Prevention Project. *The American Journal of Surgery* 189, 395-404.
- Bratzler, D.W., Dellinger, E.P., Olsen, K.M., Perl, T.M., Auwaerter, P.G., Bolon, M.K., Fish, D.M., Napolitano, L.M., Sawyer, R.G., Slain, D., Steinberg, J.P., Weinstein, R.A. (2013). Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Surgical Infections* 14 (1), 73-156.
- Burke, J.P. (2001). Maximizing appropriate antibiotic prophylaxis for surgical patients: an update from LDS Hospital, Salt Lake City. *Clinical Infectious Diseases* 33 (2), S78-S83.
- Dellinger, E.P., Gross, P.A., Barrett, T.L., Krause, P.J., Martone, W.J., McGowan, J.E., Sweet, R.L., Wenzel, R.P. (1994). Quality standard for antimicrobial prophylaxis in surgical procedures. *Clinical Infectious Diseases* 18, 422-427.
- Eugster, S., Schawalder, P., Gaschen, F., Boerlin, P. (2004). A prospective study of postoperative surgical site infections in dogs and cats. *Veterinary Surgery* 33, 542-550.
- Gonzalez, O.J., Renberg, W.C., Roush, J.K., KuKanich, B., Warner, M. (2017). Pharmacokinetics of cefazolin for prophylactic administration to dogs. *American Journal of Veterinary Research* 78, 695-701.
- Hayes, G., Singh, A., Gibson, T., Moens, N., Oblak, M., Ogilvie, A., Reynolds, D. (2017). Influence of orthopedic reinforced gloves versus double standard gloves on contamination events during small animal orthopedic surgery. *Veterinary Surgery* 46, 981-985.
- Hooper, L.V. (2004). Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends in microbiology* 12, 129-134.
- Howe, L.M., Boothe, H.W. (2006). Antimicrobial use in the surgical patient. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 36, 1049-1060.
- Kurz, A., Sessler, D., Lenhardt, R. (1996). Perioperative normothermia to reduce the incidence of surgical wound infection and shorten hospitalization. *The New England Journal of Medicine* 334, 1209-1215.
- Magee, C., Rodeheaver, G.T., Golden, G.T., Fox, J., Edgerton, M.T., Edlich, R.F. (1976). Potentiation of wound infection by surgical drains. *The American Journal of Surgery* 131, 547-549.
- Mishriki, S.F., Law, D.J.W., Jeffery, P.J. (1990). Factors affecting the incidence of postoperative wound infection. *Journal of Hospital Infection* 16, 223-230.
- Nelson, L.L. (2011). Surgical site infections in small animal surgery. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 41, 1041-1056.
- Nicoll, C., Singh, A., Weese, J.S. (2014). Economic impact of tibial plateau leveling osteotomy surgical site infections in dogs. *Veterinary Surgery* 43, 899-902.
- Ohge, H., Takesue, Y., Yokoyama, T., Murakami, Y., Hiya-ma, E., Yokoyama, Y., Kanehiro, T., Itaha, H., Matsuura, Y. (1999). An additional dose of cefazolin for intraoperative prophylaxis. *The Japanese Journal of Surgery* 29, 1233-1236.
- Polk, H.C., Christmas, A.B. (2000). Prophylactic antibiotics in surgery and surgical wound infections. *The American Surgeon* 66, 105-111.
- Pratesi, A., Moores, A.P., Downes, C., Grierson, J., Maddox, T.W. (2015). Efficacy of postoperative antimicrobial use for clean orthopedic implant surgery in dogs: a prospective randomized study in 100 consecutive cases. *Veterinary Surgery* 44, 653-660.
- Prospero, E., Barbadoro, P., Marigliano, A., Martini, E., D'errico, M.M. (2011). Perioperative antibiotic prophylaxis: improved compliance and impact on infection rates. *Epidemiology and Infection* 139, 1326-1331.
- Remedies, A. (1999). Complications of wound healing. In: Fowler, D., Williams, J.M. (editors). *Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction*. First edition, BSAVA, Cheltenham, United Kingdom, pp. 137.
- Rosenberg, A.D., Wambold, D., Kraemer, L., Begley-Keys, M., Zuckerman, S.L., Singh, N., Cohen, M.M., Bennett, M.V. (2008). Ensuring appropriate timing of antimicrobial prophylaxis. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 90, 226-232.
- Salkind, A.R., Rao, K.C. (2011). Antibiotic prophylaxis to prevent surgical site infections. *American Family Physician* 83, 587-590.
- Sessler, D.I. (2006). Non-pharmacologic prevention of surgical wound infection. *Anesthesiology Clinics* 24, 279-297.
- Stull, J.W., Weese, J.S. (2015). Hospital-associated infections in small animal practice. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 45, 217-233.
- Tourmousoglou, C.E., Yiannakopoulou, E.C., Kalapothaki, V., Bramis, J., Papadopoulos, J.S. (2008). Adherence to guidelines for antibiotic prophylaxis in general surgery: a critical appraisal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61, 214-218.
- Turk, R., Singh, A., Weese, J.S. (2015). Prospective surgical site infection surveillance. *Veterinary Surgery* 44, 2-8.
- Vasseur, P.B., Levy, J., Dowd, E., Eliot, J. (1988). Surgical wound infection rates in dogs and cats. *Veterinary Surgery* 17, 60-64.
- Verwilghen, D., Singh, A. (2015). Fighting surgical site infections in small animals: are we getting anywhere? *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 45, 243-276.
- Vince, K.J., Lascelles, B.D.X., Mathews, K.G., Altier, C., Roe, S.C. (2008). Evaluation of wraps covering the distal aspect of pelvic limbs for prevention of bacterial strike-through in an *ex vivo* canine model. *Veterinary Surgery* 37, 406-411.
- Waddell, T.K., Rotstein, O.D. (1994). Antimicrobial prophylaxis in surgery. *Canadian Medical Association Journal* 151, 925-931.
- Walker, M., Singh, A., Nazarali, A., Gibson, T.W.G., Rousseau, J., Weese, J.S. (2016). Evaluation of the impact of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* biofilm formation on antimicrobial susceptibility. *Veterinary Surgery* 45, 968-971.
- Weber, W.P., Marti, W.R., Zwahlen, M., Misteli, H., Rosenthal, R., Reck, S., Fueglistaler, P., Bolli, M., Trampuz, A., Oertli, D., Widmer, A.F. (2008). The timing of surgical antimicrobial prophylaxis. *Annals of Surgery* 247, 918-926.
- Weed, H.G. (2003). Antimicrobial prophylaxis in the surgical patient. *The Medical Clinics of North America* 87, 59-75.

- Willard, M.D., Schulz, K.S. (2012). Surgical infections and antibiotic selection. In: Fossum, T.W. (editor). *Small Animal Surgery*. Fourth edition, Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 84-94.
- Wong-Beringer, A., Corelli, R.L., Schrock, T.R., Guglielmo, J. (1995). Influence of timing of antibiotic administration on tissue concentrations during surgery. *The American Journal of Surgery* 169, 379-381.
- Yap, F.W., Calvo, I., Smith, K.D., Parkin, T. (2015). Perioperative risk factors for surgical site infection in tibial tuberosity advancement: 224 stifles. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 3, 199-206.
- Zanetti, G., Giardina, R., Platt, R. (2001). Intraoperative re-dosing of cefazolin and risk for surgical site infection in cardiac surgery. *Emerging Infectious Diseases* 7, 828-831.
- Zelenitsky, S.A., Ariano, R.E., Harding, G.K.M., Silvermann, R.E. (2002). Antibiotic pharmacodynamics in surgical prophylaxis: an association between intraoperative antibiotic concentrations and efficacy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46, 3026-3030.

EXIT TESTUDO GRAECA

Eind mei werd besloten dat Basjes
 Winterslaap lang genoeg geduurd had.
 We groeven hem uit, veegden de aarde
 Van zijn grijze schild, schudden hem wat,
 Maar kregen hem niet wakker. Waarna
 We hem van aldoor groter hoogte plat
 Op het zeil lieten vallen, telkens
 Iets luider, waarna in het vuilnisvat.

Hendrik van Teylingen
 Amsterdam 1973

Necrotizing eosinophilic dermatitis in three dogs

Necrotiserende eosinofiele dermatitis bij drie honden

¹J. Declercq, ²G. Vercauteren

¹Small Animal Practice Jan Declercq, Poortersstraat 16-18, B-8510 Marke, Belgium

²Vet-Path bvba, Kruisken 9, B-9991 Adegem, Belgium

jan.declercq@dierenarts-janddeclercq.be

ABSTRACT

In this paper, necrotizing eosinophilic dermatitis with an acute onset and a rapidly progressive clinical course is reported in three dogs. Early skin lesions were characterized by intensely pruritic, erythematous and firm intact papules and plaques. The lesions enlarged and evolved quickly into coalescing nodular target shaped lesions with central exudation, ulceration and necrosis. The lesion distribution pattern was mainly the neck and the dorsolateral trunk. Oral involvement was observed in one dog. The histopathology was characterized by eosinophilic dermatitis and panniculitis targeting dermal and subcutaneous blood vessels with secondary involvement of hair follicles. While causation remained unproven in these cases, a hypersensitivity reaction to medications or other foreign antigens was suspected.

SAMENVATTING

In dit artikel wordt bij drie honden necrotiserende eosinofiele dermatitis beschreven met een acuut ontstaan en snel verloop. De eerste huidletsels werden gekenmerkt door intens jeukende erythemateuze en stevig aanvoelende intacte papels en plaques. De letsels werden snel groter en evolueerden tot samenvloeiende targetoïde nodulen met centrale exsudatie, ulceratie en necrose. De letsels kwamen hoofdzakelijk voor op de hals en op de dorsolaterale romp. Eén hond vertoonde ook orale letsels. Het histopathologisch beeld toonde in de drie gevallen eosinofiele dermatitis en panniculitis gericht op de dermale en subcutane bloedvaten met secundaire aantasting van de haarfollikels. Een overgevoeligheidsreactie op medicatie of op andere lichaamsvreemde antigenen kunnen mogelijk de oorzaak zijn geweest.

INTRODUCTION

Eosinophilic dermatitis in the dog is a reaction pattern of the skin and has been reported in a few clinical entities. The most common condition is eosinophilic furunculosis of the face (Gross, 1992; Curtis et al., 1995; White et al., 1995; Guaguère et al., 1996; Gross et al., 2005). It has a peracute onset with a rapidly fulminating course. Initial lesions are variably pruritic and later on painful. The lesions consist of hemorrhagic papules and pustules, as well as edematous nodules that ulcerate and crust. They develop predominantly on the face. The histopathology reveals a folliculocentric eosinophilic inflammation. Eosinophils infiltrate the hair follicle wall and accumulate both intramurally and intraluminally. Explosive follicular rupture is characteristic (furuncu-

losis). Eosinophilic degranulation may focus around collagen fibers (flame figures). Severe dermal edema and dermal mucin deposition are frequently observed (Gross, 1992; Yager et al., 1994; Gross et al., 2005). Fibrinoid necrotizing vasculitis is rarely seen (Yager et al., 1994). The pathogenesis probably involves an acute hypersensitivity response to arthropod venom (particularly hymenoptera and spiders).

Canine cutaneous eosinophilic granulomas are relatively rare, present often solitary or in limited numbers and are characterized by nodules or plaques (Gross et al., 2005). The histopathology is identical to the feline eosinophilic granuloma, with eosinophils and granulomatous inflammation around eosinophilic-debris coated collagen. The proposed etiopathogenesis is a hypersensitivity reaction to insect bites, environmental or food allergens.

Canine eosinophilic dermatitis with edema, i.e. Wells'-like syndrome, is characterized by an acute onset of an intense erythematous maculopapular eruption, which is most pronounced on the ventral abdomen. Marked regional edema (facial, pinnae, hocks) also occurs in some cases. The histopathology is characterized by a marked eosinophilic inflammation, collagen flame figures and dermal edema. Hair follicles are not involved. More than 50% of the dogs reported developed the condition following treatment for severe gastrointestinal disease, and a causal drug association is proposed (Mauldin et al., 2006).

Dermatophytosis may occasionally have marked, eosinophil-predominated, folliculocentric inflammation associated with free hair and keratin in the dermis. Multifocal kerions may be considered in the differential diagnosis for nodular skin lesions with an eosinophilic infiltrate (Yager et al., 1994; Gross et al., 2005; Declercq et al., 2011), in addition to foreign body reactions and neoplasms.

The purpose of this paper is to report the occurrence of distinctive eosinophilic dermatitis in three dogs.



Figure 1. Right flank of the German shepherd dog in case one. The surrounding hair was clipped to enhance visibility. The picture illustrates an intermediate skin lesion that was characterized by a large, well-demarcated, erythematous plaque with central yellowish exudation and erosion.



Figure 2. Oral cavity of the German shepherd dog in case one. Note the presence of an ulcerated plaque on the labial mucosa and a nodule with central ulceration on the right margin of the tongue.

CASE DESCRIPTIONS

Case 1

A three-and-a-half-year-old, intact, female German shepherd dog was presented with a weight bearing right forelimb lameness of a ten-days' duration. Physical examination revealed a moderately swollen and painful carpus. The radiograph of the joint did not reveal additional abnormalities. The dog was treated with a fourteen-day course of meloxicam oral suspension (Metacam, Boehringer Ingelheim, Ingelheim/Rhein, Germany) 0.1 mg/kg once daily with instructions for limited exercise on a leash. The dog was re-examined five days later, because it had suddenly developed severe pruritus that was associated with the presence of skin lesions. Before presentation, the patient had monthly preventive treatment against fleas. Physical examination revealed a pruritic dog with multifocal skin disease. Few but large lesions (7 cm in diameter) were present on the dorsolateral trunk, on the lumbosacral region, at the dorsal base of the tail and at the right lateral stifle. Two small lesions were seen in the oral cavity. Skin lesions were large, well-demarcated, erythematous and pruritic plaques with central yellowish exudation and erosion. The lesions could be easily mistaken for pyotraumatic dermatitis, i.e. 'hot spot' (Figure 1). The lesion on the tail had progressed to a more nodular shaped lesion with a central necrosis (eschar). Oral lesions consisted of an ulcerated plaque on the right labial mucosa and an ulcerated nodule on the right margin of the tongue (Figure 2). Coat brushings and skin scrapings were performed to rule out ectoparasitic diseases. By microscopic examination of collected skin debris, the presence of fleas or other ectoparasites could not be detected. Cytologic examination of a surface touch imprint revealed a purulent septic inflammation with phagocytized coc-shaped bacteria. Based upon the history of drug administration prior to the onset of the skin lesions, a cutaneous adverse drug reaction to meloxicam was now considered most likely. Skin biopsy specimens were taken from truncal lesions; the histopathological findings are described below. While awaiting the skin biopsy results, the owner was instructed to discontinue the meloxicam therapy. The dog received oral carprofen (Rimadyl, Zoetis, Louvain-la-Neuve, Belgium) 2 mg/kg twice daily and oral cephalexin (Keforal, Eurocept Pharmaceuticals, Ankeveen, the Netherlands) 20 mg/kg twice daily, based upon the presence of a bacterial infection. Dramatic resolution of the pruritus and the disappearance of the lesions occurred during the fourteen days following discontinuation of meloxicam. Oral carprofen and cephalexin treatment was continued for another week. The dog has remained clinically normal for many years following the cessation of the meloxicam administration.

Case 2

A fifteen-and-a-half-year-old, castrated, male Yorkshire terrier was admitted for large bowel diarrhea of



Figure 3. Ventrolateral position of the neck of the Yorkshire terrier in case two. The coat was clipped to enhance visibility. Note coalescing erythematous intact papular lesions (early lesions) and nodules with central exudation and ulceration (late lesions).

two-days' duration. On presentation, the patient was bright, alert and in fair body condition. General physical examination was unremarkable. The most likely differential diagnosis was felt to be dietary indiscretion. The dog was treated with a subcutaneous injection of dexamethasone (Rapidexon, Dechra, Lille, Belgium) at 0.1 mg/kg and with oral spiramycin-metronidazole (Stomorgyl, Merial, Diegem, Belgium) according to the instructions on the packing leaflet. The dog was re-examined eight days later because it had suddenly developed severe pruritus that was limited to the ventral neck. Dermatologic examination revealed severe dermatitis that involved the ventrolateral neck. The skin condition was characterized by coalescing erythematous and exudative papules and nodules (Figure 3). Two larger nodular lesions had a cavitated ulceration in the center (Figure 4). Cytologic examination of the lesions by fine-needle sampling showed numerous eosinophils and some neutrophils. Skin biopsies were obtained. The histopathological results are described below.

The proposed treatment included the discontinuation of the spiramycin-metronidazole treatment based on the possibility of a cutaneous adverse drug reaction, and an oral treatment with prednisolone. However, further treatment was declined and the owner requested euthanasia.

Case 3

A three-and-a-half-year-old, intact, female French bulldog with a history of atopic dermatitis was presented for recurrence of allergic dermatitis. The dog was treated with a subcutaneous injection of triamcinolone (Kenacort-A, Bristol-Myers Squibb, Brussels, Belgium) at 0.15 mg/kg and with a fifteen-day course of oral amoxicillin-clavulanate (Clavobay, Bayer, Diegem, Belgium) at 15 mg/kg twice daily. At the end of the oral treatment, the owner had noted a swelling of the left pinna. The dog was admitted for a second opinion. Physical examination revealed a



Figure 4. Ventrolateral position of the neck of the Yorkshire terrier in case two. The picture illustrates a typical late lesion, i.e. a nodule with cavitated ulceration in the center.

large left-sided aural hematoma associated with otitis externa. Cytologic examination of stained samples taken from the ear canal showed *Malassezia* spp and coc-shaped bacteria. Topical ear treatment was initiated with an antimicrobial (marbofloxacin), antifungal (clotrimazole) and anti-inflammatory preparation (dexamethasone) (Aurizon, Vétuquinol, Aartselaar, Belgium). The aural hematoma was treated one week later by surgical drainage and tacking polypropylene sutures (Prolene, Johnson & Johnson, Dilbeek, Belgium). Seven days post-surgery, the dog was re-presented with an acute onset of intensely pruritic skin lesions. The owner had observed the first lesion on the left lateral thigh. On dermatological examination, lesions were mainly present on the entire neck and on the dorsolateral trunk. The face, pinnae, ventral abdomen and feet were not involved. The post-surgical healing of the left pinna was satisfactory. Early skin lesions consisted of erythematous firm papules and nodules. Intermediate skin lesions were coalescing nodules with central yellowish exudation, erosion and ulceration (Figure 5). Late skin lesions had a necrotic center with eschar formation (black adherent crust). In some areas, focal skin necrosis had resulted in dehiscence of unaffected skin (Figure 6). Fine-needle biopsy samples were taken from early and intermediate skin lesions. Cytological examination revealed a pyogranulomatous inflammation with numerous eosinophils but no bacteria. The clinical differential diagnoses included drug reaction and cutaneous vasculopathy/vasculitis. The rapidly progressive clinical course of the condition did not allow to await the results of the histopathological examination of the skin biopsies taken from early and intermediate lesions. These results are described below. The dog received oral prednisolone (Prednisolone, Kela Laboratories, Sint-Niklaas, Belgium) at 1.5 mg/kg once daily for two weeks. A rapid clinical response was observed and the stitches on the left pinna were removed. The treatment was then reduced to alternate days at the same dosage for another two weeks. At that time, the



Figure 5. Early lesions (lateral trunk) and intermediate lesions (lateral neck) in the French bulldog in case three. The pictures illustrate lesion progression. Early lesions were erythematous and firm intact papules and nodules. Coalescing intermediate lesions were nodules with central exudation, erosion and ulceration.



Figure 6. Dorsal position of the neck and trunk of the French bulldog in case three. The picture was taken in a late stage of the condition. Late lesions were characterized by nodules with necrotic centers and eschar formation (black adherent crusting). Note the dehiscence of focal necrotic skin of unaffected skin.

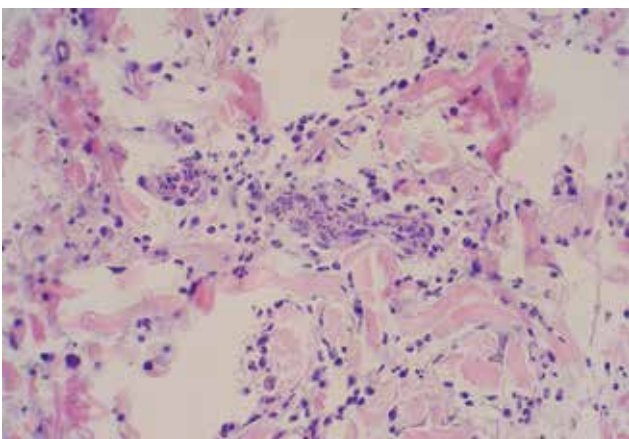


Figure 7. Vascular lesions of the German shepherd dog in case one. A smaller dermal blood vessel with thickening of the vessel wall due to infiltration of eosinophils and endothelial cell swelling. Within the vascular wall as well as in the perivascular tissue, there is mild fibrin deposition. The perivascular tissue is infiltrated with eosinophils, lymphocytes, plasma cells and histiocytes. Hematoxylin and eosin stain 400x.

lesions had completely resolved and the dosage was reduced to 1 mg/kg every other day for a final ten days. During the subsequent three years, there was no recurrence of the skin condition.

HISTOPATHOLOGICAL RESULTS

In all three cases, histopathology revealed an eosinophilic vasculitis with ischemic tissue damage and eosinophilic to mixed perivascular to interstitial dermatitis and panniculitis. Vascular lesions involved small, medium-sized and larger dermal and subcutaneous blood vessels (Figures 7, 8, 9). They consisted of swelling of the endothelial cells, mural infiltration of mainly eosinophils, fibrinoid change (fibrinoid deposits in or fibrinoid necrosis of the affected vessel walls) and intraluminal fibrin thrombi. Leucocytoclasia was, if present, minimal. In case two, several thrombi were infiltrated with young fibroblasts (early organization).

The surrounding, dermal and subcutaneous tissue was frequently edematous with multifocal fibrin exudation and sometimes microhemorrhage (Figure 7). Also, several areas of pallor of dermal collagen were found (Figure 8). In cases two and three, early fibroblast proliferation also occurred in the surrounding tissue. Vascular inflammation extended perivascularly where it admixed with lymphocytes, plasma cells, neutrophils and histiocytes (Figures 7, 8, 9). In case three, eosinophilic inflammation was associated with flame figure formation.

The overlying epidermis was multifocally, and in case two, almost diffusely necrotic with crusting and sometimes ulceration (Figure 10). In case one, there was focal superficial bacterial pustulation. Ischemic necrosis extended in the superficial dermis and also frequently involved hair follicle infundibula. In case two, ischemic necrosis extended in the mid-dermis to the level of the follicular isthmus. The wall and lumen of the follicles were sometimes infiltrated with eosinophils and neutrophils. In case three, there was associated follicular mucinosis. The deeper portions

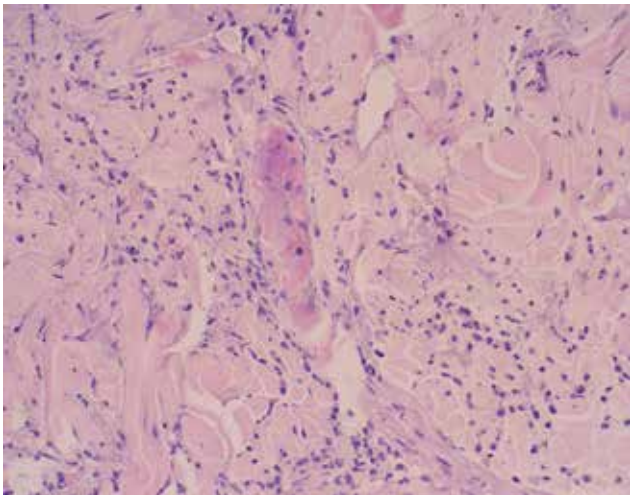


Figure 8. Vascular lesions of the German shepherd dog in case one. A smaller dermal blood vessel showing thrombosis. In the perivascular tissue, there is edema, multifocal pallor of the collagen and infiltration of eosinophils, lymphocytes, plasma cells and histiocytes. Hematoxylin and eosin stain 400x.

