

# Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

JULI-AUGUSTUS 2017

VOL. 86 - NR. 4

VERSCHEIJNT 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

- 
- O Microplastics**
  - O Welzijn van in gevangenschap gehouden Betta splendens**
  - O Effect van arbeid op de spierontwikkeling bij het paard**
  - O Schedelreconstructie bij een hond met osteochondrosaroom**
  - O Feochromocytoma bij een paard**
  - O Spontane hypothyreoïdie bij een kat**
  - O Hoefbeslag bij paarden**

# Er is maar één EPRINEX®



...en dat is **EPRINEX®**

Effectieve bestrijding van inwendige parasieten met EPRINEX kan leiden tot:

- **stijging melkproductie**<sup>1</sup>
- **verhoging voeropname**<sup>2</sup>
- **positieve invloed op de vruchtbaarheid**<sup>3, 4</sup>

<sup>1</sup> McPherson W.B. *et al.*, (2001) Effect of a peri-parturient eprinomectin treatment of dairy cows on milk production. *NZ Vet. Journal* 49, 106-110. <sup>2</sup> Forbes *et al.*, (2004). Impact of eprinomectin on grazing behaviour and performance in dairy cattle with sub-clinical gastrointestinal nematode infections under continuous stocking management. *Vet. Parasitology* 125, 353-364. <sup>3</sup> J. Sanchez *et al.*, (2002) The effect of eprinomectin treatment at calving on reproduction parameters in adult dairy cows in Canada. *Preventive Veterinary Medicine* 56(2):165-77. <sup>4</sup> McPherson W.B. *et al.*, (1999). The impact of eprinomectin treatment on dairy cattle reproductive performance. *Proc AAVP, 44th Annual Meeting*, New Orleans, USA. Abstract 28. **EPRINEX® Pour-On** (eprinomectine 5 mg/ml). **Doel diersoort:** vlees- en melkvee, inclusief deze in lactatie. **Indicaties:** Effectieve behandeling en bestrijding van maagdarmparasieten (volwassen en L4-larven), longwormen (volwassen en L4), runderhorzellarven (parasitaire stadia), zuigende luizen, bijtende luizen, *Chorioptes*- en *Sarcoptes*-schurftmijten en hoornvliegen (lees de bijsluiter voor gebruik voor de volledige informatie). Om optimale resultaten te verkrijgen zou EPRINEX Pour-On moeten toegepast worden in een structureel bestrijdingsprogramma van zowel inwendige als uitwendige parasieten, gebaseerd op de epidemiologie van deze parasieten. **Contra-indicaties:** uitsluitend bestemd voor toepassing op de huid van vlees- en melkvee, inclusief deze in lactatie. Niet gebruiken bij andere diersoorten. Niet oraal of parenteraal toedienen. **Bijwerkingen:** geen waargenomen wanneer het product wordt gebruikt aan de aanbevolen dosering. **Dosering:** 0,5 mg eprinomectine per kg lichaamsgewicht, zijnde 1 ml van het diergeneesmiddel per 10 kg lichaamsgewicht, uitwendig en in één toediening. Het product dient over het midden van de rug te worden toegediend in een dunne streep van de schoft tot de staart. Regen vóór of na de behandeling heeft geen invloed op de werkzaamheid van het product. Dien het product niet toe op huid met aangekoekte modder of mest. **Wachtermijn:** (orgaan)Vlees: 15 dagen; Melk: 0 uur. **Wijze van aflevering:** Op diergeneeskundig voorschrift. Verdere informatie zie verpakking of beschikbaar bij Merial Belgium N.V., Arianelaan 16, 1200 Brussel. BE-V210962. hr150616. © geregistreerd handelsmerk van Merial. © 2017 Merial. Alle rechten voorbehouden. Matt Art 18843\_1/06/17.



Merial maakt nu deel uit van Boehringer Ingelheim

...omdat er maar één EPRINEX is!

# VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

2017, vol. 86, nr. 4

## INHOUD

### Overzichtsartikels

- 203 S. KNOLL, A. DECOSTERE, A.M. DECLERCQ  
Microplastics: minuscule partikels met grote gevolgen?  
C.C.F. PLEEGING, C.P.H. MOONS
- 213 Mogelijke welzijnsproblemen bij de Siamese kempvis (*Betta splendens*) in sierviswinkels en bij de hobbyist  
R. VERMEULEN, C. DE MEEÛS, L. PLANCKE, B. BOSHUIZEN, M. DE BRUIJN, C. DELESALLE
- 224 Fysiologische effecten van verschillende soorten arbeid op de spierontwikkeling van het paard

### Reviews

- S. KNOLL, A. DECOSTERE, A.M. DECLERCQ  
Microplastics: minuscule particles with big consequences?  
C.C.F. PLEEGING, C.P.H. MOONS
- Potential welfare issues of the Siamese fighting fish (*Betta splendens*) at the retailer and in the hobbyist aquarium  
R. VERMEULEN, C. DE MEEÛS, L. PLANCKE, B. BOSHUIZEN, M. DE BRUIJN, C. DELESALLE
- Effects of training on equine muscle physiology and muscle adaptations in response to different training approaches

### Casuïstieken

- 232 A. DIERCKX DE CASTERLÉ, B. VAN GOETHEM, A. KITSHOFF, S.F.M. BHATTI, I. GIELEN, T. BOSMANS, H. DE COCK, H. DE ROOSTER  
Reconstructie van de schedel van een hond met een titanium mesh na het verwijderen van een multilobulair osteochondrosaroom  
A. DUFOURNI, D. DE CLERCQ, L. VERA, B. BROUX, L. LEFÈRE, L. BOSSELER, H. VERSNAEYEN, G. VAN LOON
- 241 Feochromocytoma bij een paard met polymorfe ventriculaire tachycardie  
H. DE BOSSCHERE, E. KINDERMANS, E. BUELENS, N. GANTOIS
- 250 Waarschijnlijkheidsdiagnose van spontane hypothyroidie bij een volwassen kat

### Case reports

- A. DIERCKX DE CASTERLÉ, B. VAN GOETHEM, A. KITSHOFF, S.F.M. BHATTI, I. GIELEN, T. BOSMANS, H. DE COCK, H. DE ROOSTER  
Titanium mesh reconstruction of a dog's cranium after multilobular osteochondrosarcoma resection  
A. DUFOURNI, D. DE CLERCQ, L. VERA, B. BROUX, L. LEFÈRE, L. BOSSELER, H. VERSNAEYEN, G. VAN LOON
- Pheochromocytoma in a horse with polymorphic ventricular tachycardia  
H. DE BOSSCHERE, E. KINDERMANS, E. BUELENS, N. GANTOIS
- Probable diagnosis of spontaneous hypothyroidism in an adult cat

### Permanente vorming

- 256 M. OOSTERLINCK, M. DUMOULIN, E. VAN DE WATER, F. PILLE  
Biomechanische aspecten met betrekking tot hoefbeslag bij paarden

### Continuing education

- M. OOSTERLINCK, M. DUMOULIN, E. VAN DE WATER, F. PILLE  
Biomechanical aspects of farriery in horses

### Vraag en antwoord

- 266 Behandeling van mastitis met penicillinen en cefalosporinen  
267 Interpretatie totaal T4-gehalte bij een acuut zieke hond

### Oproep

### 271, 272 Mededelingen

### 231, 249, 269 Uit het verleden

**Coverfoto:** Wereldoorlog Onder Water (W.O.O.W.) © ILVO, Oostende