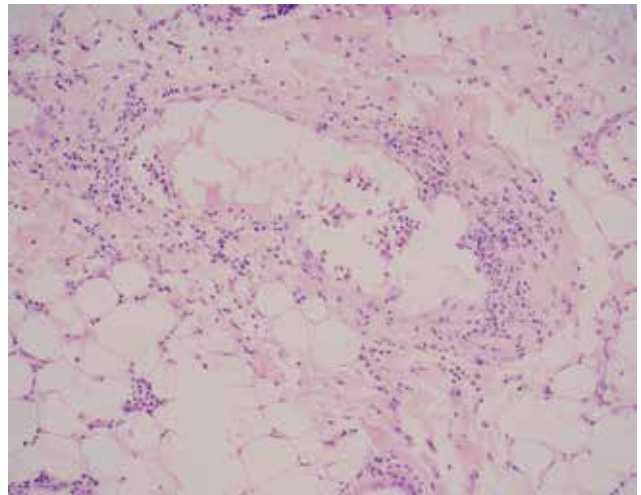


Figure 9. Vascular lesions of the Yorkshire terrier in case two. A larger subcutaneous blood vessel with mural infiltration of eosinophils and multifocal endothelial cell swelling. Very early fibrin clot in the vessel lumen. The perivascular tissue is infiltrated with eosinophils, lymphocytes, plasma cells and histiocytes. Hematoxylin and eosin stain 200x.

of the hair follicles as well as the remaining vital follicles showed frequent moderate to severe atrophy (Figure 10).

The necrotic tissue as well as the underlying intact tissue were variably infiltrated with neutrophils and eosinophils. In areas with necrosis of the overlying epidermis, the dermal infiltrate was more severe and diffuse and consisted of neutrophils variably admixed with plasma cells and fewer lymphocytes and histiocytes. In case two, the dermal inflammation underlying the necrotic tissue created a dense band-like infiltrate at the junction necrotic-vital tissue (Figure 10).

DISCUSSION

The three cases presented in this paper were selected on the base of similar clinical and histopathologic features. All dogs had an intensely pruritic eosinophilic skin condition characterized by an acute onset and rapidly progressive clinical course. Early lesions were characterized by erythematous and firm papules and plaques that progressed to nodular lesions with central yellowish exudation, ulceration and necrosis. These morphologic aspects indicated vascular involvement in the pathogenesis of this condition. The lesion distribution pattern was predominantly the neck and the dorsolateral trunk. Oral involvement was present in one dog. The face and the ventral surfaces of abdomen and thorax were not involved in any of the dogs. The condition in the three dogs had a varying disease severity and extensiveness. The dog in case one had a multifocal condition with a few lesions. The dog in case two had a regional condition with coalescing lesions that remained limited to the ventrolateral neck. The dog in case three had a more extensive and se-

vere condition that involved larger parts of the body. None of the present cases satisfied the clinical criteria (pruritus severity score, morphologic aspects of the lesions, lesion distribution pattern) of the reported eosinophilic conditions in dogs (eosinophilic furunculosis of the face, cutaneous eosinophilic granuloma, canine Well's-like syndrome).

The histopathological features were similar in the three dogs and were characterized by eosinophilic

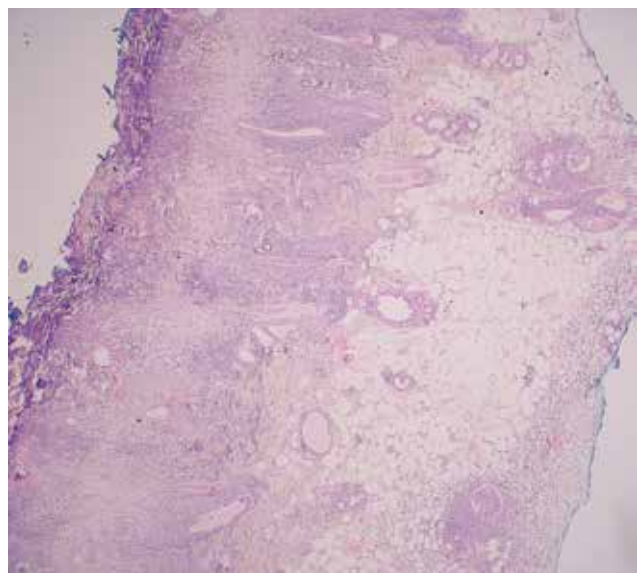


Figure 10. Affected skin of the Yorkshire terrier in case two. The epidermis, superficial dermis and superficial hair follicles are diffusely necrotic with crusting. Residual follicular structures are atrophic. The necrotic tissue is separated from the underlying vital tissue by a band-like inflammatory infiltrate. Even at low magnification, intravascular thrombi are apparent in the subcutaneous blood vessels. Hematoxylin and eosin stain 40x.

dermatitis and panniculitis targeting primarily dermal and subcutaneous blood vessels with secondary involvement of hair follicles. Prominent vascular lesions (eosinophilic vasculitis) and associated ischemic damage (epidermal, superficial dermal and follicular necrosis; pallor of the dermal collagen, follicular atrophy) have not been seen in other reported eosinophilic conditions in dogs.

Proving a cause-and-effect relationship in the present cases is difficult and speculative. The patient in case one had suddenly developed intensely pruritic skin lesions five days after receiving oral meloxicam. It was not known if the dog had previously received treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs of the oxicam-type. Withdrawal of the drug and treatment with cephalexin resulted in a dramatic resolution of pruritus with disappearance of the lesions within fourteen days. The close temporal relationship with the administration and discontinuation of the drug suggested a drug-induced causation. A cutaneous adverse drug reaction occurs seven to ten days after the first administration of the drug and most adverse drug reactions resolve within two weeks after removal of the suspected agent (Scott and Miller, 1999). The probability of a cutaneous adverse drug reaction by applying the Naranjo Probability Scale was estimated as probable.

The cause of the disease in the dog in case two, one week after being treated for diarrhea with oral spiramycin-metronidazole and with a subcutaneous injection of dexamethasone is not clear. Severe eosinophilic dermatitis, resembling Wells' syndrome mostly following treatment for gastrointestinal disease, which may have causal drug association (metronidazole), has been reported in dogs (Mauldin et al., 2006). Canine Wells'-like syndrome, i.e. eosinophilic dermatitis with edema, may be moderately pruritic. The lesions consisted of erythematous maculae and plaques located predominantly on the ventral surfaces of the abdomen and thorax. The histopathology was characterized by eosinophilic dermatitis and edema without follicular involvement. Mild vascular lesions have been reported but were never severe enough to suggest a primary vasculitis. The clinicopathological aspects of the condition in patient 2 were quite different. However, triggering of its condition by the administered spiramycin-metronidazole cannot be completely discarded.

The dog in case three had been exposed to various medications immediately prior to lesion development and had an ear surgery with non-absorbable suture material. Triggering by the administered drugs or by a tissue reaction involving non-absorbable suture material may be considered as possible inciting causes. The resolution of an atypical case of pemphigus foliaceus following removal of monofilament nylon suture material from the abdominal wall has been reported in a dog (Bell, 2001).

Response to treatment information was only available for cases one and three. Case one was treated

by withdrawal of meloxicam and received instead carprofen for its initial forelimb lameness combined with cephalexin based upon the presence of a secondary bacterial infection. Case three had a rapid clinical response to oral prednisolone at 1.5 mg/kg.

In summary, in this paper, distinctive eosinophilic dermatitis is documented in three dogs with clinical and histopathological evidence of prominent vascular involvement in its pathogenesis. While causation remained unproven, a hypersensitivity reaction to drugs or other foreign antigens was suspected.

REFERENCES

- Bell A.G. (2001). Atypical pemphigus in a Weimaraner resolves following removal of monofilament nylon suture material. In: *Proceedings of 16th Annual AAVD and ACVD Meeting*, Norfolk, Virginia.
- Curtis C.F., Bond R., Blunden A.S. et al. (1995). Canine eosinophilic folliculitis and furunculosis in three cases. *Journal of Small Animal Practice* 36, 119-123.
- Declercq J., Walder E.J. (2011). Eosinophilic Folliculitis and Furunculosis. In: *Proceedings of 25th Annual Congress of the ESVD-ECVD*. Brussels, Belgium, p. 108-109.
- Gross T.L. (1992). Canine eosinophilic furunculosis of the face. In: P.J. Ihrke, Mason I.S., White S.D. (editors). *Advances in Veterinary Dermatology*. Volume 2, Pergamon Press, Oxford, p. 239-246.
- Gross T.L., Ihrke P.J., Walder E.J., Affolter V.K. (2005). Eosinophilic furunculosis of the face. In: Gross T.L., Ihrke P.J., Walder E.J., Affolter V.K. (editors). *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis*. Second edition, Blackwell Publishing, Oxford, p. 450-453.
- Gross T.L., Ihrke P.J., Walder E.J., Affolter V.K. (2005). Kerion. In: Gross T.L., Ihrke P.J., Walder E.J., Affolter V.K. (editors). *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis*. Second edition, Blackwell Publishing, Oxford, p. 440-442.
- Gross T.L., Ihrke P.J., Walder E.J., Affolter V.K. (2005). Canine eosinophilic granuloma. In: Gross T.L., Ihrke P.J., Walder E.J., Affolter V.K. (editors). *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis*. Second edition, Blackwell Publishing, Oxford, p. 358-360.
- Guaguère E., Prélaud P., Peyronnet L. (1996). Furonculose éosinophilique chez le chien: étude retrospective de 12 cas. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 31, 413-419.
- Mauldin E.A., Palmeiro B.S., Goldschmidt M.H., Morris D.O. (2006). Comparison of clinical history and dermatologic findings in 29 dogs with severe eosinophilic dermatitis: a retrospective analysis. *Veterinary Dermatology* 17, 338-347.
- Scott D.W., Miller W.H. (1999). Idiosyncratic cutaneous adverse drug reactions in the dog: literature review and report of 101 cases. *Canine Practice* 24, 16-22.
- White S.D., Bourdeau P. (1995). Hypersensibilités aux piqûres de diptères chez les carnivores. *Le Point Vétérinaire* 27, 203-206.
- Yager J.A., Wilcock B.P. (1994). Eosinophilic folliculitis and furunculosis. In: Yager J.A., Wilcock B.P. (editors). *Color Atlas and Text of Surgical Pathology of the Dog and Cat*. Volume 1, Wolfe Publishing, London, p.192-194.

Problemen omtrent partus en neonatale sterfte bij raskatten: een studie bij Vlaamse fokkers

*Problems on parturition and neonatal mortality in Flemish pedigree cats:
a questionnaire-based study*

J. De Moor, A. Van Soom, E. Wydooghe

Vakgroep Verloskunde, Voortplanting en Bedrijfsdiergeneeskunde,
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

Jana.Demoor@Ugent.be

SAMENVATTING

Hoewel het fokken met raskatten aan populariteit wint, zijn weinig wetenschappelijke gegevens beschikbaar omtrent de partus en de problemen die hierbij kunnen optreden. In verschillende studies werd aangetoond dat kittensterfte bij fokkers varieert van 15 tot 40%. Aan de hand van een enquête bij fokkers werden in deze studie gegevens over 151 nesten verzameld van zes populaire rassen in Vlaanderen. De gemiddelde drachtduur bedroeg $65,1 \pm 2,64$ dagen. De gemiddelde nestgrootte bedroeg $4,5 \pm 1,73$ kittens. Kattinnen ouder dan vier jaar hadden een significant kleinere nestgrootte ($3,6 \pm 1,48$ kittens) dan katten jonger dan vier jaar ($4,8 \pm 1,71$ kittens) ($P = 0,001$). Bij 8,5% van de nesten werd bij de katin een keizersnede uitgevoerd. Congenitale afwijkingen werden gerapporteerd bij 6,8% van de nesten. Het totale sterftepercentage tot de speenleeftijd bedroeg in de voorliggende studie 21,4%. Bij een kleinere nestgrootte (1-3 kittens: 12,2%), evenals bij grotere nesten (6-9 kittens: 7,3%) werd een significant hoger aantal doodgeboorten vastgesteld dan bij nesten van vier (4,8%) of vijf kittens (3,5%) ($P = 0,016$).

ABSTRACT

Although breeding pedigree cats is increasingly popular, there is still a lack of scientific data about parturition and the problems that might occur. The incidence of kitten mortality varies between 15 and 40%. In this study, information was collected by means of a questionnaire on six popular breeds in Flanders. Information from 151 litters was obtained. An average gestation length of 65.1 ± 2.64 days and an average litter size of 4.5 ± 1.73 kittens were extracted from the questionnaire. The litter size in cats older than four years old was found to be significantly smaller (3.6 ± 1.48 kittens) than in younger cats (4.8 ± 1.71 kittens) ($P = 0.001$). A caesarean section was performed in 8.5% of the litters. On average, in 6.8% of the litters, a congenital defect in one or more kittens was reported. A mortality rate of 21.4% was observed from birth until weaning. A significant higher rate of stillbirths was observed in small (1-3 kittens: 12.2%) and in large litter sizes (6-9 kittens: 7.3%) than in litters of four (4.8%) or five (3.5%) kittens ($P = 0.016$).

INLEIDING

Kittensterfte vóór de speenleeftijd komt zeer vaak voor bij raskatten en kan variëren tussen 15 en 40% gedurende de eerste twaalf levensweken. Het hoogste sterftepercentage wordt gezien bij de geboorte en tijdens de eerste levensweek (Hoskins, 2001; Lawler en Monti, 1984; Davidson, 2014). In een studie van Roth (1987) werd 10,2% doodgeboren, 15,2% stierf binnen

de week en 27,1% van de kittens bereikte de leeftijd van één jaar niet. In een andere grote studie bij raskatten was het gemiddelde sterftcijfer 34,5% gerekend vanaf de geboorte tot de leeftijd van één jaar. Vanaf de geboorte tot vóór de speenleeftijd varieerde het sterftcijfer van 15 tot 27% (Bücheler, 1999). Vaak is de oorzaak moeilijk te achterhalen en wordt geen diagnose gesteld omdat er slechts vage symptomen optreden. Er kan echter een onderscheid gemaakt worden

tussen niet-infectieuze en infectieuze oorzaken van kittensterfte. Niet-infectieuze oorzaken worden vaak beschreven bij sterfte die optreedt tijdens de eerste levensweek (Bücheler, 1999; Meade, 2014). Naast dystokie behoren neonatale iso-erythrolyse en congenitale of genetische afwijkingen tot de niet-infectieuze oorzaken van kittensterfte. Een laag geboortegewicht of immature kittens, problemen bij het moederdier, zoals nutritionele factoren en omgevingsfactoren, zijn eveneens voorbeelden van niet-infectieuze oorzaken van kittensterfte (Bücheler, 1999; Francois et al., 2006). Infectieuze oorzaken treden voornamelijk op bij kittens rond de periode van drie tot vier weken ouderdom (Bücheler, 1999). Hierbij kan een onderscheid gemaakt worden tussen virale, bacteriële en parasitaire oorzaken, waarbij virale infecties het vaakst beschreven worden als oorzaak van infectieuze problemen en sterfte bij kittens. Bacteriële en parasitaire infecties zijn zeker niet onbelangrijk en kunnen in extreme gevallen eveneens sterfte tot gevolg hebben (Bücheler, 1999; Hoskins, 2001; Meade, 2014).

Ondanks deze hoge sterftecijfers is er weinig wetenschappelijke informatie beschikbaar omtrent de oorzaken van deze sterfte en de eventuele problemen die kunnen optreden tijdens de partus en neonatale ontwikkeling (Musters et al., 2011). Bovendien zijn er weinig studies uitgevoerd omtrent de normale partus. Nochtans wordt het fokken van raskatten steeds populairder en is het zowel voor dierenartsen als voor eigenaars van cattery's belangrijk om referentiewaarden te hebben betreffende de normale reproductieve parameters.

Het doel van deze studie was om via een vragenlijst, gestuurd naar fokkers in Vlaanderen, gegevens te verzamelen omtrent de partus bij raskatten en sterfte vanaf de geboorte tot de speenleeftijd en deze te vergelijken met gegevens uit andere landen. Er werd ook getracht om significante ras- of leeftijdsverschillen op te sporen.

MATERIAAL EN METHODEN

Selectie van de fokkers

Via een begeleidende e-mail werden fokkers van zes populaire rassen in Vlaanderen bereikt. In totaal werden 359 fokkers gecontacteerd waarvan 171 Britse korthaar-fokkers, 46 ragdoll-fokkers, 59 maine coon-fokkers, 42 pers-fokkers, 22 siamees-fokkers en 19 Scottish-fold-fokkers over heel Vlaanderen. Er werd gevraagd om via een vragenlijst informatie door te geven over nesten geboren in 2017. Zowel nesten zonder problemen als nesten met kittensterfte werden opgenomen in de studie. Per geboren nest werd gevraagd om een aparte vragenlijst in te vullen.

De vragenlijst

De vragenlijst werd opgemaakt via Google For-

mulieren en bestond uit twintig gesloten vragen met telkens verschillende antwoordmogelijkheden. De eigenaars konden slechts één antwoord per vraag doorgeven of hadden de mogelijkheid om 'ander antwoord' te kiezen en zelf een antwoord te formuleren. In de eerste reeks vragen werd naar algemene informatie over de katin en de kater gevraagd, zoals het ras, de leeftijd, de bloedgroep van zowel kater als katin en de pariteit van de katin. Ook werd nagegaan of de katin bij vorige nesten reeds een keizersnede had ondergaan. In het tweede deel van de vragenlijst werd meer informatie over het desbetreffende nest verzameld. Hierbij werd gevraagd naar drachtduur, nestgrootte en kittensterfte in het aangegeven nest. De kittensterfte werd opgedeeld in verschillende periodes, namelijk doodgeboorte, sterfte binnen de 48 uur, sterfte tijdens de eerste levensweek en/of sterfte tot aan de speenleeftijd, waarbij telkens het aantal gestorven kittens kon aangegeven worden in de betreffende periode. Als laatste werd gevraagd naar de speenleeftijd en welke melk de kittens hadden gekregen.

Analyse van de data

De statistische verwerking gebeurde via het programma SPSS. Continu-variabelen werden geanalyseerd met behulp van een ANOVA-test, terwijl voor de categorisch-variabelen de chi-square-test werd toegepast.

De data worden weergegeven als het gemiddelde \pm standaarddeviatie of als percentage. Verschillen waarbij de P-waarde kleiner is dan 0,05 worden als significant beschouwd.

RESULTATEN

Algemene informatie

De enquête werd 151 keer ingevuld: 64 enquêtes werden voor Britse korthaar ingevuld, 33 voor maine coon, 33 voor ragdoll, 10 voor pers, 6 voor siamees en 5 voor Scottish fold. In totaal werd over 679 kittens informatie verzameld: 280 Britse korthaar-kittens, 160 maine coon-kittens, 157 ragdoll-kittens, 36 kittens bij de pers, 28 kittens bij de siamees en 18 bij de Scottish fold. In Tabel 1 wordt een samenvatting weergegeven van de rasspecifieke data die verzameld werden gedurende deze studie.

De gemiddelde leeftijd van alle kattinnen die deelnamen aan de studie was $2,8 \pm 1,83$ jaar. De jongste katin in de studie was jonger dan één jaar en de oudste katin acht jaar. Er werd geen significant verschil tussen de verschillende rassen opgemerkt. Van de deelnemende kattinnen in deze studie had 65,6% reeds eerder een nest gehad met een gemiddelde van $1,4 \pm 1,54$ nesten. Ook hier werd geen significant verschil tussen de verschillende rassen opgemerkt. Bij pluripare katten bleek 9,1% in het verleden een keizersnede te hebben ondergaan.

Tabel 1. Samenvatting van de data weergegeven per ras.

Ras	Totaal aantal enquêtes/kattinnen	Totaal aantal kittens	Gemiddelde leeftijd van de kattin	Gemiddeld % primipare kattinnen	Gemiddelde drachtduur (# kittens)	Gemiddelde nestgrootte	Gemiddeld % keizersneden kittens	Gemiddeld % doodgeboren 48 uur	Gemiddeld % kattensterfte 48 uur	Gemiddeld % kattensterfte speen-week 1	Gemiddeld % kattensterfte leeftijd
Britse korthaar	64	280	2,9	35,9	65,7	4,4	9,4	6,8	4,3	2,9	0,7
Maine coon	33	160	2,8	33,3	65,1	4,8	6,1	6,9	6,9	3,8	2,5
Ragdoll	33	157	2,3	36,4	64,3	4,8	3	7	7,6	12,1	5,1
Pers	10	36	3,2	39	64,8	3,6	3	5,6	11,1	16,7	2,8
Siamees	6	28	3	16,7	65,3	4,7	16,7	3,6	10,7	10,7	3,6
Scottish fold	5	18	2,6	40	63,3	3,6	0	0	0	0	0
Totaal	151	679									
Gemiddelde ± SD			2,8 ± 1,83	34,4	65,1 ± 2,64	4,5 ± 1,73	8,6	6,5	6,2	6,2	2,4
Range			<1-8	0-100	52-70	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100

SD = standaard deviatie

Drachtduur

Het overgrote deel van de fokkers (83%) telt de lengte van de dracht vanaf de eerste dag dat de kattin bij de kater gezet wordt; in de overige gevallen wordt geteld vanaf de tweede of derde dag. Voor deze laatste werd de doorgegeven drachtduur gecorrigeerd, zodat de gemiddelde drachtduur geteld vanaf de eerste dag bij de kater $65,1 \pm 2,64$ dagen bedroeg (Figuur 1). De gemiddelde drachtduur tussen de rassen onderling varieerde van 63,3 dagen tot 65,8 dagen, maar een significant rasverschil werd niet opgemerkt. De kortste drachtduur in deze studie bedroeg 52 dagen bij één nest van een maine coon-kat en de langste drachtduur bedroeg 70 dagen bij drie nesten, namelijk bij een ragdoll, pers en een Britse korthaar. Er was geen effect van leeftijd, noch van nestgrootte op de drachtduur in deze studie.

Nestgrootte

De gemiddelde nestgrootte bij de 151 nesten in deze studie bedroeg $4,5 \pm 1,73$ kittens met een variatie van 1 tot 9 kittens en was gelijkaardig voor alle rassen (Figuur 2). Wanneer de leeftijd van de kattin in beschouwing wordt genomen, werd een significant verschil tussen de nestgrootte vastgesteld bij katten ouder dan vier jaar, die een kleinere nestgrootte hadden ($3,6 \pm 1,48$ kittens) dan bij jongere katten ($4,8 \pm 1,71$ kittens) ($P = 0,001$) (Figuur 3). De primipare kattinnen hadden een gemiddelde nestgrootte van $4,6 \pm 1,94$ kittens en bij de niet-primipare kattinnen was de gemiddelde nestgrootte $4,4 \pm 1,61$ kittens.

Geslachtsratio

Het aandeel mannelijke kittens ($n = 372$, 56%) was hoger dan het aandeel vrouwelijke kittens ($n = 291$, 44%). Bij drie van de 151 nesten werd het geslacht van de kittens niet doorgegeven.

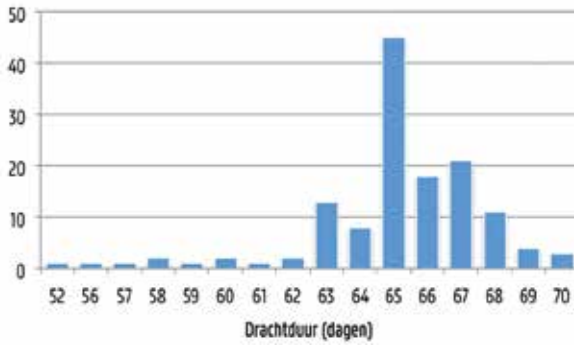
Spenen

De overgrote meerderheid van de kittens (51,7%) werd vóór de leeftijd van acht weken gespeend (75/145). Bij 76% (114/150) van de nesten werden de kittens grootgebracht met moedermelk. Opvallend is dat 23,3% (35/150) van de nesten werd bijgevoerd met commerciële melk. In twee gevallen werd poedermelk bijgegeven tijdens een hittegolf om zo de moeder te ontlasten; in twee andere nesten werd extra poedermelk bijgegeven aan bepaalde kittens wegens een lager geboortegewicht dan de nestgenoten. Geitenmelk werd in één nest gebruikt om de kittens bij te voederen naast de moedermelk. Slechts in één nest (0,7%) werden de kittens volledig met de hand grootgebracht met commerciële melk aangezien de melkproductie bij de kattin niet op gang kwam.

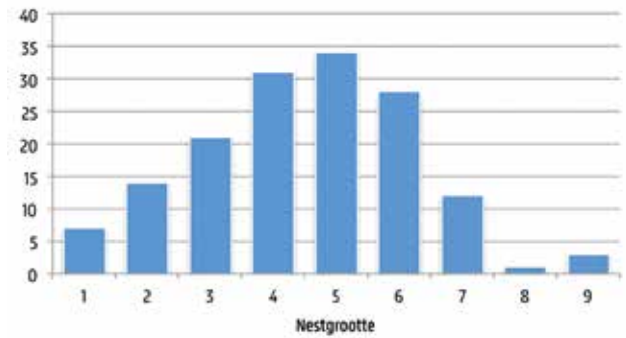
Keizersnede

Voor het nest geboren in 2017 werd gevraagd of er een keizersnede werd uitgevoerd. Bij 8,6% (13/151) van de kattinnen werden één of meer kittens via een keizersnede geboren. Er werd geen significant verschil tussen de rassen onderling gevonden en de nestgrootte had evenmin een invloed. Daarentegen kon een trend van meer keizersneden opgemerkt worden bij een stijgende leeftijd van de katten: bij kattinnen ouder dan vier jaar onderging 17,5% een keizersnede, terwijl slechts 5,4% van de kattinnen jonger dan vier jaar een keizersnede had ondergaan ($P = 0,058$) (Figuur 4).

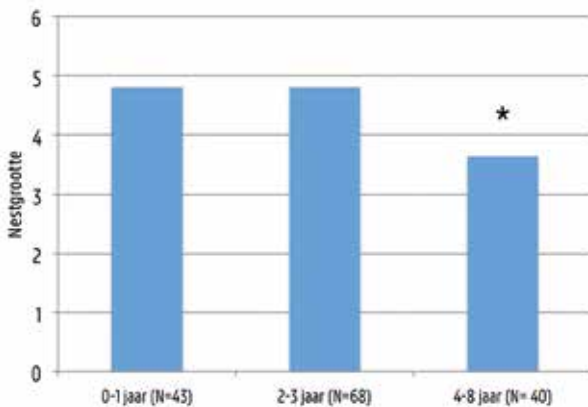
Van de dertien nesten die via een keizersnede geboren werden, werden vier keizersneden vooraf gepland (30,8% electieve keizersneden), terwijl de andere negen keizersneden uitgevoerd werden door problemen tijdens de partus (69,2% spoedkeizersneden). Meer electieve keizersneden werden uitgevoerd bij katten ouder dan vier jaar, namelijk 85,7% in vergelijking met 0% bij katten jonger dan vier jaar ($P = 0,008$).



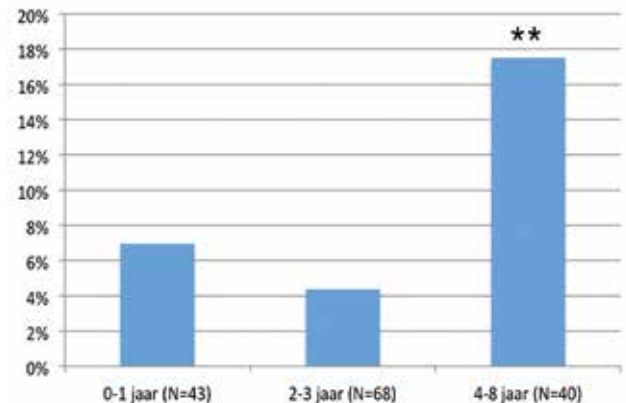
Figuur 1. De gemiddelde drachtduur in dagen (x-as) uitgedrukt ten opzichte van het aantal katten (y-as).



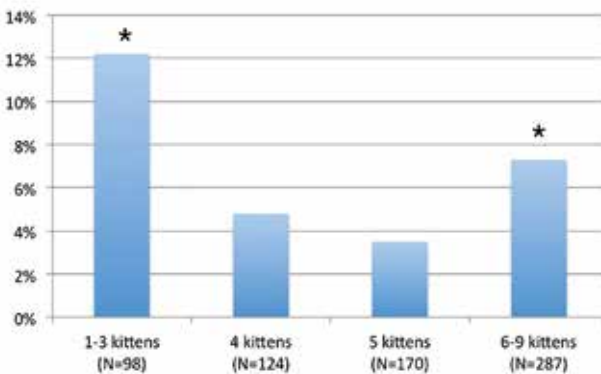
Figuur 2. Verdeling van de nestgrootte weergegeven in aantal kittens (x-as) ten opzichte van het aantal katten (y-as).



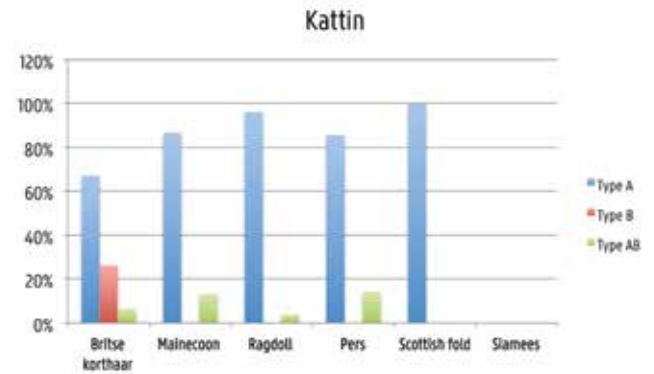
Figuur 3. Nestgrootte weergegeven in functie van de leeftijd van de katin met N = aantal kattinnen. Significante verschillen ($P < 0,05$) worden aangegeven met een asterisk.



Figuur 4. Percentage keizersneden weergegeven in functie van de leeftijd van de katin. De geobserveerde trend ($P = 0,058$) wordt aangegeven met een dubbele asterisk.



Figuur 5. Percentage doodgeboren kittens in functie van de nestgrootte. Significante verschillen ($P < 0,05$) worden aangegeven met een asterisk.



Figuur 6. Verdeling van de verschillende bloedgroepen bij de katin (x-as) procentueel voorgesteld (y-as).

Het totale sterftepercentage van kittens afkomstig van kattinnen, waarbij een keizersnede werd uitgevoerd, bedroeg 39,1%.

Congenitale afwijkingen

Macroscopische anatomische afwijkingen bij één of meer kittens werden bij 6,8% van de 146 nesten gerapporteerd. Bij vijf nesten werd deze vraag niet

ingevuld. De anatomische afwijkingen die gespecificeerd werden, waren hernia umbilicalis, atresia ani, gespleten gehemelte en cryptorchidie. Er werden geen significante verschillen tussen rassen of leeftijden van de kattinnen waargenomen. Ook had de nestgrootte geen invloed op het voorkomen van congenitale afwijkingen. Er werd in deze studie niet gevraagd naar het aantal kittens per nest met een anatomische afwijking.

Kittensterfte

Het totale sterftepercentage bij kittens bedroeg in deze studie 21,4% (145/679) gerekend vanaf de geboorte tot aan de speenleeftijd. Dit sterftepercentage werd onderverdeeld in vier perioden: 1) doodgeboorte, 2) kittensterfte binnen 48 uur, 3) kittensterfte binnen de eerste levensweek en 4) kittensterfte tot aan de speenleeftijd (\pm 8 weken).

In deze studie werd 6,6% (45/679) van de kittens doodgeboren. Als het aantal doodgeboorten per nestgrootte bekeken wordt, is er een significant verschil: er werd een hoger aantal doodgeboorten geconstateerd bij kleinere nestgroottes (1-3 kittens: 12,2%) en grote nesten (6-9 kittens: 7,3%) dan bij nesten met vier (4,8%) of vijf kittens (3,5%) ($P = 0,016$) (Figuur 5). Daarnaast stierf 6,2% (42/679) van de kittens binnen de eerste 48 uur, 6,2% (42/679) vanaf 48 uur tot de eerste levensweek en vanaf de eerste levensweek tot aan de speenleeftijd bedroeg het sterftepercentage 2,4% (16/679). Er werden geen significante verschillen opgemerkt wanneer de kittensterfte tussen rassen of tussen verschillende leeftijden van de katten vergelijken werd.

Bloedgroepen

In deze studie werd ook naar de bloedgroep gevraagd van zowel kater als katin. Deze kan fenotypisch bestaan uit bloedgroep A, die het meest voorkomt, en bloedgroep B. Daarnaast bestaat er ook een derde, zeldzame bloedgroep AB. Genetisch worden de bloedgroepen A en B bepaald door allel A en b, waarbij allel A dominant is over b. Genotypisch kan een kat met bloedgroep A of AB ook drager zijn van het b-allel. Bij de 233 katten (zowel katers als katten), waarbij de bloedgroep bekend was, had 74,2% bloedgroep A, 17,6% bloedgroep B en slechts 8,2% bloedgroep AB. AB-kattinnen kwamen voor bij de Britse korthaar (6,6%: 4/61), ragdoll (3,8%: 1/26), maine coon (13,3%: 2/15) en pers (14,3%: 1/7). In dit onderzoek waren de katten met bloedgroep type A bij alle rassen het meest vertegenwoordigd. Bij de populatie siamezen in deze studie was voor geen enkel nest de bloedgroep van de ouderdieren bekend.

Bij de Britse korthaar-kattinnen werd het grootste aantal type B-katten gevonden (26,2%: 16/61), terwijl bij de andere rassen geen type B-kattinnen werden opgegeven (Figuur 6). Bij vijf nesten van Britse korthaar-kattinnen werd de combinatie van een B-katin x A-kater of AB-kater gemaakt. De kittens met bloedgroep A, die geboren worden uit deze combinatie, lopen een risico op neonatale iso-erythrolyse door de opname van colostrum met anti-A antistoffen, die in hoge concentraties aanwezig zijn bij B-katten en een sterke hemolyserende werking hebben. Bij deze combinatie is het noodzakelijk om de kittens gedurende de eerste 24 uur weg te houden van de moederpoes om de opname van colostrum te verhinderen (Snoeck et al., 2013). In 24,5% (37/151) van de gevallen werd de

bloedgroep niet ingevuld of was ze onbekend, waardoor ook deze kittens een groter risico liepen op neonatale iso-erythrolyse.

DISCUSSIE

Het doel van deze studie was om referentiewaarden te verzamelen omtrent de dracht en partus bij raskatten alsook omtrent kittensterfte zodat deze parameters kunnen vergeleken worden met resultaten van eerdere, Europese studies. In de voorliggende studie kon het responspercentage niet bepaald worden aangezien de enquête volledig anoniem is verlopen en eigenaars meerdere formulieren konden invullen indien er in 2017 meerdere nesten bij hen werden geboren. Het nadeel van een enquête is dat enkel gemotiveerde fokkers deelnemen, waardoor dit de resultaten kan beïnvloeden. Daarnaast willen niet alle fokkers deze informatie delen en dit kan ook een reden zijn waarom sommige vragen niet werden ingevuld.

De gemiddelde drachtduur in deze studie is vergelijkbaar met de drachtduur in een studie van Jemmett en Evans (1977), Sparkes et al. (2006) en van Musters et al. (2011). Net zoals in de studie van Musters et al. (2011) werden in deze studie geen rasverschillen gevonden betreffende de drachtduur; dit in tegenstelling tot Sparkes et al. (2006). In tegenstelling tot deze studie werd in eerdere studies wel een significant langere drachtduur gevonden bij kattinnen met een kleinere nestgrootte (Sparkes et al., 2006, Musters et al., 2011). De gemiddelde nestgrootte in deze studie is vergelijkbaar met de nestgrootte in de studie van Sparkes et al. (2006), Musters et al. (2011) en Fournier et al. (2017), maar in de studie van Ström Holst en Frössling (2009) ligt de gemiddelde nestgrootte iets lager, namelijk $3,7 \pm 1,5$ kittens. De invloed van de pariteit op de nestgrootte werd in de voorliggende studie niet bestudeerd. Een significante invloed van de leeftijd van de katin op de nestgrootte werd gevonden in deze studie; de leeftijdsinvloed werd ook bevestigd in een studie van Johnstone (1987) en Ström Holst en Frössling (2009). Rasverschillen voor wat betreft nestgrootte werden niet waargenomen in tegenstelling tot in de studie van Sparkes et al. (2006) en Ström Holst en Frössling (2009). Net zoals in de studie van Musters et al. (2011) waren in deze studie meer mannelijke kittens aanwezig dan vrouwelijke kittens, en het aantal nesten waarbij de katin een keizersnede onderging, was gelijkaardig in de studie van Sparkes et al. (2006) (8,0%) en Ström Holst en Frössling (2009) (7,0%). Rasinvloeden werden hier, net zoals in de studie van Sparkes et al. (2006) en Ström Holst en Frössling (2009), niet gevonden.

Het percentage congenitale afwijkingen lag lager dan de 14,3% congenitale afwijkingen gevonden in de studie van Sparkes et al. (2006); daarbij werd echter niet gevraagd naar het type afwijking. Het sterftepercentage bij kittens in deze studie was beduidend hoger

dan de 15,7% sterfte in de studie van Fournier et al. (2017). Bij 6,6% van de kittens werd doodgeboorte vastgesteld, wat iets lager is dan 8,5% doodgeboorten in de studie van Fournier et al. (2017). Sparkes et al. (2006) vonden net zoals in deze studie dat het grootste aandeel sterften vóór de leeftijd van één week voorkomen. Er werd een hoger aantal doodgeboorten geconstateerd bij kleinere nestgroottes (1-3 kittens: 12,2%) en grote nesten (6-9 kittens: 7,3%) dan bij nesten met vier (4,8%) of vijf kittens (3,5%). De verdeling van de bloedgroepen was gelijkaardig in andere studies met voornamelijk een hoger percentage type B-kattinnen bij de Britse korthaar dan bij andere rassen (Meade, 2014). Echter, in deze studie werd niet nader gevraagd of de gerapporteerde bloedgroep bepaald werd via serologie of via een DNA-test. Via serologie kan een onderscheid gemaakt worden tussen de drie bloedgroepen A, B en AB, maar het is niet bekend of de katten met bloedgroep A of AB drager zijn van het allel b. Via genetische testen wordt in de meeste gevallen enkel een onderscheid gemaakt tussen bloedgroep A of AB enerzijds en bloedgroep B anderzijds. Bij de katten met bloedgroep A of AB wordt ook onderzocht of zij al dan niet drager zijn van het allel b. Recent werd echter een genetische test ontwikkeld die ook verder een onderscheid kan maken tussen bloedgroep A en AB (Kehl et al., 2018).

CONCLUSIE

Als conclusie kan gesteld worden dat de resultaten van deze studie meer inzicht verschaffen in de parameters omtrent het fokken van raskatten in Vlaanderen en kunnen helpen om meer referentiewaarden te genereren van de dracht en partus evenals neonatale sterfte bij kittens. Het hoge sterftecijfer van 21,4% in deze studie mag zeker niet onderschat worden en in de toekomst zou meer diagnostisch onderzoek moeten gebeuren om een betere kennis te verwerven van de mogelijke oorzaken van deze sterfte. De resultaten uit deze studie kunnen tevens gebruikt worden om een grotere bewustwording bij fokkers te bekomen omtrent bloedgroepbepaling, opvolging van de dracht en postnatale opvolging van de kittens. Problemen bij kittens zouden hierdoor sneller opgemerkt kunnen worden, waardoor tijdig een diagnose en behandeling kunnen ingesteld worden.

REFERENTIES

Bücheler J. (1999). Fading kitten syndrome and neonatal isoerythrolysis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 29, 853-870.

Davidson A.P. (2014). Neonatal resuscitation: Improving the outcome. *Veterinary Clinician Small Animal* 44, 191-204.

Fournier A., Masson M., Corbière F., Mila H., Mariani C., Grellet A., Chastant-Maillard S. (2017). Epidemiological analysis of reproductive performances and kitten mortality rates in 5,303 purebred queens of 45 different breeds and 28,065 kittens in France. *Reproduction in Domestic Animals* 52, 153-157.

Francois B., Rijsselaere T., Van Soom A. (2006). Niet-infectieuze oorzaken van neonatale problemen en sterfte bij kittens. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 75, 439-449.

Hoskins J.D. (2001). Puppy and kitten losses. In: Hoskins J.D. (editor). *Veterinary Pediatrics: Dogs and Cats from Birth to Six Months*. Third edition, Saunders Elsevier, Philadelphia, USA, p. 57-61.

Jemmett J.E., Evans J.M. (1977). A survey of sexual behaviour and reproduction of female cats. *Journal of Small Animal Practice* 18, 31-37.

Johnstone I. (1987). Reproductive patterns of pedigree cats. *Australian Veterinary Journal* 64, 197-200.

Kehl A., Heimberger K., Langbein-Detsch I., Boehmer S., Raj K., Mueller E., Giger U. (2018). Molecular characterization of blood type A, B, and C (AB) in domestic cats and a CMAH genotyping scheme. *PLoS one*, 13, e0204287.

Lawler D.F., Monti K.L. (1984). Morbidity and mortality in neonatal kittens. *American Journal of Veterinary Research* 45, 1455-1459.

Meade C. (2014). Fading syndrome in kittens. *In Practice* 36, 266-276.

Musters J., de Gier J., Kooistra H.S., Okkens A.C. (2011). Questionnaire-based survey of parturition in the queen. *Theriogenology* 75, 1596-1601.

Roth J.A. (1987). Possible association of thymus dysfunction with fading syndromes in puppies and kittens. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 17, 603-616.

Silvestre-Ferreira A.C., Pastor J. (2010). Feline neonatal isoerythrolysis and the importance of feline blood types. *Veterinary Medicine International*, Article ID 753726.

Snoeck F., Rijsselaere T., Van Soom A. (2013). Neonatale iso-erythrolyse bij de kat. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 82, 337-344.

Sparkes A.H., Rogers K., Henley W.E., Gunn-Moore D.A., May J.M., Gruffydd-Jones T.J., Bessant C. (2006). A questionnaire-based study of gestation, parturition and neonatal mortality in pedigree breeding cats in the UK. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 8, 145-157.

Ström Holst B., Frössling J. (2009). The Swedish breeding cat: population description, infectious diseases and reproductive performance evaluated by a questionnaire. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11, 793-802.

Allergie bij de hond: een bevraging van dierenartsen en eigenaars over de toestand in Vlaanderen

*Allergy in dogs:
a survey of veterinarians and owners on the situation in Flanders*

C. Depessemier, E. Cox, M. Pelst

Vakgroep Parasitologie, Virologie en Immunologie; Laboratorium voor Immunologie
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Eric.Cox@UGent.be

SAMENVATTING

De laatste decennia is de prevalentie van allergieën in de humane geneeskunde toegenomen. Bij gezelschapsdieren wordt een gelijkaardige trend vermoed. Er is echter weinig bekend over de mate van voorkomen van allergieën bij de hond in Vlaanderen. In de voorliggende studie werden dierenartsen en eigenaars via een enquête bevraged over de vijf meest voorkomende types allergie, i.e. atopie, vlooiënallergie, voedselallergie, contactallergie en allergie voor medicatie en injecties. De door dierenartsen geschatte mediane prevalentie was respectievelijk 15%, 10%, 5%, 2% en 1%. Er werden enkele opvallende verschillen waargenomen met de literatuur. Eigenaars vermeldden een bloedtest als meest gebruikte test voor de diagnose van voedselallergie. Leven in een stedelijke omgeving kon niet in verband worden gebracht met een verhoogd risico op allergie en 11% van de dierenartsen meldde waspoeder als contactallergeen. Meer dan de helft van de dierenartsen meent dat het aantal allergische honden in de loop van zijn/haar carrière is toegenomen.

ABSTRACT

In human medicine, the prevalence of allergies has increased during the last decades. A similar tendency is suspected in small animal veterinary medicine. Unfortunately, only little information is available about the prevalence of allergies in dogs in Flanders. In this study, veterinarians and owners were asked about the five most common types of allergy, i.e. atopy, flea allergy, food allergy, contact allergy and allergy to medication and injections. The median prevalence, estimated by the veterinarians, was respectively 15%, 10%, 5%, 2% and 1%. Some remarkable differences with the literature were noticed. A blood test was mentioned by the owners as the most frequently used test to diagnose food allergies. Living in an urban environment could not be linked with an increased risk to develop allergies, and 11% of the veterinarians reported washing-powder as a contact allergen. In the opinion of more than half of the veterinarians, the number of dogs with an allergy has increased during his/her career.

INTRODUCTIE

Er zijn slechts beperkte gegevens bekend over de prevalentie van allergieën bij de hond. Deze gegevens zijn gelimiteerd tot een zekere geografische regio en daarbij zijn er sterke verschillen in prevalentie afhankelijk van het land waar de gegevens verzameld werden. Zo wordt in een Canadese studie vermeld dat 4,7% van de onderzochte honden met een huidaan-

doening een voedselallergie had (Scott en Paradis, 1990), terwijl dit in een Italiaanse studie 12% was (Proverbio et al., 2010). In een studie uit de Verenigde Staten vertoonde 3,1% van de honden atopie (Lund et al., 1999), terwijl dit 10-15% was in een Australische studie (Mazrier et al., 2016). Bij een groep honden die symptomen van vlooiëninfectie en -allergie vertoonden, bleek in een Britse studie 3 tot 36% ook effectief een vlooiënallergie te hebben (Bond et al., 2007). Van

alle honden met dermatologische symptomen bleek in een Canadese studie 2,5% een contactallergie te hebben (Scott en Paradis, 1990).

Voor Vlaanderen zijn er geen cijfers bekend. In de meeste studies werd bovendien slechts een bepaalde subgroep van de hondenpopulatie bestudeerd, waardoor de bekomen resultaten vaak een vrij brede spreiding hebben en sterk variëren tussen de verschillende subgroepen. Waar bijvoorbeeld bij 1 tot 2% van alle honden die bij een dierenarts worden aangeboden een voedselallergie wordt vastgesteld (Olivry en Mueller, 2017), loopt dit percentage bij een dermatoloog op tot 10-20% (Friedeck, 2011). Van de honden met een allergische huidandoening die effectief een voedselallergie hebben, wijken de resultaten sterk af tussen de verschillende studies. Zo wordt 10% vermeld door Verlinden et al. (2016), terwijl Proverbio et al. (2010) 26% vermelden, en 8-62% wordt vermeld door Olivry en Mueller (2017). Voor atopie wordt in de literatuur een prevalentie van 3,1% van de hondenpopulatie in de Verenigde Staten vermeld (Lund et al., 1999). Voor honden die worden aangeboden op de dienst dermatologie van universitaire klinieken loopt dit percentage in de Verenigde Staten op tot 8% (Hillier en Griffin, 2001), in Canada tot 12,7% (Scott en Paradis, 1990) en zelfs tot 30% van de honden die worden aangeboden bij private dermatologen in de Verenigde Staten (Hillier en Griffin, 2001).

Met behulp van een enquête die werd afgenomen bij Vlaamse dierenartsen kon de prevalentie van de meest voorkomende types allergie bij de hond in Vlaanderen worden ingeschat. Daarnaast werd getracht om potentiële risicofactoren te identificeren aan de hand van de gegevens die aangeleverd werden door de Vlaamse hondeneigenaars en dierenartsen. Per type allergie werd geprobeerd een beeld te vormen van de toestand in Vlaanderen, waarbij ook de meest voorkomende symptomen en de meest gebruikte diagnostische methoden en behandelingen worden besproken.

MATERIALEN EN METHODEN

Om zoveel mogelijk dierenartsen en eigenaars te bereiken, werd een online-enquête opgesteld met behulp van de Curios-module van de Universiteit Gent. Eigenaars van zowel allergische als niet-allergische honden konden deelnemen. De enquête voor de dierenartsen omvatte 41 vragen, die voor de eigenaars bestond uit 49 vragen. Om het invullen van de enquêtes voor de respondenten zo vlot mogelijk te laten verlopen, werden de vragen zo opgesteld dat de meeste antwoorden konden worden aangekruist. Indien toch werd gekozen voor een open vraag, was slechts een kort antwoord vereist. Om de enquêtes te verspreiden, werd via zoveel mogelijk kanalen een oproep gedaan om deel te nemen aan de studie. Zo werden er een website en een Facebookpagina aangemaakt

waar men meer informatie kon terugvinden over de studie. Om eigenaars te bereiken werden hondenclubs en rasverenigingen in Vlaanderen gecontacteerd om de studie te promoten bij hun leden. Ook werd in verschillende tijdschriften, waaronder *Woef*, een artikel gepubliceerd met een korte uitleg over de studie en een link naar de enquête. Om zoveel mogelijk dierenartsen te bereiken, werden de Vlaamse dierenartsverenigingen VDV en IVDB gecontacteerd. Ook op de Facebookpagina van het vakblad *Dierenartsenwereld* werd de studie vermeld en in het *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* werd een oproep tot deelname gepubliceerd.

Voor de statistische verwerking van de resultaten werd gebruik gemaakt van het softwareprogramma R. Om factoren te identificeren die geassocieerd waren met de allergische aandoeningen werd gebruik gemaakt van een logistisch regressiemodel. De nulhypothese werd verworpen indien de bekomen P-waarde kleiner was dan 0,05.

RESULTATEN EN DISCUSSIE

Er werd getracht om over heel Vlaanderen dierenartsen en eigenaars te bereiken en te motiveren deel te nemen aan de studie, maar het invullen van de enquêtes gebeurde op vrijwillige basis. Hierdoor is er mogelijk selectiebias ontstaan, waarbij dierenartsen die meer patiënten met allergie hebben of eigenaars van een hond met allergie sterker gemotiveerd waren om deel te nemen aan de studie. Bij de berekening van de prevalentiecijfers werden enkel de gegevens van dierenartsen gebruikt. Er werd gekozen voor de berekening van de mediaan in plaats van het gemiddelde om beïnvloeding van de resultaten door uitschieters te vermijden.

Het grootste deel van de enquêtes voor dierenartsen werd afgenomen op de vakbeurs Expovet 2017, waardoor er mogelijk een bias is ontstaan. Het grootste deel van de bevroegde dierenartsen kwam uit Oost-Vlaanderen (35,56%), gevolgd door West-Vlaanderen (26,67%), Antwerpen (23,33%), Vlaams-Brabant (13,33%) en Limburg (8,89%). Mocht de prevalentie van allergie hoger liggen in de provincies waaruit meer dierenartsen afkomstig waren en de enquête invulden, dan zou dit de resultaten kunnen hebben beïnvloed en zou foutief kunnen geconcludeerd worden dat de prevalentie in Vlaanderen hoger ligt dan in werkelijkheid het geval is.

Omdat de prevalentiecijfers gebaseerd zijn op een schatting door dierenartsen en bijgevolg mogelijk onderhevig zijn aan “responderbias”, dienen ze met enige voorzichtigheid te worden geïnterpreteerd.

Het verdelen van de enquêtes onder hondeneigenaars gebeurde onder andere via de Vlaamse rasverenigingen. Afhankelijk van de mate waarin de verenigingen de enquête bij hun leden promootten, is het mogelijk dat er een oververtegenwoordiging van

bepaalde rassen is ontstaan. Dit kan vooral de resultaten van de rasprevalentie bij de verschillende types allergie beïnvloed hebben. Bovendien diende er eveneens rekening gehouden te worden met de prevalentie van het ras in Vlaanderen om een correcte inschatting te kunnen maken van het risico per ras. Deze informatie was echter niet ter beschikking, waardoor deze niet kon meegenomen worden in de berekeningen.

Om een meer representatieve steekproef te bekomen, dienen Vlaamse hondeneigenaars en dierenartsen willekeurig uitgeloofd te worden om aan de enquête deel te nemen; dit is in deze studie echter niet gebeurd.

Na het afsluiten van de enquêtes bleek dat 444 eigenaars en 111 dierenartsen de enquête hadden ingevuld. Een deel hiervan diende echter te worden verworpen omwille van volgende redenen: 1. omdat de enquête niet volledig was ingevuld (47 eigenaars, 17 dierenartsen), 2. omdat ze meerdere malen door dezelfde persoon was ingevuld (32 eigenaars, 2 dierenartsen) of 3. omdat men niet in Vlaanderen woonde (31 eigenaars, 2 dierenartsen). Uiteindelijk bleven 334 ingevulde enquêtes van eigenaars over. Binnen deze groep hadden 114 honden een voedselallergie, 120 atopie, 20 vlooiënallergie, 28 contactallergie en 10 honden hadden een allergie voor medicatie of injecties. Tweënnegentig honden hadden geen allergie. Bij de dierenartsen bleven 90 bruikbare ingevulde enquêtes over.

Hieronder wordt een selectie van de meest interessante en opvallende resultaten weergegeven.

Resultaten betreffende voedselallergie: prevalentie, symptomen, allergenen, diagnose, behandeling en rasprevalentie

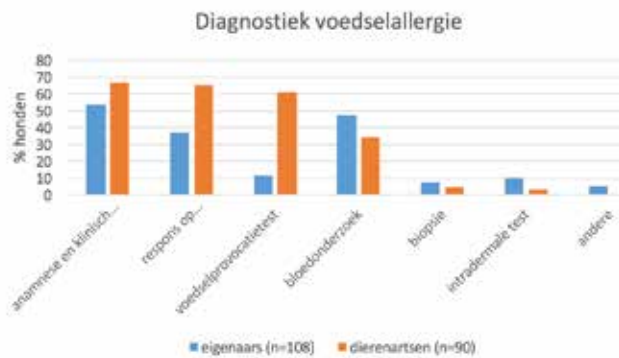
Gebaseerd op een schatting door dierenartsen heeft voedselallergie een mediane prevalentie van 5% van het klantenbestand. In de literatuur wordt een prevalentie vermeld van 1-2% van alle honden die bij een dierenarts worden aangeboden (Olivry en Mueller, 2017). Uit de voorliggende studie blijkt dat de prevalentie in Vlaanderen hoger ligt, met de beperking dat dit cijfer gebaseerd is op een schatting van dierenartsen. Ook het feit dat de diagnose van voedselallergie niet steeds op een correcte manier wordt gesteld (i.e. bloedonderzoek in plaats van eliminatiedieet met hypoallergene voeding en daaropvolgende provocatie), kan ervoor zorgen dat een hond soms valspositief wordt gediagnosticeerd met voedselallergie. Als laatste dient er ook aandacht besteed te worden aan het onderscheid tussen voedselallergie en voedselintolerantie. Deze laatste is, in tegenstelling tot voedselallergie, een reactie op voedingscomponenten van niet-immunologische oorsprong (Jeffers et al., 1991; Wilhelm en Favrot, 2005; Verlinden et al., 2006; Janssens et al., 2016).

Bij het grootste deel van de honden (38,89%) in deze studie werd de voedselallergie gediagnosticeerd voor ze één jaar oud waren, wat overeenkomt

met de literatuur (Picco et al., 2008; Proverbio et al., 2010). Van deze honden vertoonde het grootste deel (61,06%) enkel dermatologische symptomen, waarbij door de eigenaars vooral jeuk werd vermeld (74,34%), gevolgd door erytheem van de huid (54,87%) en otitis (34,51%). Gastro-intestinale klachten bleken minder vaak voor te komen (14,16% van de honden) en omvatten vooral diarree (30,97%). Bij 23,01% van de honden met voedselallergie waren er zowel dermatologische als gastro-intestinale klachten. Deze resultaten correleren met de literatuur, waar jeuk als het meest voorkomende symptoom wordt vermeld (Jeffers et al., 1991; Verlinden et al., 2006; Picco et al., 2008; Friedeck, 2011; Janssens et al., 2016). Het percentage honden met gastro-intestinale klachten was laag en kwam overeen met de resultaten uit de literatuurstudie van Janssens et al. (2016). Daarentegen wordt in de studie van Favrot et al. (2010) een hogere prevalentie vermeld van honden met gastro-intestinale symptomen bij voedselallergie (26,3%). Het lagere percentage in de voorliggende studie kan eventueel verklaard worden doordat een opsplitsing werd gemaakt tussen honden die enkel gastro-intestinale symptomen vertoonden en deze die bijkomend ook dermatologische symptomen hadden. De meest genoemde plaats van jeuk bij voedselallergie was de oren; zowel gerapporteerd door de eigenaars (31,82%) als door de dierenartsen (36,67%). Ook de liezen, poten, buik, oksels en interdigitaal zijn plaatsen waar frequent jeuk wordt gezien. In de literatuur worden deze lokalisaties eveneens vermeld als predilectieplaatsen met bijkomend de kop en perianale regio (Blakemore, 1994; Loeffler et al., 2014; Verlinden et al., 2006; Picco et al., 2008; Friedeck, 2011). Deze laatste twee lokalisaties bleken minder duidelijk uit de voorliggende studie.

De bevraagde dierenartsen stelden het vaakst een voedselallergie vast voor rundereiwit (35,56%) en kippeneiwit (34,44%). De eigenaars gaven eveneens kippen- en rundereiwit (elk 30,28%) aan als meest voorkomende voedselallergenen. Daarnaast werden ook tarwe (26,61%) en zuivelproducten (22,94%) regelmatig vermeld. Wanneer de allergenen die werden gediagnosticeerd na een voedselprovocatie-test in beschouwing worden genomen, bleek dat kippeneiwit (50%), rundereiwit en tarwe (elk 41,67%) frequenter voorkwamen. Indien de diagnose werd gesteld op basis van enkel de bepaling van IgE-gehalten in een bloedonderzoek, bleken rundereiwit (61,29%) en zuivelproducten (41,94%) het frequentst vermeld te worden, gevolgd door tarwe, kippeneiwit (elk 35,48%) en rijst (16,13%). Ook in andere onderzoeken en literatuurstudies worden deze resultaten vermeld (Verlinden et al., 2006; Roudebusch, 2013; Olivry et al., 2017). Het hogere percentage positieve reacties tegenover rundereiwit bij het bloedonderzoek kan mogelijk verklaard worden doordat in veel vaccins rundserumalbumine wordt verwerkt tijdens de productie (Day et al., 2016).

De bevraagde dierenartsen gaven aan dat ze de



Figuur 1. De meest gebruikte diagnostiek bij voedselallergie.

diagnose het vaakst stellen op basis van anamnese en klinisch onderzoek (66,67%), respons op hypoallergene voeding (65,56%) en na een voedselprovocatietest (61,11%) (Figuur 1). De bevraagde eigenaars vermeldden een bloedonderzoek als meest gebruikte diagnostische test (47,22%). In de literatuur wordt echter vermeld dat een betrouwbare diagnose enkel kan worden gesteld na een voedselprovocatietest en dat een bloedonderzoek niet betrouwbaar is (Blakemore, 1994; Jackson, 2001; Wilhelm en Favrot, 2005; Olivry et al., 2009; Friedeck, 2011; Janssens et al., 2016).

De meest gebruikte behandeling bij voedselallergie is het overschakelen naar een hypoallergene voeding, wat meestal een commerciële voeding inhoudt (74,75% eigenaars, 94,44% dierenartsen). Medicamenteuze behandeling met corticosteroiden werd door 31,11% van de dierenartsen vermeld. Behandeling met oclacitinib of immunotherapie werd minder vaak ingesteld (respectievelijk 12,28% en 9,65%). Het overschakelen naar een hypoallergeen dieet is nochtans de enige doeltreffende behandeling. Corticosteroiden zijn niet effectief (Blakemore, 1994; Verlinden et al., 2006; Janssens et al., 2016). Dit bleek ook uit de resultaten van deze studie waar het overschakelen op een hypoallergeen dieet significant betere resultaten opleverde dan andere ingestelde behandelingen ($p=0,03$) (Figuur 2). Bij behandeling met een hypoallergeen dieet meldde bijna 75% van de eigenaars dat de symptomen bij honden met voedselallergie sterk verbeterden. Het overschakelen op een hypoallergeen dieet zou nochtans bij 100% van de honden met effectieve voedselallergie curatief dienen te zijn. Een verklaring voor de mismatch met de bekomen resultaten kan gevonden worden in het feit dat deze vraag enkel door eigenaars beantwoord werd. Uit de resultaten blijkt immers ook dat zij vaak aangeven dat de diagnose werd gesteld op basis van een bloedonderzoek in plaats van na een voedselprovocatietest. Honden die op die manier valspositief gediagnosticeerd werden met een voedselallergie, zullen vanzelfsprekend geen of onvoldoende beterschap hebben vertoond wanneer ze op een hypoallergene voeding werden geplaatst.

De bevraagde dierenartsen vermeldden als meest



Figuur 2. Verbetering van de symptomen bij voedselallergie door de ingestelde behandeling.

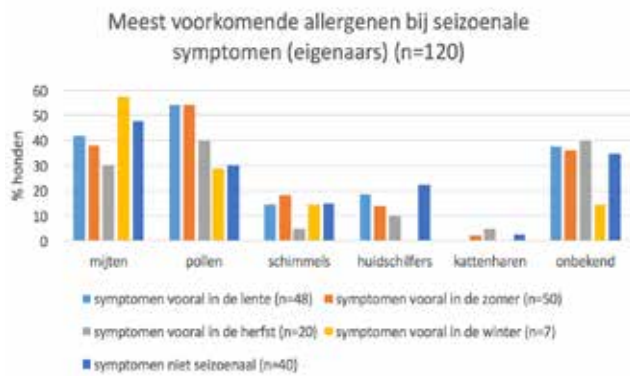
gevoelige rassen voor voedselallergie de labrador-retriever (17,78%) en de Franse bulldog (16,67%). Ook bij de eigenaars bleken deze rassen sterk vertegenwoordigd. De in de literatuur vermelde rassen, waaronder de westhighland-whiteterriër, boxer, Rhodesian ridgeback en de mopshond, kwamen in deze studie niet naar voor (Picco et al., 2008).

Resultaten betreffende atopie: prevalentie, symptomen, allergenen, diagnose, behandeling en ras-predispositie

De mediane prevalentie van atopie was volgens de dierenartsen naar schatting 15% van het klantenbestand. Dit is merkkelijk hoger dan de 3,1% die vermeld wordt in een studie van Lund, et al. (1999), maar sluit wel aan bij de 10-15% in een recente studie van Mazrier et al. (2016).

Bij het grootste deel van de honden (83,33%) werd de atopie gediagnosticeerd vóór de leeftijd van vier jaar, waarvan bij 31,48% van de honden de diagnose plaatsvond vóór de leeftijd van één jaar. Dit komt overeen met de literatuur waarin wordt gesteld dat bij de meeste honden de atopie wordt gediagnosticeerd vóór de leeftijd van drie tot vijf jaar (Zur et al., 2002; Picco et al., 2008; Favrot et al., 2010). Zowel de bevraagde dierenartsen als eigenaars vermeldden jeuk als het meest voorkomende symptoom, gevolgd door erytheem van de huid. De eigenaars vermeldden ook nog herhaaldelijke otitis externa (38,79%) en gistinfecties (26,72%) als bijkomende symptomen. Ook in de literatuur worden jeuk en erytheem als meest typische symptomen vermeld (Olivry et al., 2010; Hensel et al., 2015). Zowel de bevraagde dierenartsen als eigenaars vermeldden de poten, de oren en de buik als predilectieplaatsen van jeuk. Deze bevindingen correleren grotendeels met de literatuur, alhoewel periculaire, perineale en de ventrale zijde van de staart geen predilectieplaatsen bleken te zijn in de huidige studie (Olivry et al., 2010; Hensel et al., 2015).

De meest voorkomende allergenen die in de enquête aangegeven werden, waren pollen van bomen of grassen (43,33% dierenartsen, 43,96% eigenaars) en mijten (33,32% dierenartsen, 43,11% eigenaars).

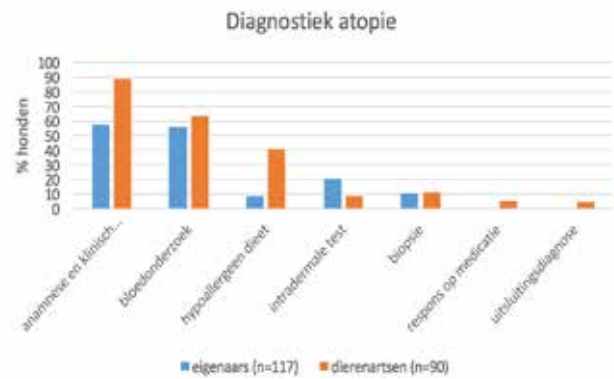


Figuur 3. De meest voorkomende allergenen bij seizoenssymptomen in geval van atopie.

Deze worden ook in de literatuur vermeld, naast huidschilfers, die in deze studie minder vaak voorkwamen (Zur et al., 2002; Tizard, 2013). Bij de meeste honden waren de symptomen seizoensgebonden, met pieken in de lente (41,74%) en in de zomer (46,09%). Bij ongeveer één op drie honden (34,78%) waren de symptomen niet-seizoensgebonden. In deze studie waren de symptomen vaker seizoensgebonden (65,22% van de honden met atopie) vergeleken met de resultaten uit andere studies. Zo wordt vermeld dat in 30-35% (Tarpataki et al., 2006; Picco et al., 2008) tot 62% (Zur et al., 2002) de klachten seizoensgebonden zijn. Wanneer de allergenen per seizoen worden bekeken, dan werden voor de lente en de zomer vooral pollen vermeld (54%), gevolgd door mijten (41,67% in de lente, 38% in de zomer) (Figuur 3). Bij honden waarbij de symptomen vooral in de herfst aanwezig waren, werden ook vooral pollen (40%) en mijten (30%) vermeld, terwijl mijten het vaakst (57,14%) werden aangegeven bij honden waarbij de symptomen vooral in de winter aanwezig waren. Indien de symptomen niet seizoensgebonden waren, werden vooral mijten (47,5%) vermeld. Het feit dat hoofdzakelijk voor de lente en de zomer pollen werden vermeld, is niet te verbazen aangezien het pollenseizoen in onze streken vooral loopt van begin mei tot eind juli (D'amato et al., 2007).

De diagnose wordt het vaakst gesteld op basis van anamnese en klinisch onderzoek (88,89% dierenartsen, 57,26% eigenaars), maar ook een bloedonderzoek wordt vaak gebruikt (63,33% dierenartsen, 55,56% eigenaars) (Figuur 4). Intradermale testen werden vooral door de eigenaars vermeld (20,51%), maar eerder zelden door de dierenartsen (8,89%). In de literatuur wordt aangegeven dat anamnese en klinisch onderzoek zeer belangrijk zijn bij het stellen van de diagnose. Een intradermale test wordt als gouden standaard beschouwd. Bloedonderzoek kan gebruikt worden om allergeen-specifieke IgE-concentraties te meten voorafgaand aan immunotherapie, maar de bepaling van totale IgE-gehalten is niet specifiek (DeBoer en Hillier, 2001; Olivry et al., 2010; Nuttall et al., 2013; Hensel et al., 2015).

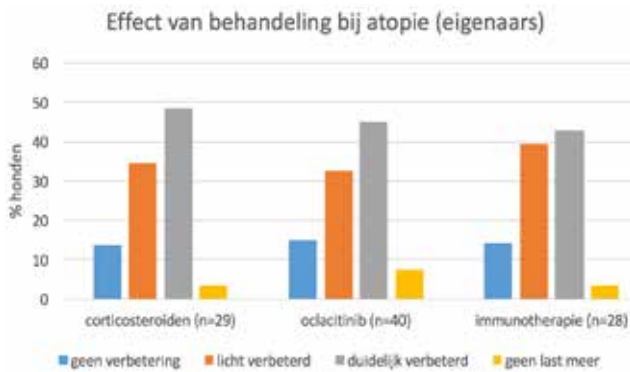
De meest gebruikte behandelingen vermeld door de eigenaars waren oclacitinib, regelmatige ontvlooi-



Figuur 4. De meest gebruikte diagnostiek bij atopie.

ing, shampoos en voedingssupplementen om de huidkwaliteit te verbeteren. De dierenartsen noemden vooral shampoos en voedingssupplementen om de huidkwaliteit te verbeteren, corticosteroïden en oclacitinib. Ook een hypoallergeen dieet en immunotherapie werden regelmatig gebruikt. Uit studies blijkt dat een correcte ontvlooiing en een hypoallergeendieet belangrijk zijn om vlooi- en voedselallergie uit te sluiten; de jeuk kan verlicht worden door onder andere oclacitinib en corticosteroïden (Olivry et al., 2001; Cosgrove et al., 2013; Gonzales et al., 2013). Bij een behandeling met corticosteroïden gaf het grootste deel van de eigenaars (48,28%) aan dat de hond duidelijk minder last had van de allergie, terwijl 34,48% aangaf dat er lichte verbetering was (Figuur 5). Honden die behandeld werden met oclacitinib, vertoonden in 45% van de gevallen duidelijk beterschap en in 32,5% een lichte verbetering. Immunotherapie gaf bij 42,86% duidelijke verbetering en bij 39,29% lichte verbetering. Het feit dat er weinig verschil in effect is tussen een behandeling met oclacitinib en immunotherapie kan mogelijk verklaard worden doordat er bijkomend een bacteriële- of gistinfectie aanwezig was die niet (correct) behandeld werd, waardoor de symptomen aanwezig bleven bij de behandeling met oclacitinib (Zoetis, België). In de literatuur wordt vermeld dat de effectiviteit van immunotherapie bij de behandeling van atopie tussen de 50 en 100% ligt (Griffin en Hillier, 2001). Omdat in de huidige studie een lichte en een duidelijke verbetering bij immunotherapie ongeveer even vaak werden vermeld, kan vermoed worden dat dit de minst effectieve behandeling van de drie is. Om immunotherapie effectief te laten zijn, is er echter een correcte identificatie van de allergenen nodig. Uit de voorgaande gegevens blijkt echter dat dit vaak niet het geval is. Lokivetmab (Zoetis, België) was op het moment van de studie nog maar zeer recent op de markt in België en werd door geen enkele respondent vermeld.

Naar de mening van de bevraagde dierenartsen zijn de Franse bulldog (30% dierenartsen) en de labrador-retriever (25,56% dierenartsen) gepredisponeerd. Deze worden ook genoemd in de literatuur, naast de golden retriever, Duitse herder, Engelse bulldog,



Figuur 5. Effect van de behandeling bij atopie.

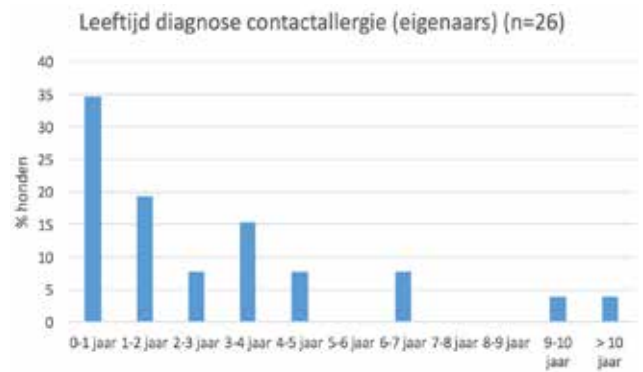
westhighland-whiteterriër en bulteriërs (Saridomichelakis et al., 1999; Zur et al., 2002; Tarpataki et al., 2006; Picco et al., 2008; Nuttall et al., 2013; Tizard, 2013; Mazrier et al., 2016). Deze rassen kwamen ook voor in de voorliggende studie, maar werden minder frequent vermeld.

Resultaten betreffende vlooiënallergie: prevalentie, symptomen, diagnose en behandeling

Volgens de responderende dierenartsen zou 10% van de honden in het klantenbestand aan vlooiënallergie lijden. Dit percentage sluit aan bij de in de literatuur vermelde prevalenties van 3-36% bij honden met symptomen van vlooiëninfectie en 3,4% bij honden met dermatologische symptomen (Scott en Paradis, 1990; Bond et al., 2007).

Bij de meeste honden (27,78%) werd de vlooiënallergie gediagnosticeerd voor ze één jaar oud waren, maar regelmatig werd de diagnose ook pas op latere leeftijd gesteld. Ook in de literatuur wordt er geen leeftijdsprevalentie vermeld. Zowel de eigenaars als dierenartsen vermeldden jeuk en erytheem van de huid als meest voorkomende symptomen. Ook in de literatuur worden jeuk en erythemateuze dermatitis als primaire laesies genoemd (Scheidt, 1988; Souza, 1997; Wilkerson et al., 2004). De dierenartsen en eigenaars waren het erover eens dat de jeuk vooral lumbosacraal gelokaliseerd is (33,33% dierenartsen, 30% eigenaars) en ter hoogte van staart en staartbasis (32,22% dierenartsen, 30% eigenaars). Deze lokaliseringsplaatsen correleren met andere onderzoeken waarin echter ook de flanken, dijen, nek, oorbasis en veralgemeende jeuk vermeld worden (Scheidt, 1988; Souza, 1997; Laffort-Dassot, 2009). Deze plaatsen komen niet naar voor uit de voorliggende studie.

De meest gebruikte diagnostische methoden bleken het aantonen van vlooiën of vlooiënfeces op de hond en anamnese en klinisch onderzoek. Een bloedonderzoek werd weinig gebruikt. Ook in de literatuur wordt vermeld dat het aantonen van vlooiën of vlooiënfeces de meest aangewezen methode is. Serologische tests zijn niet erg betrouwbaar, alhoewel uit deze enquête blijkt dat ze soms gebruikt worden in de prak-



Figuur 6. De leeftijd van de hond waarop contactallergie werd gediagnosticeerd.

tijk (Souza, 1997; Laffort-Dassot, 2009).

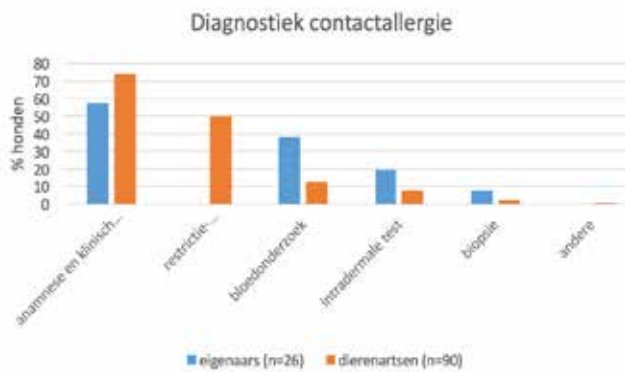
De meest gebruikte behandelingen bleken een goede ontvlooiing en het regelmatig stofzuigen. Het gebruik van corticosteroiden en “insect growth regulators” werd voornamelijk door de dierenartsen vermeld. Ook in de literatuur wordt beschreven dat alle immature en volwassen vlooiën moeten gedood en uit de omgeving verwijderd worden. Corticosteroiden kunnen worden gebruikt om in ernstige gevallen de jeuk te verminderen (Scheidt, 1988; Souza, 1997; Carlotti en Jacobs, 2000; Laffort-Dassot, 2009).

Resultaten betreffende contactallergie: prevalentie, symptomen, allergenen, diagnose en behandeling

Uit de gegevens van de dierenartsen werd voor contactallergie een mediaan van 2% van het klantenbestand bekomen. Dit percentage correleert met andere onderzoeken waarin prevalenties van 2,5% en 1-10% werden vastgesteld (Scott en Paradis, 1990; Ho et al., 2015).

Bij de meeste honden (34,62%) werd de contactallergie reeds tijdens het eerste levensjaar gediagnosticeerd (Figuur 6). Alhoewel in de literatuur vermeld wordt dat contactallergie zelden voorkomt bij honden jonger dan één jaar, werd de diagnose in deze studie vooral bij jonge honden gesteld (Olivry et al., 1990; Ho et al., 2015). De symptomen die het vaakst door de eigenaars en dierenartsen werden vermeld, waren het ontstaan van jeuk en erytheem op de plaats van contact met de stof waarvoor de hond allergisch was. Ook otitis en het ontstaan van papels en plaques kwamen volgens de respondenten regelmatig voor. Deze bevindingen komen grotendeels overeen met de literatuur waar echter ook oedeem wordt vermeld (Olivry et al., 1990; Ho et al., 2015). De jeuk bleek vooral aanwezig op de poten en de buik. Ook ter hoogte van de oksels, oren en hals werd er regelmatig jeuk waargenomen. In andere studies wordt eveneens vermeld dat de jeuk vooral aanwezig is op de minder behaarde lichaamsdelen (Olivry et al., 1990; Ho et al., 2015).

Het grootste deel van de dierenartsen (37,78%) gaf aan dat het allergeen onbekend was. Bij de bekende allergenen werd door 11,11% van de dierenartsen,



Figuur 7. De meest gebruikte diagnostiek bij contactallergie.

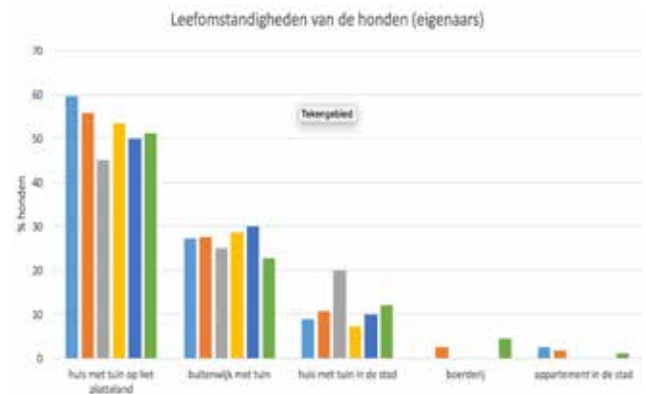
naast grassen (28,89% van de dierenartsen), was poeder vermeld. In de literatuur worden ook shampoos, tapijt, plastic, rubber en metaal genoemd (Day en Shaw, 2008). Deze allergenen werden ook in deze studie vermeld, maar slechts door een heel beperkt aantal dierenartsen. Andere allergenen die in de literatuur worden vernoemd maar niet in deze studie, zijn meubels en leder (Day en Shaw, 2008).

De ondervraagde dierenartsen gaven aan dat ze de diagnose meestal (74,44%) stelden op basis van anamnese en klinisch onderzoek (Figuur 7). Daarnaast gaf 50% van de dierenartsen aan een restrictie-provocatietest te gebruiken, terwijl ze veel minder vaak een bloedonderzoek of intradermale test vermeldden. De bevraagde eigenaars vermeldden vooral anamnese en klinisch onderzoek (57,69%), bloedonderzoek (38,46%) en intradermale tests (19,23%), terwijl een restrictie-provocatietest niet werd vernoemd. Deze resultaten komen grotendeels overeen met de literatuur waar gesteld wordt dat een goede anamnese zeer belangrijk is, maar dat een restrictie-provocatietest of patch-test nodig is om de definitieve diagnose te stellen (Olivry et al., 1990; Ho et al., 2015).

De dierenartsen gaven aan dat ze vooral contact met het allergeen proberen te vermijden (76,67%); ook corticosteroiden werden vaak (65,55%) gebruikt. In de literatuur wordt eveneens aangegeven dat het vermijden van contact met het allergeen de meest effectieve behandeling is. Corticosteroiden kunnen worden gebruikt om in ernstige gevallen de symptomen te milderen. In deze studie gaven zowel de dierenartsen als de eigenaars aan dat immunotherapie en cyclosporinebehandeling soms werden ingesteld; deze zijn echter niet aangewezen bij de behandeling van contactallergie (Ho et al., 2015).

Resultaten betreffende allergie voor medicatie en injecties: prevalentie, symptomen en oorzakelijke agentia

Uit de antwoorden van de dierenartsen werd een mediaan van 1% van de honden in het patiëntenbestand bekomen. Voor zo ver de auteurs bekend, werd



Figuur 8. De percentuele verdeling van de leefomstandigheden per type allergie.

over de prevalentie van allergie voor medicatie en injecties in de literatuur nog niets gerapporteerd.

Uit de enquête bleek deze allergie vaak bij jongvolwassen honden te worden vastgesteld. Ook een eerder onderzoek toonde de allergie vooral bij jonge dieren aan (Goffin, 2000). De meest voorkomende symptomen door de respondenten vernoemd, waren oedeem, erytheem en necrose op de contactplaats; jeuk over het ganse lichaam en jeuk op de contactplaats. Er dient rekening mee gehouden te worden dat de ontstane necrose op de contactplaats naast van allergische oorsprong echter ook een irritatieve reactie kan zijn. Braken en diarree werden vooral door de eigenaars vermeld. Koorts en sufheid werden eveneens genoemd. Deze resultaten correleren met een ander onderzoek waarin ook braken, huidreacties en pruritus worden beschreven (Goffin, 2000).

Door nagenoeg de helft van de dierenartsen werden vaccins vermeld, terwijl dit slechts door 12,5% van de eigenaars werd aangegeven. Sommige dierenartsen vermeldden specifieke vaccins: 11,11% vermeldde een vaccin tegen leptospirose, 3,33% pneumodog en 3,33% noemde een rabiësvaccin. Antibiotica werden vermeld door 25% van de eigenaars en 5,56% van de dierenartsen. Ook spot-on-producten en ontvlooiingsbanden bleken soms een allergische reactie te induceren. Deze resultaten komen grotendeels overeen met de literatuurgegevens waarin eveneens het rabiësvaccin, vaccin tegen leptospirose, penicilline en amoxicilline worden beschreven (Goffin, 2000; Tizard, 2013).

Resultaten betreffende invloed van leefomstandigheden, het simultaan voorkomen van allergieën en de toename van allergische aandoeningen in Vlaanderen

Op basis van de bekomen gegevens van de eigenaars werd er geen significante invloed van leefomstandigheden, i.e. leven in de stad versus op het platteland, het al dan niet beschikken over een tuin, etc. op het ontwikkelen van de bovenstaande types allergie vastgesteld (Figuur 8). Wel bleek dat honden met

vlooiënallergie ongeveer dubbel zo vaak als honden met een van de andere types allergie in een huis met tuin in de stad woonden. De odds ratio hiervoor bedroeg 1,73; dit was echter niet statistisch significant. In deze studie vermeldden de dierenartsen dat ze het vaakst allergieën waarnamen bij honden die in een huis met tuin op het platteland leefden, in een buitenwijk met tuin en in een huis met tuin in de stad. Waar verwacht werd dat atopie eerder zou voorkomen bij honden die in een stedelijke omgeving leven (Meury et al., 2008), bleek uit deze studie dat atopie net vaker voorkwam bij honden die in een huis met tuin op het platteland en in een buitenwijk leefden. Ook in een studie van Favrot et al. (2010) werden vergelijkbare resultaten bekomen. Atopische honden bleken in die studie minder vaak in een stedelijke omgeving te leven dan niet-atopische honden. Uit diezelfde studie bleek ook dat atopie vaker voorkomt bij honden die voornamelijk binnenshuis leven. Ook in de voorliggende enquête werd gevraagd naar de mate van buitenactiviteit van de hond, maar dezelfde conclusies als uit de studie van Favrot et al. (2010) konden niet getrokken worden. De resultaten waren immers zeer gelijklopend bij allergische en niet-allergische honden en er konden geen duidelijke verschillen aangetoond worden. Bij de interpretatie van de resultaten uit de huidige studie dient echter in het achterhoofd te worden gehouden dat er geen rekening werd gehouden met de concentratie aan honden in de verschillende leefomstandigheden.

Eveneens werd nagegaan in hoeverre de hond volgens de eigenaar aan een combinatie van verschillende types allergie leed. Het meest frequent leed de hond aan voedselallergie en atopie (13,75% van alle allergische honden). Dit percentage sluit aan bij de literatuur waar vermeld wordt dat tot één derde van de honden met atopie ook voedselallergie heeft (Hillier en Griffin, 2001). Ook atopie en contactallergie bleken (5% van alle allergische honden) samen voor te komen. Andere types allergie kwamen slechts zelden samen voor.

Het merendeel van de bevraagde dierenartsen meende een toename van allergie te hebben waargenomen over de jaren heen. De meerderheid hiervan (44,44%) gaf aan dat ze een toename hadden vastgesteld gedurende de laatste tien jaar. Een kleiner deel gaf aan een toename te hebben gezien over de laatste twintig (6,67%) of dertig jaar (3,33%) of geen toename te hebben waargenomen (12,22%). Hierover kon door 25,56% van de dierenartsen echter geen uitspraak worden gedaan omdat ze nog niet lang genoeg in de praktijk stonden.

CONCLUSIE

Voor het eerst werden prevalentiecijfers van allergie bij de hond geschat voor Vlaanderen. Daarnaast werd de algemene toestand van allergie bij de hond

in Vlaanderen in kaart gebracht. Alhoewel de resultaten grotendeels overeenstemmen met de literatuur, werden enkele pistes voor verder onderzoek of verbetering gedetecteerd. Vooral op het vlak van diagnostiek en behandeling is er ruimte voor verbetering in de Vlaamse dierenartsenpraktijk. In de toekomst dienen dierenartsen hieraan aandacht te besteden om foutieve diagnoses te vermijden. Vooral de eigenaars vermeldden dat een bloedonderzoek wordt gebruikt bij de diagnose. Mogelijk verzoeken zij de dierenarts hier specifiek om omdat dit vanuit hun standpunt een weinig ingrijpend onderzoek is om de diagnose te stellen bij hun hond. Een andere mogelijke verklaring is dat het opsturen van een bloedstaal naar een laboratorium voor de praktijkdierenarts veel minder arbeidsintensief is dan het uitvoeren van een intradermale of patch-test. Het is echter van belang dat de dierenarts aan de eigenaar duidelijk maakt dat een bloedonderzoek in de diergeneeskunde niet betrouwbaar is voor het stellen van de diagnose van allergie. De dierenarts dient bovendien zelf de keuze te maken betreffende de meest efficiënte diagnostische test. Hij dient zich bij de behandeling eveneens te realiseren dat niet alle medicatie even effectief is voor elk type allergie; er dient steeds een weloverwogen keuze gemaakt te worden om de patiënt zo goed mogelijk en met zo weinig mogelijk neveneffecten te behandelen.

DANKWOORD

De auteurs bedanken Prof. Myriam Hesta voor haar hulp bij het aanleveren van contacten, Hill's Pet Nutrition Benelux om hen toegang tot hun stand te verlenen tijdens Expovet en alle dierenartsen en eigenaars die deelgenomen hebben aan de enquête.

REFERENTIES

- Blakemore, J.C. (1994). Gastrointestinal Allergy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 24, 655-695.
- Bond, R., Riddle, A., Mottram, L., Beugnet, F., Stevenson, R. (2007). Survey of flea infestation in dogs and cats in the United Kingdom during 2005. *Veterinary Record* 160, 503-506.
- Carlotti, D.N., Jacobs, D.E. (2000). Therapy, control and prevention of flea allergy dermatitis in dogs and cats. *Veterinary Dermatology* 11, 83-98.
- Cosgrove, S.B., Wren, J.A., Cleaver, D.M., Martin, D.D., Walsh, K.F., Harfst, J.A., Follis, S.L., Boucher, J.F., Stegmann, M.R. (2013). Efficacy and safety of oclacitinib for the control of pruritus and associated skin lesions in dogs with canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 24, 479-489.
- D'amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., Liccardi, G., Popov, T., Van Cauwenberge, P. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy* 62, 976-990.
- Day, M.J., Horzinek, M.C., Schultz, R.D., Squires, R.A.

- (2016). WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* 57, E1-E45.
- Day, M.J., Shaw, S.E. (2008). Immune-mediated skin disease. In: Northcott, J. (editor). *Clinical Immunology of the Dog and Cat*. Second edition, Manson Publishing Ltd, Londen, pp. 122-171.
- DeBoer, D.J., Hillier, A. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based "allergy" tests. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 81, 277-287.
- Favrot, C., Steffan, J., Seewald, W., Picco, F. (2010). A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Veterinary Dermatology* 21, 23-31.
- Friedeck, A. (2011). Food allergies. *The New Zealand Veterinary Nurse* 17, 13-18.
- Goffin, S. (2000). *Geneesmiddel-geïnduceerde Overgevoeligheidsreacties bij Kleine Huisdieren*. Masterproef, Master of Veterinary Medicine in de Diergeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, België.
- Gonzales, A.J., Bowman, J.W., Fici, G.J., Zhang, M., Mann, D.W., Mitton-Fry, M. (2013). Oclacitinib (APO-QUEL®) is a novel Janus kinase inhibitor with activity against cytokines involved in allergy. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 37, 317-324.
- Gonzales A.J., Humphrey, W.R., Messamore, J.E., Fleck, T.J., Fici, G.J., Shelly, J.A., Teel, J.F., Bammert, G.F., Dunham, S.A., Fuller, T.E. (2013). Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology* 24, 48-55.
- Hensel, P., Santoro, D., Favrot, C., Hill, P., Griffin, G. (2015). Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Veterinary Research* 11, 196-209.
- Hillier, A., Griffin, C.E. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): incidence and prevalence. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 81, 147-151.
- Ho, K.K., Campbell, K.L., Lavergne, S.N. (2015). Contact dermatitis: a comparative and translational review of the literature. *Veterinary Dermatology* 26, 314-329.
- Jackson, H.A. (2001). Diagnostic techniques in dermatology: the investigation and diagnosis of adverse food reactions in dogs and cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 16, 233-235.
- Janssens, S., Dupont, S., Hesta, M. (2016). Voedselallergie: een kwelling voor mens en dier. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 85, 63-70.
- Jeffers, J.G., Shanley, K.J., Meyer, E.K. (1991). Diagnostic testing of dogs for food hypersensitivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 198, 245-250.
- Laffort-Dassot, C. (2009). Flea allergy in dogs: clinical signs and diagnosis. *European Journal of Companion Animal Practice* 19, 242-248.
- Loeffler, A., Lloyd, D.H., Bond, R., Kim, J.Y., Pfeiffer, D.U. (2004). Dietary trials with a commercial chicken hydrolysate diet in 63 pruritic dogs. *Veterinary Record* 154, 519-522.
- Loke, P., Lim, Y.A. (2015). Helminths and the microbiota: parts of the hygiene hypothesis. *Parasite Immunology* 37, 314-323.
- Lund, E.M., Armstrong, J., Kirk, C.A., Kolar, L.M., Klausner, J.S. (1999). Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 214, 1336-1341.
- Mazier, H., Vogelnest, L.J., Thomson, P.C., Taylor, R.M., Williamson, P. (2016). Canine atopic dermatitis: breed risk in Australia and evidence for a susceptible clade. *Veterinary Dermatology* 27, 167-176.
- Meury, S., Molitor, V., Doherr, M.G., Roosje, P., Leeb, T., Hobi, S., Wilhelm, S., Favrot, C. (2008). Role of the environment in the development of canine atopic dermatitis in Labrador and golden retrievers. *Veterinary Dermatology* 22, 327-334.
- Nuttall, T., Uri, Maarja., Halliwell, Richard. (2013). Canine atopic dermatitis – what have we learned?. *Veterinary Record* 172, 201-207.
- Olivry, T., Bizikova, P. (2009). A systematic review of the evidence of reduced allergenicity and clinical benefit of food hydrolysates in dogs with cutaneous adverse food reactions. *Veterinary Dermatology* 21, 32-41.
- Olivry, T., DeBoer, D.J., Favrot, C., Jackson, H.A., Mueller, R.S., Nuttall, T., Prélud, P. (2010). Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Veterinary Dermatology* 21, 233-248.
- Olivry, T., Mueller, R.S. (2017). Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (3): prevalence of cutaneous adverse food reactions in dogs and cats. *BMC Veterinary Research* 13, 51-54.
- Olivry, T., Prélud, P., Héripet, D., Atlee, B.A. (1990). Allergic contact dermatitis in the dog: principles and diagnosis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 20, 1443-1456.
- Olivry, T., Rivierre, C., Jackson, H.A., Murphy, K.M., Davidson, G., Sousa, C.A. (2001). Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone-controlled trial. *Veterinary Dermatology* 13, 77-87.
- Picco, F., Zini, E., Nett, C., Naegeli, C., Bigler, B., Rüfenacht, S., Roosje, P., Ricklin Gutzwiller, M.E., Wilhelm, S., Pfister, J. et al. (2008). A prospective study on canine atopic dermatitis and food-induced allergic dermatitis in Switzerland. *Veterinary Dermatology* 19, 150-155.
- Proverbio, D., Perego, R., Spada, E., Ferro, E. (2010). Prevalence of adverse food reactions in 130 dogs in Italy with dermatological signs: a retrospective study. *Journal of Small Animal Practice* 51, 370-374.
- Roudebush, P. (2013). Ingredients and foods associated with adverse reactions in dogs and cats. *Veterinary Dermatology* 24, 292-294.
- Saridomichelakis, M.N., Koutinas, A.F., Gioulekas, D., Leonitidis, L. (1999). Canine atopic dermatitis in Greece: clinical observations and the prevalence of positive intradermal test reactions in 91 spontaneous cases. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 69, 61-73.
- Scheidt, V.J. (1988). Flea allergy dermatitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 18, 1023-1042.
- Scott, D.W., Paradis, M. (1990). A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec (1987-1988). *Canadian Veterinary Journal* 31, 830-835.
- Souza, C.A. (1997). Fleas, flea allergy and flea control, a review. *Dermatology Online Journal* 3(2), 7.
- Tarpataki, N., Papa, K., Reiczigel, J., Vajdovich, P., Voros, K. (2006). Prevalence and features of canine atopic der-

- matitis in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica* 54, 353-366.
- Tizard, I.R. (2013). Type I, II, III, IV hypersensitivity. In: *Veterinary Immunology*. Ninth Edition, Elsevier, St.Louis, Missouri, USA, pp. 326-375.
- Verlinden, A., Hesta, M., Millet, S., Janssens, G.P.J. (2006). Food allergy in dogs and cats: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46, 259-273.
- Wilhelm, S., Favrot, C. (2005). Futtermittelhypersensitivitäts-Dermatitis beim Hund: Möglichkeiten der Diagnose. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 147, 165-171.
- Wilkerson, M.J., Bagladi-Swanson, M., Wheeler, D.W., Floyd-Hawkins, K., Craig, C., Lee, K.W., Dryden, M. (2004). The immunopathogenesis of flea allergy dermatitis in dogs, an experimental study. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 99, 179-192.
- Zur, G., Ihrke, P.J., White, S.D., Kass, P.H. (2002). Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part I. Clinical features and allergy testing results. *Veterinary Dermatology* 13, 89-102.
- Zur, G., White, S.D., Ihrke, P.J., Kass, P.H., Toebe, N. (2002). Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 169 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part II. Response to hyposensitisation. *Veterinary Dermatology* 13, 103-111.

Erratum

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift nr 1-2019

Artikel: Long-term results of tenoscopic treatment of lesions in the digital flexor tendon sheath: a retrospective study of fifty horses, pg 9-18

Rechtzetting auteurs en coördinaten:

¹F. Thünker, ¹M. Oosterlinck, ²K. Vanderperren, ¹A. Martens

¹Department of Surgery and Anesthesiology of Domestic Animals,

²Department of Veterinary Medical Imaging and Small Animal Orthopedics,

Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Equine metabool syndroom

Equine metabolic syndrome

P. Deprez

Vakgroep Inwendige Ziekten van de Grote Huisdieren
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

piet.deprez@ugent.be

SAMENVATTING

Het equine metabool syndroom wordt omschreven als een verzameling van risicofactoren voor het ontstaan van endocrinologisch veroorzaakte hoefbevangenheid. Een verstoring van de insulineregulatie ligt aan de basis van het probleem. Voeding, voedingstoestand en genetische factoren zijn belangrijke risicofactoren voor het ontstaan van deze verstoorde insulineregulatie. Er is een groot aantal diagnostische methoden beschreven, elk met hun voor- en nadelen. Behandeling en management van paarden en pony's met het equine metabool syndroom bestaan vooral in het aanpakken van een aantal risicofactoren, waarbij diëtaire maatregelen de belangrijkste rol spelen.

ABSTRACT

The equine metabolic syndrome (EMS) is defined as a collection of risk factors for the development of endocrinopathic laminitis. In the pathogenesis of this syndrome, the presence of insulin dysregulation is the key determining factor. Important risk factors for the development of insulin dysregulation in horses are the type of feed, the body condition score and genetic factors. Several diagnostic methods have been described, each of them with their own advantages and disadvantages. Treatment and management of horses and ponies with EMS rely heavily on the reduction of the risk factors and are mainly based on dietary interventions.

INTRODUCTIE

Het verband tussen een te hoge “body condition score” (BCS) en hoefbevangenheid bij paarden is sinds lang bekend. De onderliggende pathogenese is pas in de laatste jaren duidelijker geworden en daardoor zijn de diagnostische, preventieve en therapeutische mogelijkheden verfijnd.

HISTORIEK

De eerste vermeldingen in de literatuur van de terminologie equine metabool syndroom (EMS) dateren van rond de eeuwwisseling. In de jaren voordien werd er bij paarden reeds een associatie tussen metabole stoornissen, zoals obesitas en een verhoogd risico op hoefbevangenheid, opgemerkt (Coffman en Colles, 1983; Alford et al., 2001).

Zolang bij het paard de exacte pathogenese niet bekend was, werd naar analogie met de terminologie in de humane geneeskunde een aantal benamingen voor deze aandoening gebruikt, zoals syndroom X, perifeer cushingsyndroom, pseudo-cushingsyndroom, insuline-resistentie-syndroom, insuline refractaire status en zelfs hypothyroïdie. Meer specifiek voor het paard en wegens de associatie met een goede tot zeer goede lichaamsconditie als gevolg van een voeding rijk aan granen of suikers en een mogelijke invloed van verminderde insulinegevoeligheid, werd door Kronfeld in 2001 en 2003 de term “equine grain-associated disorders” (EGAD) voorgesteld als containerbegrip voor aandoeningen die het gevolg kunnen zijn van een te rijke voeding. Deze aandoeningen omvatten volgens hem sommige vormen van koliek, tyflitis, colitis, diarree, maagulcera en uiteraard hoefbevangenheid (Kronfeld, 2001; Kronfeld, 2003).

Ondertussen had de World Health Organization

in 1999 een consensusdocument uitgebracht om de wildgroei aan terminologieën voor deze aandoening in de humane geneeskunde te harmoniseren. In dit document werd de benaming “metabolic syndrome” gedefinieerd als een geheel van risicofactoren voor cardiovasculaire aandoeningen en gekenmerkt door de aanwezigheid van abdominale obesitas, insuline-resistentie, hypertensie en/of hyperlipidemie (World Health Organization, 1999). In 2002 werd dan hierop aansluitend door Johnson de benaming “equine metabolic syndrome” voorgesteld om ook in de geneeskunde van het paard een eenduidige terminologie te gebruiken voor deze aandoening (Johnson, 2002).

DEFINITIE

De meest recente definitie van EMS werd in januari 2019 geformuleerd in een consensus-statement uitgaande van het European College of Equine Internal Medicine (Durham et al., 2019). Deze definitie luidt als volgt: “EMS is niet per se een ziekte maar eerder een geheel van risicofactoren voor endocrinopathische hoefbevangenheid met insuline-dysregulatie (ID) als het centrale en consistent aanwezige kenmerk.”

Het sleutelwoord binnen deze definitie is insuline-dysregulatie, waarmee een verstoorde balans tussen de serumgehalten aan insuline, glucose en lipiden bedoeld wordt. Dit omvat één of meerdere van de volgende afwijkingen: basale hyperinsulinemie, hyperinsulinemie na intraveneuze of perorale opname van suikers, al dan niet gepaard met abnormale hyperglykemie en insulineresistentie ter hoogte van de perifere weefsels. Als gevolg van de insulineresistentie kan hypertriglyceridemie hierbij aanwezig zijn door een verminderde remming van de lipolyse en de synthese van “very low density lipoproteins” (VLDL) ter hoogte van de lever (Durham et al., 2019).

Obese paarden worden traditioneel als typische dieren voor EMS aanzien. Een body condition score van $\geq 7/9$ op de henneschaal wordt in de meeste studies als definitie voor obesitas gebruikt. Naast generaliseerde obesitas wordt in het kader van EMS vaak gewezen op regionale vetopstapelingen, zoals ter hoogte van het nekligament (“cresty neck”), achter de schouders, rond de staartbasis en ter hoogte van het preputium of de uier (Geor, 2010). Naast absoluut te vette dieren worden ook paarden met een neiging tot overdreven vetopstapeling of paarden die moeilijk gewicht verliezen als risicodieren aanzien (Argo et al., 2012). Niet alle paarden met EMS vertonen echter een te hoge BCS; ook paarden met een normale lichaamsconditie kunnen insuline-dysregulatie vertonen en worden daarom als het “lean EMS”-type omschreven (Equine Endocrinology Group, 2018).

Naast obesitas kunnen nog andere afwijkingen bij EMS-paarden voorkomen, zoals hypertensie en verstoring van de hormonale vetweefselhuishouding (hypo adiponectinemie en hyperleptinemie). Deze afwijkingen komen niet bij alle EMS-paarden voor en

worden daarom niet in de strikte definitie van EMS vermeld.

EPIDEMIOLOGIE

Er bestaan geen rapporten over het voorkomen van EMS in België. Ook in de rest van de wereld zijn er weinig tot geen grote epidemiologische studies gedaan waarbij aan alle huidige criteria van de definitie van EMS voldaan is. Er zijn wel enkele studies waarin een aantal deelaspecten van EMS onderzocht werden. Zo werd bijvoorbeeld in de Verenigde Staten aangetoond dat hyperinsulinemie bij 18 tot 22 % van de onderzochte gezonde paarden aanwezig was (Muno et al., 2009; Pleasant et al., 2013). Bij pony's werd in een Australische studie aangegeven dat 27 % van de dieren hyperinsulinemisch was (Morgan et al., 2014).

Wat betreft rasprevalentie wordt aangegeven dat pony's doorgaans een hogere frequentie van endocrinopathische laminitis en verminderde insulinegevoeligheid vertonen dan andere rassen (Karikoski et al., 2011; Bamford et al., 2014). Algemeen worden shetlandpony's, ezels en miniatuurpaarden als gepredisposeerd aanzien (Durham et al., 2019). Geslachtsverschillen lijken niet voor te komen.

Dieren die actief in de sport of in ander werk betrokken zijn, lijken minder tot de EMS-groep te behoren. Fysische activiteit behoedt de dieren doorgaans voor een overmatige BCS en kan een beschermend effect hebben op een verminderde insulinegevoeligheid (Liburt et al., 2011). Leeftijd lijkt daarentegen wel een effect te hebben op de insulineconcentratie bij paarden: oudere paarden en pony's hebben veelal een hogere concentratie insuline en een lager gehalte adiponectine (Rapson et al., 2018; Kawasumi et al., 2015).

PATHOFYSIOLOGIE

Insuline-dysregulatie

Hyperinsulinemie is het meest voorkomende aspect van insuline-dysregulatie bij paarden. Algemeen wordt aangenomen dat de langdurige opname van een rantsoen hoog in niet-structurele koolhydraten (NSC) de gevoeligheid voor insuline en de adiponectineconcentratie doet verminderen in vergelijking met een rantsoen gebaseerd op ruwvoeder of hoog in vetten. Perorale opname van glucose geeft daarnaast aanleiding tot een hogere insulinesecretie dan de intraveneuze toediening van glucose. De reden hiervoor ligt in het feit dat het maag-darmstelsel factoren vrijstelt die de insulinevrijstelling van de pancreas verhogen. Minstens drie hormonale factoren, met name incretines, zijn daarvoor verantwoordelijk: “gastric inhibitory peptide” (GIP) en “glucagon-like peptide” 1 en 2 (GLP-1 en GLP-2). Bij het paard zijn, naast glucose, vooral GIP en GLP-1 verantwoordelijk voor de

insulinesecretie na opname van voeders rijk aan niet-structurele koolhydraten (de Laat et al., 2016).

Bij dieren met overgewicht en insulineresistentie kan een verminderde afbraak van insuline ter hoogte van de lever aanwezig zijn; dit kan ook zorgen voor een langdurigere en hogere hyperinsulinemie na opname van voeders rijk aan niet-structurele koolhydraten (Toth et al., 2010).

In recent onderzoek wordt daarnaast aangegeven dat een rantsoen hoog in NSC niet noodzakelijk aanleiding geeft tot insulineresistentie. Bij sommige dieren kan dit ook leiden tot een verbeterde glucosetolerantie en perifere insulinegevoeligheid (Bamford et al., 2016).

Hoefbevangenheid

Het belangrijkste negatieve gevolg van hyperinsulinemie bij paarden is hoefbevangenheid. Bij experimentele inductie van hyperinsulinemie door toediening van hetzij insuline of glucose kan hoefbevangenheid geïnduceerd worden (de Laat et al., 2012). De eerste letsels daarvan worden opgemerkt ter hoogte van de secundaire epidermale lamellen, waarbij deze verlengen en vernauwen en hierdoor minder goed aansluiten bij de primaire epidermale cellen. Deze veranderingen omvatten ook een versnelde celdood (apoptosis) en de daarbij aansluitende deformatie van de hoeflamellen verklaren de aanwezigheid van hoefbevangenheidsringen op de hoeven, zelfs vooraf klinische hoefbevangenheid optreedt (Karikoski, 2015).

Het exacte mechanisme, waardoor hyperinsulinemie hoefbevangenheid induceert, is momenteel nog minder goed bekend. De huidige hypothesen omvatten onder andere veranderingen in de intracellulaire insuline-signaaltransductie met endotheliale disfunctie en mechanismen waarbij de insuline-like groeifactor 1 (IGF-1) in betrokken is. Enerzijds zorgt de stimulatie van insulinerceptoren bij gezonde dieren voor NO-gemedieerde vasodilatatie en GLUT4-translocatie. Bij dieren met verminderde insulinegevoeligheid zou het mitogeen-geactiveerde eiwit-kinasesysteem (MAP-kinase) ter hoogte van het endotheel van de hoef overheersen met endothelin-1-gemedieerde vasoconstrictie, opregulatie van cellulaire adhesiemoleculen en mitogenese tot gevolg. Anderzijds zou ter hoogte van de lamellaire cellen ook de IGF-1-receptor een rol kunnen spelen: hoge concentraties insuline zouden daarbij het MAP-kinase-systeem kunnen activeren. Een gevolg daarvan zou de activatie van het RPS6-eiwit kunnen zijn, met verstoring van het cytoskeletale systeem en de daarbij horende verlenging en vernauwing van de secundaire epidermale lamellaire cellen tot gevolg (Durham et al., 2019).

Rantsoen en intestinaal microbiom

Het rantsoen beïnvloedt het intestinale microbiom en in de humane geneeskunde zijn er indicaties

dat onder andere metabole aandoeningen en obesitas kunnen gemoduleerd worden door signalen vanuit het microbiom. Concreet voor het paard zijn daar nog weinig gegevens over (Elzinga et al., 2016).

Obesitas

Een te hoge BCS wordt niet meer aanzien als de belangrijkste oorzaak van EMS, maar eerder als een factor die insuline-dysregulatie kan verergeren door een verstoring van het leptine/adiponectine-evenwicht. In theorie moet leptine bij voldoende vetreserves de voederopname verminderen en het verbruik bij beweging stimuleren. Bij sommige dieren bestaat er een vorm van leptineresistentie met een verhoogd leptinegehalte in het serum en een toename van de obesitas en hyperinsulinemie tot gevolg (Van Weyenberg et al., 2013).

Adiponectine is een tweede hormoon dat door de vetcellen gesecreteerd wordt en dat zorgt voor een verhoogde insulinegevoeligheid. Een verlaagd adiponectinegehalte is omgekeerd evenredig met vetreserves en insulineresistentie. Vooral rantsoenen rijk aan suikers of granen zorgen voor een daling van het adiponectinegehalte; rantsoenen die energie aanbrenge via vetten, hebben weinig invloed op het adiponectinegehalte of op insuline-dysregulatie (Bamford et al., 2016).

Genetica

Zoals hogerop vermeld zijn genetische invloeden belangrijk bij de eventuele ontwikkeling van EMS, waarbij pony's als de meest gevoelige paardachtigen vermeld worden. Een belangrijk fenotypisch kenmerk van paarden die een hoger risico op EMS vertonen, is gemakkelijk gewicht aanzetten of minder vlug gewicht verliezen in vergelijking met andere paarden op hetzelfde rantsoen (Figuur 1). Evolutionair gezien zijn dit de dieren die het beter zullen doen in perioden van voedselschaarste (Lewis et al., 2017). Momenteel



Figuur 1. Pony met klinische tekenen indicatief voor EMS: obesitas en hoefbevangenheid.

zijn de genen die hiervoor verantwoordelijk zijn nog niet ten volle bekend en epigenetische factoren, zoals de BCS van drachtige merries, kunnen de expressie van die genen bijkomend beïnvloeden.

DIAGNOSE

De diagnose van EMS kan voor een deel gesteld worden aan de hand van de klinische tekenen, bijvoorbeeld hoefbevangenheid bij een paard met overgewicht en zonder de aanwezigheid van andere oorzaken van hoefbevangenheid, zoals abnormale belasting of acute koolhydraatovermaat in het rantsoen. Voor een definitieve diagnose zijn laboratoriumonderzoeken nodig. Aangezien de diagnose berust op het aantonen van insuline-dysregulatie, zullen veelal bepalingen van insuline en glucose gebeuren. Er kunnen verschillen bestaan tussen de insulinegehalten afhankelijk van de gebruikte methode per labo. Daarom moet bij de interpretatie rekening gehouden worden met de cut-off-waarden van het betrokken labo. Naast de mogelijke analytische verschillen zijn er ook individuele variaties bij de patiënt mogelijk. Stress kan zowel het gehalte aan glucose als het insulinegehalte beïnvloeden. Het is daarom tegenaangewezen om stalen te nemen van paarden die vermoedelijk onder catecholamine- of cortisolinvloed staan, zoals kort na transport, na omgevingswijzigingen of bij paarden die pijn hebben, zoals bij acute hoefbevangenheid (Brojer et al., 2013). Daarnaast kan langdurig vasten ook een negatieve invloed hebben op de insulinegevoeligheid en op de maaglediging. Dit laatste is vooral belangrijk bij perorale glucose- of suikerbelasting. Er zijn indicaties dat vasten voor langer dan zes uur een lichte vorm van insulineresistentie kan veroorzaken (Bertin et al., 2016).

Een groot aantal testen werd in het verleden geëvalueerd voor de diagnose van insuline-dysregulatie bij EMS. De gemakkelijkst en goedkoopst uit te voeren testen zijn de eenmalige basale bepalingen van een aantal parameters, maar de sensitiviteit en specificiteit zijn vaak onvoldoende. Dynamische testen vereisen meer werk en/of staalnames, maar geven doorgaans betere informatie.

Basale testen

Insuline

Het bepalen van basale insulinegehalten is een veel gebruikte screeningstest voor EMS. Hoge basale insulinegehalten kunnen indicatief zijn voor insuline-dysregulatie, maar het is moeilijk om voldoende sensitieve cut-off-waarden te bepalen. Een van de redenen daarvoor ligt in het gebruikte protocol. Vroeger werd de staalname uitgevoerd na een periode van vasten, maar vasten kan een milde en tijdelijke vorm van insulineresistentie veroorzaken. Daarom wordt nu de staalname verricht op minstens vier tot vijf uur na de

laatste opname van krachtvoeder, waarbij de dieren verder toegang tot ruwvoeder krijgen. Maar ook ruwvoeder kan variabele effecten op het insulinegehalte hebben. Voordroog- of geweekt hooi geven bijvoorbeeld een hogere insulinerespons dan hooi, maar ook bij hooi kan de samenstelling of de opgenomen hoeveelheid de resultaten beïnvloeden.

Vroeger werd gesteld dat een nuchtere insulineconcentratie van $> 20 \mu\text{U/ml}$ suggestief was voor insuline-dysregulatie, maar nu wordt eerder aangegeven dat een gehalte tussen 20 en $50 \mu\text{U/ml}$ bij dieren zonder recente opname van krachtvoeder suggestief is voor insuline-dysregulatie en dat bijkomende dynamische testen aangewezen zijn. Gehaltes van meer dan $50 \mu\text{U/ml}$ worden als diagnostisch voor insuline-dysregulatie aanzien (Equine Endocrinology Group, 2018). Deze cut-off-waarden werden bepaald met de Immulite 1000-methode.

Glucose

Basale glucosebepaling is weinig informatief voor wat betreft EMS. Persistierend hoge basale glucosegehalten kunnen ook indicatief zijn voor diabetes mellitus, alhoewel dit relatief zeldzaam is bij het paard.

Triglyceriden

Hypertriglyceridemie is een veel voorkomende afwijking bij vette dieren in een negatieve energiebalans, maar het is onvoldoende specifiek als predictor voor EMS. Bij pony's werd aangegeven dat gehalten van 0,64 tot 1,06 mmol/l predicatief kunnen zijn voor hoefbevangenheid, maar dit bleek onvoldoende bruikbaar te zijn als een diagnostische test voor EMS (Carter et al., 2009).

Adipokines

Het gehalte aan adiponectine en leptine geeft een beeld van het vetmetabolisme van het organisme. Een laag adiponectinegehalte en een hoog leptinegehalte zijn indicatief voor obesitas en specifiek voor pony's worden ze vermeld als predictoren voor laminitis (Carter et al., 2010; Menzies-Gow et al., 2017). Daarnaast kan een laag adiponectinegehalte een merker zijn voor insuline-dysregulatie. Het blijven indirecte indicatoren en daarom worden ze eerder als complementair dan als direct diagnostisch voor EMS beschouwd.

C-peptide

C-peptide is een eiwit dat vrijkomt bij de secretie van insuline en wordt vooral gebruikt bij de diagnose en monitoring van diabetes aangezien het minder vlug dan insuline uit de circulatie verwijderd wordt. Bij glucosebelastingstesten en de daarbij horende hyperinsulinemie stijgt ook het gehalte aan C-peptide (de Laat et al., 2016). Aangezien de rechtstreekse bepa-

ling van insuline beter gevalideerd is voor het paard, wordt C-peptide minder gebruikt als diagnostisch criterium bij EMS.

Dynamische testen

Dynamische testen geven een beeld van de relatie tussen insuline en glucose tijdens de blootstelling van suikers. Perorale testen evalueren de complete fysiologische interactie tussen opgenomen suikers en insuline, terwijl intraveneuze testen vooral informatie geven over de insulinesecretie ter hoogte van de pancreas en de insulinerespons van de perifere weefsels. Voor de diagnose in de praktijk worden vooral de meer economische testen gebruikt met een minimum aan bepalingen. De clamp-analyses en de IV-testen met multiële staalnames worden vooral gebruikt bij experimenteel onderzoek.

Orale belastingtesten

Orale glucosebelasting

De orale glucosebelastingtest is een klassieke test die ook gebruikt wordt voor het evalueren van de absorptieve capaciteit van de dunne darm. In het kader van de diagnose van EMS worden verschillende protocollen voorgesteld. Glucose kan in een kleine hoeveelheid laag glycemisch voeder aangeboden worden na een vastenperiode overnacht. De vastenperiode zorgt voor enige standaardisatie, een vlotte opname van het voeder en een voldoende vlugge maaglediging. De glucose kan ook via een neusslok-darmsonde toegediend worden, opgelost in een tweetal liter water. Medicamenteuze sedatie of excitatie bij het plaatsen van de sonde dient uiteraard vermeden te worden. De aangegeven hoeveelheid glucose varieert tussen verschillende studies: 0,5, 0,75 en 1 g per kg lichaamsgewicht worden vermeld. Het hoogste glucosegehalte in het bloed wordt verwacht rond 90 tot 120 minuten na opname. De staalname voor insulinebepaling gebeurt daarom op 120 minuten na opname van de glucose (Smith et al., 2016).

Afhankelijk van de gebruikte hoeveelheid glucose worden de cut-off-waarden voor insuline van 68 $\mu\text{U/ml}$ bij 0,5 g glucose/kg LG of 80-90 $\mu\text{U/ml}$ bij 1 g glucose/kg LG aangegeven als indicatief voor EMS. Deze cut-off-waarden zijn uiteraard afhankelijk van de gebruikte analysemethode: de bovenstaande waarden werden bepaald met de Immulite 1000-chemiluminescentie-test. Als cut-off-waarde bij glucosetoe-diening via een neusslok-darmsonde aan een dosis van 1 g per kg LG wordt 110 $\mu\text{U/ml}$ voorgesteld (bepaling met ELISA) (Durham et al., 2019).

Orale suikerbelasting

Aangezien sommige paarden minder vlot glucose in poedervorm opnemen, wordt in het buitenland vaak

maissiroop gebruikt als orale suikerbelastingtest. Dit kan via een spuit in de mond gebracht worden, na een overnachtperiode waarbij enkel een kleine hoeveelheid hooi verstrekt wordt. Het soort siroop dat in de meeste protocollen gebruikt wordt, is de Karo Light Corn Sirup van de firma ACH Food Companies (Schuver et al., 2014). De hoeveelheid siroop die toegediend wordt, varieert van 0,15 over 0,25 tot 0,45 ml/kg LG en de insulinebepaling gebeurt tussen zestig en negentig minuten na opname. De hogere hoeveelheden zouden de sensitiviteit van de test verbeteren. Voor elke hoeveelheid siroop werden cut-off-waarden bepaald voor de diagnostiek van insuline-dysregulatie. De cut-off ligt op $>45 \mu\text{U/ml}$ (Millipore Human RIA) bij gebruik van 0,15 ml siroop per kg LG, op $>30 \mu\text{U/ml}$ (Coat-A-Count RIA) bij gebruik van 0,25 ml siroop en op $>110 \mu\text{U/ml}$ (Insulin CT RIA) na toediening van 0,45 ml siroop per kg LG. Voor die laatste dosering werden ook cut-off-waarden bepaald voor andere insuline-analyses: $>40 \mu\text{U/ml}$ wordt aangegeven voor de Immulite 1000- en $>63 \mu\text{U/ml}$ voor de Immulite 2000xpi-chemoluminescentie-test. Tot nu toe werden er nog geen referentiewaarden gepubliceerd voor andere siropen (Durham et al., 2019).

Intraveneuze belastingtesten

Intraveneuze testen hebben het voordeel dat variaties in maaglediging en intestinale absorptie de testresultaten niet beïnvloeden, maar ze hebben het nadeel dat bijvoorbeeld het effect van incretines op insulievrijstelling ontbreekt. Insulineresistentie als onderdeel van insuline-dysregulatie kan met de intraveneuze testen wel nagekeken worden.

Insuline-responstest

Hierbij wordt neutrale (“regular”) insuline IV toegediend aan een dosis van 0,02 tot 0,125 IU/kg LG en het glucosegehalte in het bloed wordt opgevolgd. Bij gezonde paarden wordt na twintig tot dertig minuten vastgesteld dat het glucosegehalte minstens gehalveerd en binnen de twee uur genormaliseerd is. Er is ook een kortere versie van het protocol beschreven, waarbij 0,1 IU/kg LG toegediend wordt en waarbij enkel via het bloed een glucosebepaling gedaan wordt net voor en dertig minuten na toediening (Bertin et al., 2013).

Gecombineerde glucose-insulinetest

Bij deze test wordt glucose (150 mg/kg LG) intraveneus toegediend, gevolgd door 0,1 IU/kg LG insuline IV. De insuline- en glucosespiegel wordt opgevolgd en bij gezonde dieren wordt initieel hyperglykemie opgemerkt, gevolgd door milde hypoglykemie en een normalisatie van het glucosegehalte na 45 minuten. Het insulinegehalte moet voor de start en op 75 minuten minder dan 20 $\mu\text{U/ml}$ zijn en minder dan

100 $\mu\text{U/ml}$ op 45 minuten (cut-off-waarden voor de Coat-A-Count RIA) (Eiler et al., 2005). Paarden met insuline-dysregulatie vertonen een hoger insulinegehalte en een vertraagde normalisatie van het glucosegehalte.

Bij beide IV-testen moeten de paarden uiteraard goed opgevolgd worden om klinische hypoglykemie te voorkomen. Hiervoor dient een glucose-infuus of een suikerrijke maaltijd binnen handbereik te zijn. Uitvasten van de dieren is niet nodig.

Aandachtspunten bij de diagnostische testen

Zoals reeds hoger vermeld worden de resultaten van de insulinebepaling sterk beïnvloed door de gebruikte diagnostische methoden. De voorgestelde cut-off-waarden zijn specifiek voor de gebruikte analysemethode. Elk diagnostisch labo moet bijgevolg cut-off-waarden gebruiken die aangepast zijn aan de door hen gebruikte methode voor de bepaling van insuline.

Aangezien insuline-dysregulatie ook bij paarden met het syndroom van Cushing ("pituitary pars intermedia dysfunction" (PPID)) kan voorkomen en aangezien sommige paarden zowel EMS als PPID kunnen hebben, is een bijkomende analyse van ACTH bij oudere paarden met insuline-dysregulatie aangewezen.

In de praktijk is de basale bepaling van insuline vaak de eerste diagnostische test. Wanneer het resultaat in de schemerzone zit, in casu tussen 20 en 50 $\mu\text{U/ml}$ (Immulite 1000), is een bijkomende orale glucose- of suikerbelastingtest aangewezen. Indien ook het resultaat van die test niet eenduidig zou zijn, dan kunnen er intraveneuze testen uitgevoerd worden.

MANAGEMENT VAN EMS-PAARDEN

Rantsoenaanpassingen

Aangezien de meeste paarden met EMS een te hoge BCS hebben, is vermageren een belangrijke strategie bij de aanpak van EMS. De insuline-dysregulatie zal progressief verbeteren naarmate de paarden gewicht verliezen. De basisregels voor de rantsoenaanpassing bestaan uit het verwijderen van krachtvoeder en andere suikerrijke componenten (appels, wortelen, etc.) uit het rantsoen en het verstrekken van een gelimiteerde hoeveelheid ruwvoeder.

Als vuistregel voor de ruwvoederverstrekking wordt uitgegaan van hooi aan een hoeveelheid van 1,4 tot 1,7 % van het lichaamsgewicht. Voordroog is minder geschikt omdat het een hogere insulinerespons veroorzaakt dan hooi. Daarnaast wordt ook aangeraden om hooi te gebruiken met een laag gehalte aan niet-structurele suikers (NSC): een NSC-gehalte van minder dan 10% wordt in de literatuur vermeld. Om het gehalte aan NSC in het hooi te verlagen, kan het hooi gedurende twee tot drie uur geweekt worden

(Durham et al., 2019).

Weidebeloop wordt afgeraden, zeker in de eerste twee tot vier maanden van het vermageringsprotocol. Zelfs bij beperkte toegang tot de weide kunnen de paarden op korte tijd veel gras opnemen. Een paddock of zandpiste kan gebruikt worden om de dieren wat beweging te gunnen. Indien toch voor weidebeloop gekozen wordt, is het gebruik van een graasmasker aangewezen.

De bedoeling van de voederrestrictie is om een gewichtsverlies van 0,5 tot 1 % per week te bekomen. Een sterkere restrictie en een vlugger gewichtsverlies zijn om welzijnsredenen en om medische redenen niet aan te raden. Zo kan een zeer uitgesproken voederrestrictie bij pony's hyperlipemie uitlokken.

Als er onvoldoende gewichtsverlies optreedt, kan de ruwvoederopname nog verder verminderd worden tot een absoluut minimum van 1,15 % van het lichaamsgewicht.

Daarnaast is het ook belangrijk om sporenelementen, mineralen, vitaminen en eiwitten te supplementeren om een gebalanceerd rantsoen te bekomen.

Lichaamsbeweging

Voor dieren die geen actieve hoefbevangenheid vertonen, kan meer lichaamsbeweging helpen om de dieren fit te houden en om bijkomend de insulinegevoeligheid te verbeteren. Het is gebleken dat een relatief intensief arbeidsschema nodig is om effecten te zien op het insulinetabolisme (Mann et al., 2014). De huidige aanbeveling bestaat uit minstens vijf keer per week een trainingssessie van minstens dertig minuten in te lassen, waarbij de intensiteit kan gemeten worden aan de hand van de hartslag. Er wordt gemikt op een hartslag tussen 130 en 170 per minuut tijdens de trainingssessies (Durham et al., 2019). Paarden die een voorgeschiedenis van hoefbevangenheid hebben, worden het beste op een lager niveau en op zachte bodem getraind.

Medicatie

Bij de meeste paarden met EMS volstaan rantsoenmaatregelen om de insuline-dysregulatie aan te pakken. Een medicamenteuze behandeling is geen vervangmiddel voor de rantsoenmaatregelen. De belangrijkste indicatie voor een bijkomende medicamenteuze aanpak is een onvoldoende resultaat van de rantsoenaanpassing of om een vlugger effect te bekomen bij dieren met een extreme insuline-dysregulatie.

Metformine-hydrochloride kan gebruikt worden aan een dosis van 15 tot 30 mg/kg per os twee tot drie keer per dag en dertig tot zestig minuten voor het voeder wordt aangeboden. Metformine vermindert de glucose-opname ter hoogte van de enterocyten en doet op die manier de insulinerespons na voederopname dalen (Rendle et al., 2013).

Levothyroxine kan gebruikt worden als hulp-

middel om voldoende gewicht te verliezen door het metabolisme te verhogen. Het is vooral aangewezen bij dieren die onvoldoende gewicht verliezen met de rantsoenbeperking. Als dosering wordt 0,05 tot 0,2 mg per kg per dag aangegeven (Frank et al., 2005). Levothyroxine kan langdurig toegediend worden, maar moet aan het einde van de behandeling geleidelijk afgebouwd worden.

Een aantal andere moleculen worden momenteel bestudeerd, waaronder medicatie voor diabetes (pioglitazone), glucosurie-inducerende medicatie (natrium-glucose co-transporter 2-inhibitoren) en moleculen die de glucose- en insulinerespons op suikers in de voeding verminderen ("sweet taste receptor"-inhibitoren). Momenteel is er nog onvoldoende informatie beschikbaar om deze medicatie in te zetten bij de behandeling van EMS (Durham et al., 2019).

Opvolging en begeleiding van de maatregelen

Een maandelijks opvolging van de patiënt wordt, zeker in het begin van de behandeling, aangeraden. Tijdens deze bezoeken kan het gewichtsverlies beoordeeld worden en kan er een algemeen onderzoek van de patiënt gebeuren met speciale aandacht voor eventuele tekenen van hoefbevangenheid. Doorgaans verloopt het gewichtsverlies in de eerste weken vrij goed maar na drie tot vier maanden vermindert het gewichtsverlies doorgaans wegens een aanpassing, in casu een vermindering van het metabolisme in rust (Argo et al., 2012). Bijkomende voederrestricties of een intenser trainingsschema kunnen ingeschakeld worden indien de patiënt nog niet op zijn ideale gewicht is.

Bij de opvolgingsbezoeken kan het effect van de genomen maatregelen op de insuline-dysregulatie geëvalueerd worden met een orale glucose- of suikerbelastingtest of eenvoudigweg door middel van een insulinebepaling een tweetal uur na de eerste voederbeurt van de dag. De opvolging van de graad van insuline-dysregulatie is een bijkomende objectieve test om de rantsoenaanpassingen hetzij nog strikter toe te passen hetzij iets te milderen. De bloedafnames die hierbij gebeuren, kunnen ook gebruikt worden om eventuele hyperlipemie in een vroeg stadium te detecteren.

LITERATUUR

Alford P, Geller S, Richardson B, Slater M, Honnas C, Foreman J, Robinson J, Messer M., Roberts M., Goble D., Hood D., Chaffin M. (2001). A multicenter, matched case-control study of risk factors for equine laminitis. *Preventive Veterinary Medicine* 49, 209-222.

Argo C.M., Curtis G.C., Grove-White D., Dugdale A.H., Barfoot C.F., Harris P.A. (2012). Weight loss resistance: a further consideration for the nutritional management of obese Equidae. *The Veterinary Journal* 194, 179-188.

Bamford N.J., Potter S.J., Harris P.A., Bailey S.R. (2014).

Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses and ponies of moderate body condition score. *Domestic Animal Endocrinology* 47, 4,101-107.

Bamford N.J., Potter S.J., Harris P.A., Bailey S.R. (2016). Effect of increased adiposity on insulin sensitivity and adipokine concentrations in horses and ponies fed a high fat diet, with or without a once daily high glycaemic meal. *Equine Veterinary Journal* 48, 3, 368-373.

Bertin F.R., Sojka-Kritchevsky J.E. (2013). Comparison of a 2-step insulinresponse test to conventional insulin-sensitivity testing in horses. *Domestic Animal Endocrinology* 44, 1, 19-25.

Bertin FR, Taylor SD, Bianco AW, Sojka-Kritchevsky JE. (2016). The effect of fasting duration on baseline blood glucose concentration, blood insulin concentration, glucose/insulin ratio, oral sugar test, and insulin response test results in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30, 5, 1726-1731.

Brojer J., Lindase S., Hedenskog J., Alvarsson K., Nostell K. (2013). Repeatability of the combined glucose-insulin tolerance test and the effect of a stressor before testing in horses of 2 breeds. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27, 6, 1543-1550.

Carter R.A., Treiber K.H., Geor R.J., Douglass L., Harris P.A. (2009). Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Veterinary Journal* 41, 2, 171-178.

Coffman J.R., Colles C.M. (1983). Insulin tolerance in laminitic ponies. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 47, 3, 347-351

de Laat M.A., McGowan C.M., Sillence M.N., Pollitt C.C. (2010). Equine laminitis: induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal* 42, 2, 129-135.

de Laat M.A., McGree J.M., Sillence M.N. (2016). Equine hyperinsulinemia: investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation. *American Journal of Physiology- Endocrinology and Metabolism* 310, 1, E61-E72.

de Laat MA, van Haeften JJ, Sillence MN. (2016) The effect of oral and intravenous dextrose on C-peptide secretion in ponies. *Journal of Animal Science* 94, 2, 574-580

Durham A., Frank N., Mc Gowan C., Menzies-Gow N., Roelfsema E., Vervuert I., Feige K., Fey K. (2019). ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, <https://doi.org/10.1111/jvim.15423>

Eiler H., Frank N., Andrews F.M., Oliver J.W., Fecteau K.A. (2005). Physiologic assessment of blood glucose homeostasis via combined intravenous glucose and insulin testing in horses. *American Journal of Veterinary Research* 66, 9, 1598-1604.

Elzinga S.E., Weese J.S., Adams A.A. (2016). Comparison of the fecal microbiota in horses with equine metabolic syndrome and metabolically normal controls fed a similar all-forage diet. *Journal of Equine Veterinary Science* 44, 9-16.

Equine Endocrinology Group (2018). *Recommendations for the diagnosis and treatment of Equine Metabolic Syndrome (EMS)*. <https://sites.tufts.edu/equineendgroup/>

Frank N., Sommardahl C.S., Eiler H., Webb L.L., Denhart J.W., Boston R.C. (2005). Effects of oral administration of levothyroxine sodium on concentrations of plasma

- lipids, concentration and composition of very-low-density lipoproteins, and glucose dynamics in healthy adult mares. *American Journal of Veterinary Research* 66, 6, 1032-1038
- Geor R. (2010). Current concepts on the pathophysiology of pasture-associated laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 26, 265-276.
- Johnson P. (2002). The equine metabolic syndrome Peripheral Cushing's syndrome. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 18, 271-293.
- Karikoski N.P., Horn I., McGowan T.W., McGowan C.M. (2011). The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. *Domestic Animal Endocrinology* 41, 3, 111-117.
- Karikoski N.P., McGowan C.M., Singer E.R., Asplin K.E., Tulamo R.M., Patterson-Kane J.C.. (2015). Pathology of natural cases of equine endocrinopathic laminitis associated with hyperinsulinemia. *Veterinary Pathology* 2, 5, 945-956.
- Kawasumi K, Yamamoto M, Koide M, Okada Y., Mori N., Yamamoto I., Arai T. (2015). Aging effect on plasma metabolites and hormones concentrations in riding horses. *Open Veterinary Journal* 5, 2, 154-157.
- Kronfeld D. (2003). Equine Syndrome X, the metabolic disease and Equine Grain-Associated Disorders: nomenclature and dietetics. *Journal of Equine Veterinary Science* 23, 12, 567- 569.
- Kronfeld DS, Staniar WB, Williams CA. (2001). Fat and fiber feeds avoid 'equine syndrome X.' In: *Proceedings American Academy Veterinary Nutritionists 2001*, 15-16.
- Lewis S.L., Holl H.M., Streeter C., Posbergh C., Schanbacher B.J., Place N.J., Mallicote M.F., Long M.T., Brooks S.A.. (2017). Genomewide association study reveals a risk locus for equine metabolic syndrome in the Arabian horse. *Journal of Animal Science* 95, 3, 1071-1079.
- Liburt N.R., Fugaro M.N., Wunderlich E.K., Zambito J.L., Horohov D.W., Betancourt A., Boston R.C., McKeever K.H., Geor R.J. (2011). The effect of exercise training on insulin sensitivity and fat and muscle tissue cytokine profiles of old and young standardbred mares. *Journal of Equine Veterinary Science* 31, 5, 237-238.
- Mann S., Beedie C., Balducci S., Zanuso S., Allgrove J., Bertiato F., Jimenez A. (2014). Changes in insulin sensitivity in response to different modalities of exercise: a review of the evidence. *Diabetes / Metabolism Research and Reviews* 30, 4, 257-268.
- McCue M., Geor R., Schulz N. (2015). Equine Metabolic Syndrome: a complex disease influenced by genetics and the environment. *Journal of Equine Veterinary Science* 35, 367-375.
- Menzies-Gow NJ, Harris PA, Elliott J. (2017). Prospective cohort study evaluating risk factors for the development of pasture-associated laminitis in the United Kingdom. *Equine Veterinary Journal* 49, 3, 300-306.
- Morgan R.A., McGowan T.W., McGowan C.M. (2014). Prevalence and risk factors for hyperinsulinaemia in ponies in Queensland, Australia. *Australian Veterinary Journal* 92, 4, 101-106.
- Muno J., Gallatin L., Geor R., Belknap J., Hinchcliff K. (2009). Prevalence and risk factors for hyperinsulinaemia in clinically normal horses in central Ohio. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 3, 721.
- Pleasant R.S., Suagee J.K., Thatcher C.D., Elvinger F., Geor R.J. (2013). Adiposity, plasma insulin, leptin, lipids, and oxidative stress in mature light breed horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27, 3, 576-582.
- Rapson J. L., Schott H. C., Nielsen B. D., McCutcheon L. J., Harris P. A., Geor R. J. (2018). Effects of age and diet on glucose and insulin dynamics in the horse. *Equine Veterinary Journal* 50, 5, 690-696.
- Rendle D.I., Rutledge F., Hughes K.J., Heller J., Durham A.E. (2013). Effects of metformin hydrochloride on blood glucose and insulin responses to oral dextrose in horses. *Equine Veterinary Journal* 45, 6, 751-754.
- Schuver A., Frank N., Chameroy K.A., Elliott S.B. (2014). Assessment of insulin and glucose dynamics by using an oral sugar test in horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 34, 4, 465-470.
- Smith S., Harris P.A., Menzies-Gow N.J. (2016). Comparison of the in-feed glucose test and the oral sugar test. *Equine Veterinary Journal* 48, 2, 224-227.
- Toth F., Frank N., Martin-Jimenez T., Elliott S.B., Geor R.J., Boston R.C. (2010). Measurement of C-peptide concentrations and responses to somatostatin, glucose infusion, and insulin resistance in horses. *Equine Veterinary Journal* 42, 2, 149-155.
- Van Weyenberg S., Buyse J., Kalmar I.D., Swennen Q., Janssens G.P. (2013). Voluntary feed intake and leptin sensitivity in ad libitum fed obese ponies following a period of restricted feeding: a pilot study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 97, 4, 624-631.
- World Health Organization (1999). *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications*. <http://www.who.int/iris/handle/10665/66040>

Uit de beginjaren van de vilbeluiken Parijs, eind 19^e eeuw

J. De Smet

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

j-desmet@skynet.be

SAMENVATTING

Aan de hand van een Franse monografie wordt een idee gegeven van de abominabele toestanden die in de 19^{de} eeuw heersten in de grootstad Parijs betreffende het wegruimen en verwerken van dierenkrenge, in die tijd vooral paarden. Er mag geconcludeerd worden dat de Parijse vilbeluiken anno 1897 absoluut niet voldeden, noch voor wat betreft de volksgezondheid, noch voor het verhinderen van besmettingsgevaar voor andere huisdieren. Dit wordt in een naschrift aangevuld met enkele van de schaarse gegevens over Belgische toestanden en wetgeving daterend uit het begin van de vorige eeuw.

Naar 'Des Clos d'Equarrissage' (1897) door Theophile Alphonse Morel, vétérinaire sanitaire du Département de la Seine (Collectie Diergeneeskundig Verleden, Faculteit Diergeneeskunde, Merelbeke. Vertaling en bewerking door Johan De Smet).

INLEIDING

Paarden waren in Europa lange tijd de enige grote huisdieren waarvan het vlees niet geconsumeerd werd. Eeuwenlang gold bij ons een taboe op hippofagie (het eten van paardenvlees), een taboe dat in sommige landen en bij sommige mensen nog steeds doorwerkt. In de eerste helft van de 19^{de} eeuw werden in grote steden, zoals Parijs, vilbeluiken ingericht. Vanaf de tweede helft van dezelfde eeuw werd het eten van paardenvlees sterk gepromoot, vooral in Frankrijk, iets wat zijn weerslag vond in België. Het was een middel om de talrijke 'uitgediende' zware trekpaarden te valoriseren. Daartoe werden abattoirs *hippophagiques* ingericht (verordening van 1866 omtrent hippofagie). Vóór de opkomst van deze paardenslachthuizen waren de vilbeluiken of *clos d'équarrissage* (van *équarrir*: in kwartieren verdelen en *clos*: afgesloten ruimte; in het Nederlands: beluik) de enige plekken waar men terecht kon met zieke, oude of overtollige paarden. Geleidelijk aan kwamen er ook andere dieren, vooral runderen en ook gevangen zwerfhonden en -katten, terecht.

WERKWIJZE

Paarden werden daar de schedel ingeslagen met een zware hamer op lange steel (Figuur 1). Zaak was

precies te mikken tussen de twee *cristae temporales*, anders was het paard niet dood en moest overgegaan worden tot *énuçage* (het doorsnijden van het verlengde merg tussen het os occipitale en de atlas). Uiteraard werden in het vilbeluik ook krenge aanvaard, evenals andere diersoorten. Runderen die niet voor



Figuur 1. Het doodslaan van een paard was millimeterwerk: moest met volle kracht gebeuren, maar toch heel precies op een welbepaalde zwakke plaats in de schedel (uit *Larousse du XXI^{ème} Siècle*).

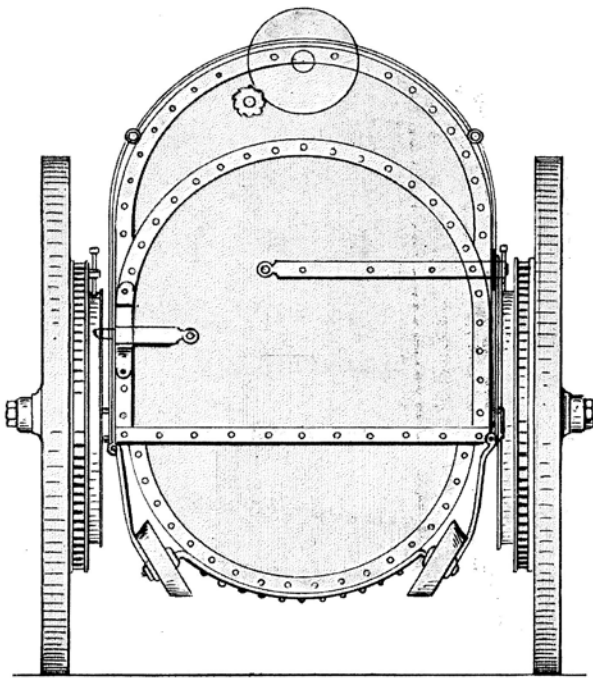


Fig. IV

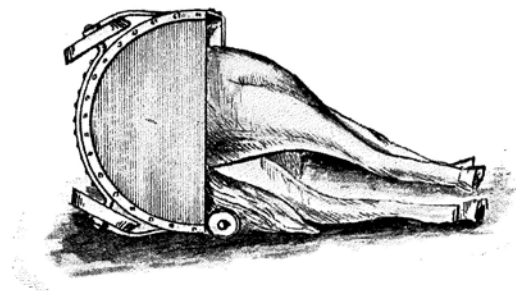
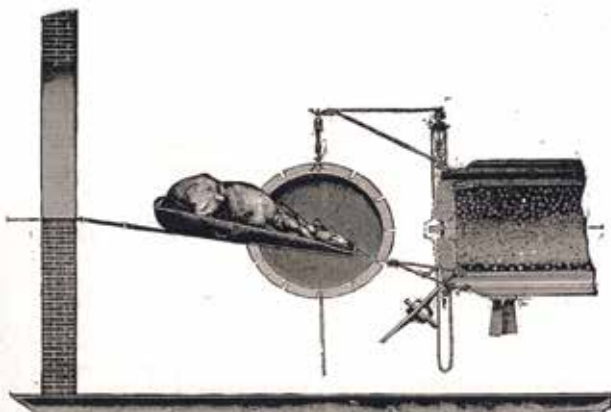


Fig. V

Figuur 2. Opladen en vervoer van zware kadavers in gesloten kar. De vilbeluikkar, met vooral paardenkadavers, werd getrokken door ... paarden. Uit: Rulot H. (1912). *Les Clos d'Equarrissage*. Van Buggenhoudt, Brussel, p. 3 Annexe.



Figuur 3. Een paardenkadaver wordt langs een hellend vlak in de kookketel (sterilisator) geschoven. Uit: *Des Clos d'Equarrissage* van A. Morel (1897).

het slachthuis bestemd waren, ondergingen een gelijkaardig lot, honden werden opgehangen (*les chiens sont très difficiles à tuer*, aldus Theophile Alphonse Morel, schrijver van *Des Clos d'Equarrissage*) en katten werden gewoon verdrinken.

Eertijds werden ook veelvuldig krenge op een open kar naar het vilbeluik gebracht. Later werden ophaaldiensten ingericht. Vanaf 1830 werd in Parijs een gesloten, overdekt vervoermiddel verplicht gesteld, dat groot genoeg moest zijn om vier paardenlijken te transporteren (Figuur 2). De locatie van het bedrijf moest erop vermeld staan, de voerman mocht geen hond bij zich hebben en de voertuigen van het vilbeluik mochten niet aangetroffen worden voor een café. Er waren ook aangepaste vaartuigen om dagelijks de vele krenge op te pikken die in die tijd in de Seine dreven. Ze waren er gewoon in gedumpt.

Na aankomst in het vilbeluik verwijderde men eerst de manen en de staart. Die werden gewassen en gedroogd, want ze waren een gegeerde grondstof voor de industrie: men maakte er penselen van, vislijnen en strijkstocken. Vervolgens werden de kadavers gevild. De huiden werden met zout ingestreken, om te gepasten tijde aan de leerlooierijen geleverd te worden. Van bedorven huiden kon nog lijm gemaakt worden, en de honden- en kattenvellen werden aan een rek gedroogd. In vroegere tijden waren enkel de huiden bruikbaar. Het vlees werd aan de honden gegeven of de karkassen werden gedolven, vermengd met de inhoud van de mesthoop en met kalk. Enkele maanden later werden de resten weer opgegraven om samen met de omgevende aarde als compost gebruikt te worden. Dit uit het Latijn afgeleide woord betekent eigenlijk niets anders dan 'samengesteld', mengsel dus.

Halfweg de 18^{de} eeuw begon men het vet uit de karkassen te recupereren voor gebruik in de lantaarns (roetkaarsen) en als smeermiddel voor de karrenwielen. In de vilbeluiken werden kookketels geïnstalleerd, aanvankelijk in open lucht, later in een gesloten systeem waarbij de kwalijke dampen mee verbrand werden. In de 19^{de} eeuw werd zwavelzuur toegevoegd aan het water waarin de krenge gekookt werden (een halve liter zuur per vijftig liter water). De kookketels hadden een capaciteit van vier tot tien in stukken gesneden paardenkadavers en werden hermetisch afgesloten. Met een zacht vuurtje onder de ketel nam het kookproces een twaalftal uur in beslag (Figuur 3). Het vet werd vervolgens afgeschept en in vaten opgeslagen. De schoorsteen van het vilbeluik moest vijftien tot dertig meter hoog zijn, afhankelijk van de afstand tot de bewoning. Tegen het einde van de 19^{de} eeuw werd het mogelijk om de karkassen met stoom te koken in autoclaven. Het kookproces werd hierdoor enkele uren ingekort.

Het 'kookvocht' liep via een afvoergoot naar een waterloop. Waar dit niet mogelijk was, moest de vloeistof opgeslagen worden in containers, wat een hele belasting betekende voor het vilbeluik in kwestie. Soms konden de uitbaters dit stinkend goedje

verkopen om er de naburige aardappelvelden mee te bemesten. De gekookte stukken vlees werden vervolgens gedroogd en uiteindelijk omgezet tot een poeder met 11 à 12 % stikstof, dat als meststof gebruikt kon worden. Bloed in de krenge kon uiteraard niet gerecupereerd worden. Het bloed van geslachte paarden werd vermengd met maag- en darminhoud om er compost van te maken. Ook dit veroorzaakte heel wat geurhinder. De mest werd op een mesthoop gestort, die periodisch afgevoerd werd, na ontsmetting met ijzersulfaat.

Wanneer besmettelijke ziekten als malleus of miltvuur vastgesteld of vermoed werden, moesten de krenge koud opgelost worden in zwavelzuur van gemiddelde concentratie, een proces dat binnen de 24 à 48 uur afgelopen was. Na het mengen met calciumfosfaat leverde dit een uitstekende meststof op. Door onwetendheid of kwaad opzet werd die verplichting echter vaak omzeild, zodat besmette krenge toch in stukken gehakt werden en in de kookketel terecht kwamen. Dat de controle in de vilbeluiken ontoereikend was, speelde hierin zeker mee.

OVERLAST EN GEVAAR

De hele procedure, vanaf de aanvoer tot en met het droogproces, bracht veel stank met zich mee en bovendien was brandgevaar niet denkbeeldig. De stank die vooral in de zomermaanden door de vilbeluiken verspreid werd, was legendarisch. Treinreizigers in naburige stations werden bevangen door de kwalijke geur en het verhaal deed de ronde dat paarden trekdienst weigerden als ze langs een vilbeluik passeerden. Het krioelde er van de vliegen en sommige vilbeluikuitbaters zetten zelfs een handeltje op met de maden als lokaas voor de vissers. Ook ratten tierden welig in de vilbeluiken. De werknemers jaagden erop met de bedoeling de vellen te verkopen. Algemeen werd echter aangenomen dat er geen gevaar was voor de volksgezondheid.

In die tijd moest er al op toegezien worden dat de destructievetten niet in de humane of dierlijke consumptie terecht kwamen. Denaturatie met terpentijn, creoline, fenyl- of carbolzuur en petroleum was weliswaar voorgeschreven maar dit gebeurde nauwelijks. Vlees mocht het vilbeluik enkel verlaten in de vorm van droge meststof, maar de consumptie van goedkoop vlees uit de vilbeluiken was in die dagen algemeen. De werknemers aten van het vlees, dat ze soms klaarmaakten in de olie die uit de kookketels liep. Ze namen het gratis vlees ook mee naar huis voor hun gezin en sommigen dreven er zelfs handel in. Dit vlees kon potentieel besmet zijn met miltvuur, malleus, tuberculose of rabiës. Men meende dat het koken van het vlees en de inwerking van het maagzuur alle micro-organismen doodden. Toen de wetgeving strenger werd, kregen de uitbaters van een vilbeluik het verbod opgelegd om tegelijk handel te drijven in vlees voor menselijke consumptie.

In de medische en veterinaire literatuur uit die tijd staan veel gevallen met dodelijke afloop beschreven. Ook werd het gevaar onderkend van vlees afkomstig van dieren met typhoïde aandoeningen, enteritis, pneumonie, puerperale metritis, purulente artritis en pyemie, en er werd gewaarschuwd voor het zich in rottende kadavers opstapelende geheimzinnige 'lij-kengif', 'ptomaïne', en voor de ontwikkeling van botulisme in vleesbereidingen. Karkassen die niet of slecht uitgebloed waren, vormden een groot risico, evenals het vlees van dieren die behandeld waren met arsenicum of met kwikverbindingen of die drager waren van parasieten als *Taenia*, *Echinococcus* of trichinen.

Bij het onthuiden en versnijden van de krenge en bij het vullen van de kookketels met stukken vlees liepen de arbeiders kans op een infectie met miltvuur (*le charbon*). Schaafwonden en kwetsuren door beensplinters waren hierbij een groter probleem dan diepe snijwonden waar het bloed uitstroomde. Ook voor de veeartsen, die in het kader van de opsporing van besmettelijke ziekten autopsies uitvoerden, was het gevaar groot. Meestal maakten de arbeiders zich niet druk om een snijwonde meer of minder, maar in de literatuur worden gevallen beschreven van langdurige ziekte en dood. In mindere mate kregen de werknemers te maken met tetanus, actinomycose, huidaandoeningen en schurft.

Ook malleus was een probleem voor de arbeiders en voor de veeartsen. Bij het openen van de kop van de paarden om de typische letsels op te sporen, kon een kwetsuur door een beensplinter soms ernstige gevolgen hebben. Het ziekteverloop was meestal dodelijk, met multiële abcessen (*ulcères du farcin*), flebitis en lymfangitis. Farcin is de huidvorm van kwade droes (Frans: *la morve*). Typisch ook waren de letsels in de longen (*nodules morveux*). Die kwamen eveneens bij paarden voor maar soms waren ze al verkalkt en naar verluidt minder gevaarlijk. De opgelopen wonde ontsmetten met ammoniak of chloorkalk hielp niet en ook zilvernitraat bleek niet efficiënt. Er werd behandeld met cresol 5 %, fenyl- of carbolzuur 2 % en joodtinctuur, ook met kaliumpermanganaat 1 % en natriumhyposulfaat aangelengd met zoutzuur. En maar al te vaak was de meest afdoende behandeling cauterisatie met een gloeiend ijzer! De wet liet de verwerking van de huiden van malleuspaarden toe na desinfectie. In geval van multiële farcineuze letsels mocht het paard niet gevild worden en ging het kadaver met de huid en al de kookketel in.

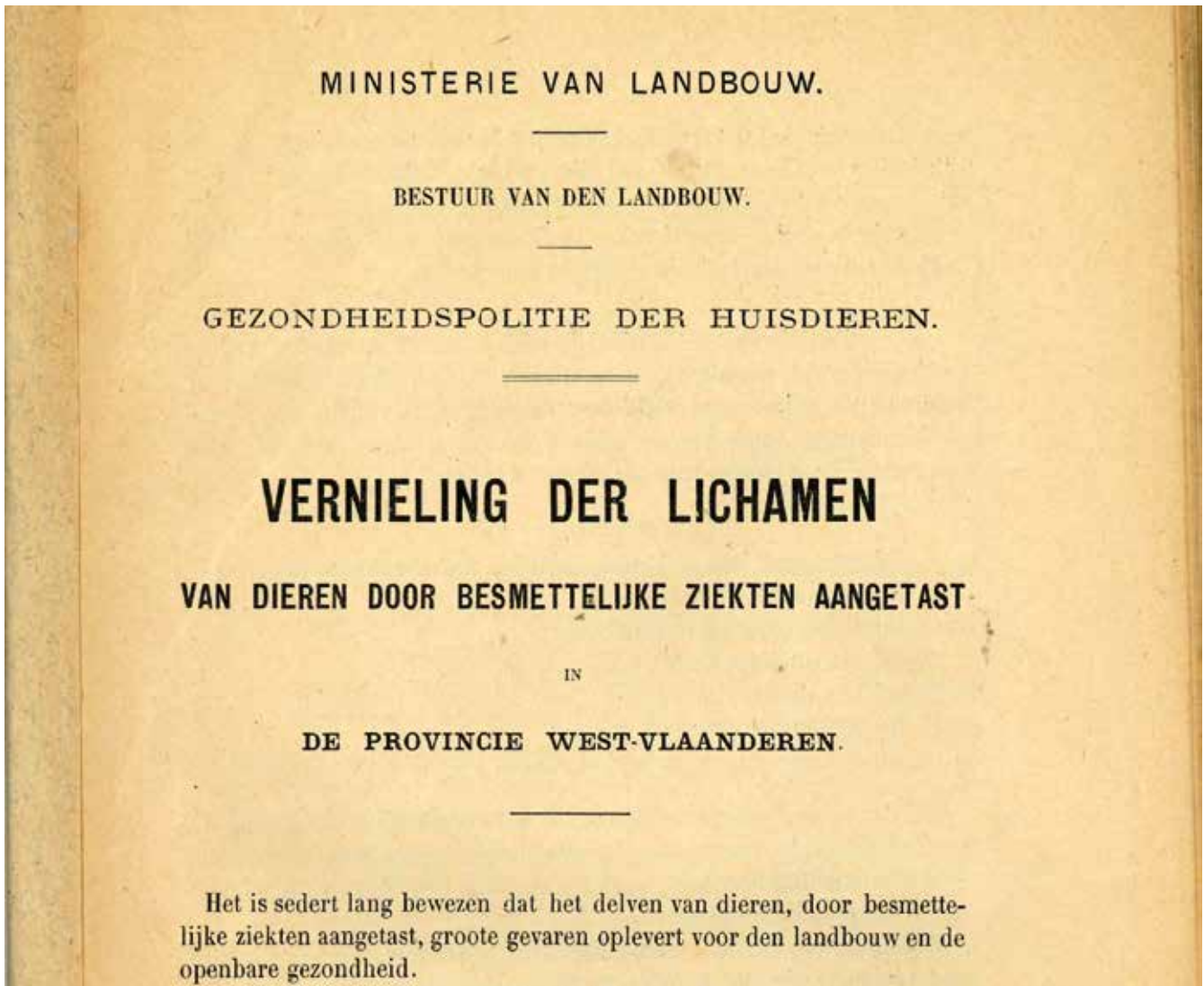
Bij de aanvoer van tuberculeuze dieren en krenge was er meldingsplicht, maar dit werd dikwijls niet opgevolgd. Besmetting met rabiës trad op bij de manipulatie van aangetaste dieren, en wat de veeartsen betreft, bij de autopsie van zwerfhonden en -katten. Er werd daarom aangeraden de dieren niet aan te raken en meteen naar het zwavelzuurbad af te voeren. Het was ook gevaarlijk varkens, honden of kippen vrij te laten rondlopen in de vilbeluiken: varkens konden er

mond-en-klauwzeer, miltvuur, tuberculose en gortigheid (besmet met vinnen: *Taenia solium*, echinococose) oplopen. Honden waren gevoelig voor tuberculose en *Echinococcus*, kippen en duiven voor tuberculose. De paarden die de karren van het vilbeluik trokken, maakten dan weer kans op malleus.

Een indrukwekkende catalogoog van gevaren. Van daar dat de hierboven beschreven ontsmettingsprocedures absoluut noodzakelijk waren en dat Theophile Alphonse Morel, erop aandrong dat de werknemers van het vilbeluik andere kleren zouden aantrekken alvorens naar huis te gaan. Bovendien moesten ze hun handen wassen met cresolhoudende zeep, 2 % fenyl- of carbolzuur, creoline of lysol. In geval van kwetsuren moesten ze de wonde spoelen met cresolhoudend water, goed doen bloeden en desnoods cauteriseren met een gloeiend ijzer (!). Een kleine apotheekkast in het lokaal van de ploegbaas of meesterknecht en een kantoortje voor de toezichthoudende veearts in het

vilbeluik waren volgens de auteur geen overbodige luxe.

Hoewel het toezicht op de vilbeluiken in Frankrijk al geregeld werd in de wet van 21 juli 1881 bleef de controle een heikel punt. De veearts kon niet de hele dag aanwezig zijn en het vilbeluik verloor niet graag klanten. Toen de vilbeluiken van de Seine nog maar gemiddeld zes tot tien paarden per dag binnenkregen en er steeds minder dieren aangeboden werden met besmettelijke ziekten, bleek dat het gros van de dieren in vilbeluiken van naburige departementen beland was, waar nog minder reglementering gold. Om de controlerende veearts te misleiden, werden bij malleus de longen vaak verwijderd en vervangen door longen van een ander paard. Het was ook niet mogelijk om in elk vilbeluik een laboratorium voor onderzoek op miltvuur te installeren. De schrijver stelde zich de vraag of er geen groot departementaal vilbeluik kon opgericht worden onder toezicht van de overheid.



Figuur 4. Aanzet tot reglementering (1903) wat betreft de 'vernietiging der lichamen' (*destruction des cadavres*) van door besmettelijke ziekten aangetaste dieren in West-Vlaanderen (Museumcollectie Diergeneeskundig Verleden, Merelbeke).

Elke uitbater zou over een eigen slachtstand beschikken, zoals in de slachthuizen van Parijs. Een oproep dus om nationaal verplichte procedures in te stellen en de nodige wetgevende maatregelen te treffen.

NASCHRIFT: SITUATIE IN BELGIË

Meer specifiek voor onze streken nog volgende gegevens. Ook hier was het delven van kadavers lang algemeen verspreid. Men streefde er echter naar dit organisch materiaal te gebruiken voor bemesting. In Brabantse dialecten was de term hechthoop in gebruik voor de hierboven beschreven stapels van slachtafval van paarden, vermengd met ander organisch materiaal, aangewend voor de bemesting van akkers. Een hecht was een oud afgeleefd paard (Lindemans, 1952).

De paardenkerkhoven, nog doorlevend als plaatsnaam in meerdere Vlaamse en Brabantse gemeenten, hebben wellicht te maken met vilderijen – vilbeluiken *avant la lettre* – met bijhorende hechthopen (Devriese, 2013). Het woord vilbeluik betekent afgesloten ruimte (denk aan ‘beloken’) waarin afgeleefde paarden, en later ook andere dieren, eerst en vooral gevild werden om de huiden, het meest waardevolle onderdeel, te recupereren.

In België was de Wet van 30 december 1882 op de gezondheidspolitie der huisdieren van kracht, waarbij het delven van dieren gestorven aan een besmettelijke ziekte, nog gedoogd werd. Die wet werd echter gewijzigd door het Koninklijk Besluit van 31 december 1900, waarbij het delven verboden werd in volgende gevallen: snot (*morve*) en ‘worm’ (*farcin*) bij paard, ezel en muilezel; besmettelijke longziekte (pleuropneumonie) bij runderen; runderpest bij herkauwers; tuberculose bij runderen; koolziekte (*charbon*) bij runderen, paarden en schapen (miltvuur); schaapspokken (*clavelée*) bij schapen. Bij Ministerieel Besluit van 3 januari 1903 werden daar nog aan toegevoegd: tuberculose bij varkens en razernij bij eenhoevigen, herkauwers en varkens (Figuur 4).

De vernietiging van deze dieren in een erkend vilbeluik zonder kosten voor de eigenaar werd verplicht gesteld en dit binnen een bepaalde termijn na de dood. Met het oog op het vervoer moesten de krennen met een ‘bederfwerende oplossing’ besproeid worden. De vernietiging geschiedde in een autoclaaf. De Staat kende een vergoeding toe volgens gewicht van het dier, tenzij er stukken ontbraken. Een uitzondering werd soms gemaakt voor de huid, zoals bij runderen in geval van besmettelijke longziekte en tuberculose. In geval van koolziekte, snot of worm, razernij en kwaadaardige schaapspokken mochten de dieren niet gevild worden. Voor de toepassing van dit besluit waren de burgemeesters, de veeartsen en de inspecteur-veearts van de omschrijving bevoegd. De laatstgenoemde was bovendien de enige die mocht optreden in gevallen van rundertuberculose: volgens de vigerende wetgeving kon dit vlees immers vrijgegeven worden na sterilisatie.

In 1901 was het delven al verboden in bepaalde delen van Brabant en Henegouwen, gevolgd door heel West-Vlaanderen (Anoniem, 1903). Voor die provincie was het vilbeluik in Torhout bevoegd. Gelijkaardige vilbeluiken werden opgericht in de andere provincies. De geschiedenis van de uiterst nuttige instellingen en hun opvolger Rendac in Denderleeuw is nog onontgonnen terrein.

REFERENTIES

- Anoniem (1903). Vernieling der lichamen van dieren in de provincie West-Vlaanderen. *Regelende Schikkingen*. Weissenbruch, Brussel, 1-14.
- Devriese, L., (2013). Vlees eten mag dat wel? Voorgeschiedenis van het hedendaagse vegetarisme. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 82, 283- 297.
- Lindemans, P., (1952). *Geschiedenis van de Landbouw in België*. De Sikkel, Antwerpen, deel I, 68 en 91.
- Morel, A. (1897). *Des Clos d'Equarrissage*, 1. Rulot H. (1912). *Les Clos d'Equarrissage*. Van Buggenhoudt, Brussel, p. 3 Annexe.

THERAPIE BIJ *ESCHERICHIA COLI*-MASTITIS BIJ MELKVEE

VRAAG

Bij erge Coli-mastitis gebeurt het dat de koe niet meer recht kan door shock en intoxicatie. De koe blijft na therapie dikwijls wel leven maar komt in nogal wat gevallen nooit meer recht, ook niet na bijvoorbeeld meer dan tien dagen, waardoor euthanasie alsnog de enige mogelijkheid is. Therapie gebeurt met antibiotica en NSAIDS, eventueel bijkomend met 2,5 liter hypertone zoutoplossing IV in de ergste gevallen. Is er een verklaring waarom sommige dieren na Coli-mastitis nooit meer rechkomen, ook al eten ze opnieuw en zijn ze “hersteld”? Zijn er therapeutische mogelijkheden om dit te voorkomen?

ANTWOORD

Escherichia coli (*E. coli*) veroorzaakt een milde tot (hyper-) acute uierontsteking, waarbij de koe erg ziek kan zijn. De aandoening kan shock en zelfs sterfte veroorzaken. De ergheid van de symptomen is vooral afhankelijk van koegebonden factoren, zoals de inflammatoire reactie en metabole status van het dier en minder van de pathogeen zelf. *E. coli* wordt hoofdzakelijk overgedragen van de omgeving naar de uier. Het is een opportunistische kiem die niet geadapted is om te overleven in de gastheer en veroorzaakt voornamelijk problemen bij koeien met een verminderde weerstand (Bradley, 2002; Burvenich et al., 2007).

Bij een ernstig verloop van *E. coli*-mastitis zal (uitgebreide) weefselschade ontstaan. De kiem veroorzaakt epitheel schade aan de tepel- en uiercysterne en via de melkgangen schade aan de melkproducerende epitheelcellen. Dit gaat gepaard met verlies van melkproductie van het volledige kwartier of zelfs van de koe (Burvenich et al., 2003). Septikemie wordt beschreven in 32% tot 75% van de gevallen (Katholm en Anderson, 1992; Cebra et al., 1996; Wenz et al., 2001). De schade wordt veroorzaakt door een abnormale regulatie van normale afweerreacties (Sordillo et al., 2009). Ondanks herstel van de eetlust en de penswerking is een volledig herstel van de koe na het verdwijnen van de proinflammatoire cytokinen, enkel mogelijk bij minimale weefselschade. De prognose daalt eveneens bij ernstigere gastheerschade, zoals een gecompliceerde leverfunctie, “downercow”-syndroom of diffuse intravasculaire coagulopathie (Burvenich et al., 2003; Hagiwara et al., 2014).

Mastitis ten gevolge van *E. coli* kan ondanks een intensieve therapie toch fataal aflopen. Systemische antimicrobiële therapie kan toegediend worden bij een vermoeden of ter preventie van bacteriëmie (Wenz et al., 2001). De symptomen worden voornamelijk

veroorzaakt door endotoxinen (LPS), waardoor ondersteunende therapie doorslaggevend wordt. Vroegtijdig gebruik van anti-inflammatoire middelen, zoals NSAID's (of corticosteroïden), is aangeraden (Burvenich et al., 2003; Erskine et al., 2003). De koe dient bij voorkeur om de twee uur te worden leeggemolken, eventueel na toediening van oxytocine om endotoxinen en ontstekingsmediatoren uit het aangetaste kwartier te verwijderen (Suojala et al., 2010). Bij shockverschijnselen is infuustherapie van een hypertone zoutoplossing aangewezen samen met orale rehydratie (Constable, 2003). Dehydratie (met verhoogde hematocriet- en bloedureum-stikstofconcentraties) is geassocieerd met een hoge mortaliteit (Hagiwara et al., 2014). De ernst van *E. coli*-mastitis wordt, zoals vermeld, voornamelijk beïnvloed door koefactoren, zoals de lactatiestatus, pariteit, nutritionele en metabole status (Burvenich et al., 2003). Tijdens de periode rond de kalving werkt het immuunsysteem suboptimaal, waardoor de koe een sterk verhoogde gevoeligheid voor ziekten, zoals (*E. coli*) mastitis, vertoont. Een abnormale regulatie van het immuunsysteem kan getriggerd worden door veranderingen in het vetmetabolisme, een verhoogde toevoer van vetzuren en oxidatieve stress (Sordillo et al., 2009). Koeien met een verminderde leverfunctie (bijvoorbeeld leververvetting en ketonemie) hebben een verminderde LPS-detoxicatie (Hagiwara et al., 2014). Bovenstaande factoren hebben een negatieve invloed op de snelheid van de influx van neutrofielen en hun fagocytosecapaciteit terwijl ze een cruciale factor vormen in het al dan niet milde of ernstige verloop van *E. coli*-mastitis (Burvenich et al., 2003). In recent onderzoek werd aangetoond dat het aantal circulerende neutrofielen verhoogd kan worden door de toediening van bovine, granulocytkolonie-stimulerende factor (bG-CSF) (Hassfurth et al., 2014). Vaccineren zorgt voor een snellere en effectievere humorale respons, waardoor de ernst van de klinische symptomen gereduceerd wordt (Hogan et al., 1992).

REFERENTIES

- Bradley A.J. (2002). Bovine mastitis: An evolving disease. *The Veterinary Journal* 164, 116-128.
- Burvenich C., Van Merris V., Mehrzad J., Diez-Fraile A., Duchateau L. (2003). Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary Research* 34, 521-564.
- Burvenich C., Bannerman D.D., Lippolis J.D., Peelman L., Nonnecke B.J., Kehrl M.E. Jr, Paape M.J. (2007). Cumulative physiological events influence the inflammatory response of the bovine udder to *Escherichia coli* infections during the transition period. *Journal of Dairy Science* 90, 39-54.

- Cebra C.K., Garry F.B., Dinsmore R.P. (1996). Naturally occurring acute coliform mastitis in Holstein cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 10, 252-257.
- Constable P.D. (2003). Fluid and electrolyte therapy in ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 19, 557-597.
- Erskine R.J., Wagner S., DeGraves F.J. (2003). Mastitis therapy and pharmacology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 19, 109-138.
- Hagiwara S., Mori K., Okada H., Oikawa S., Nagahata H. (2014). Acute *Escherichia coli* mastitis in dairy Cattle: diagnostic parameters associated with poor prognosis. *Journal of Veterinary Medicine* 76, 1431-1436.
- Hassfurth R.L., TerHune T.N., Canning P.C. (2015). Efficacy of polyethylene glycol-conjugated bovine granulocyte colony-stimulating factor for reducing the incidence of naturally occurring clinical mastitis in periparturient dairy cows and heifers. *American Journal of Veterinary Research* 76, 231-238.
- Hogan J.S., Smith K.L., Todhunter D.A., Schoenberger P.S. (1992). Field trial to determine efficacy of an *Escherichia coli* J5 mastitis vaccine. *Journal of Dairy Science* 75, 78-84.
- Katholm J., Andersen P.H. (1992). Acute coliform mastitis in dairy cows: Endotoxin and biochemical changes in plasma and colony-forming units in milk. *Veterinary Record* 131, 513-514.
- Long E., Capuco A.V., Wood D.L., Sonstegard T., Tomita G., Paape M.J., Zhao X. (2001). *Escherichia coli* induces apoptosis and proliferation of mammary cells. *Cell Death and Differentiation* 8, 808-816.
- Sordillo L.M., Contreras G.A., Aitken S.L. (2009). Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Animal Health Research Reviews* 10, 53-63.
- Suojala L., Simojoki H., Mustonen K., Kaartinen L., Pyörala S. (2010). Efficacy of enrofloxacin in the treatment of naturally occurring acute clinical *Escherichia coli* mastitis. *Journal of Dairy Science* 93, 1960-1969.
- Wenz J.R., Barrington G.M., Garry F.B., McSweeney K.D., Dinsmore R.P., Goodell G., Callan R.J. (2001). Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 219, 976-981.

Drs. A. Wuytack en Prof. dr. S. De Vliegher
M-team en Onderzoeksgroep Mastitis en
Melkkwaliteit,
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Uit het verleden

PELGRIMKIP

Een eigenaardig gebruik in het West-Vlaamse Kachtem (Izegem) bestond er in een kip te offeren aan Sint-Johannes de Doper, patroon tegen de ‘vallende ziekte’ (stuipen) van mens en dier (vooral varkens en kippen). Gewoonlijk ‘kocht’ men het dier terug, liet het geld aan de kerk en trok met de kip naar huis. Men liet ze op de hoeve rondlopen tot ze een natuurlijke dood stierf. De hen, ‘Pelgrim’ genoemd, bezat vanaf het moment van het offeren tot haar dood de eigenschap de gevreesde stuipen van het neerhof te houden.

Naar: De Cock, A. (1894), *Volksgeneeskunde in Vlaanderen*, Gent, Siffer.

Luc Devriese

BOURGONDISCHE PRINSESSEN BESCHERMD TEGEN HONDENVLOOIEN (1467)

Middeleeuwse kastelen en prinselijke verblijven waren, naar onze normen, allesbehalve comfortabel. In een bijdrage over het Gentse Prinsenhof, het Hof ten Walle, dicht bij de vroegere Veeartsenijschool, lezen we hoe er strijd geleverd werd tegen ratten en vlooiën. Zo moesten de bedden in de verschillende residenties van hertogin Maria van Bourgondië beschermd worden tegen honden ... en hondenvlooiën.

‘Vlooiën waren een terugkerend probleem. Deze beestjes huisden niet alleen in de pels van ratten, maar uiteraard ook in de vacht van de honden. Men hoeft er slechts een boek over laatmiddeleeuwse miniaturen op na te slaan om te beseffen hoeveel honden en hondjes van de meest diverse modellen er in een Bourgondisch interieur rondliepen. Maar zij waren niet overal welkom. Op het bed van Maria werd bijvoorbeeld in 1467 een groot houten traliewerk gelegd pour icellui preserver des chiens pour les puches. Het is maar de vraag of dit de honden werkelijk belette op het bed te springen en er hun vlooiën achter te laten. Regelmatig werden de hekwerken op de bedden in de kamer van de prinses terug in orde gebracht. Ook hertogin Margareta van York liet in dat jaar een dergelijke uitrusting op haar bed aanbrengen. Kennelijk was men erg bevreesd voor de honden in hun twijfelachtige kwaliteit als vlooiëndragers waarnaar de woorden vlooiën, honden en bedden van het gekende Vlaamse gezegde verwijzen.’

Citaat uit: Lievois, D., Haemers, J. (2015). Maria van Bourgondië in Hof ten Walle. Over een jonge prinses en haar Gentse residentie (1465 – 1475). *Handelingen der Maatschappij voor Geschiedenis en Oudheidkunde te Gent* 68, 162.

Luc Devriese

*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.

www.eickemeyer.nl

TELEFOON +31 (0) 345 - 589400

X-Ray VERACHTERT Digital nv

Medische beeldvorming sinds 1979

AGFA 
HealthCare

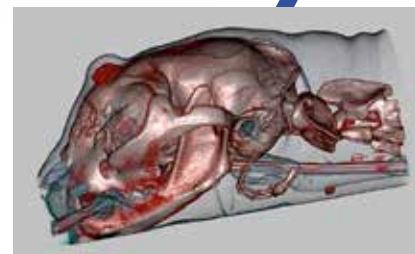
MUSICA



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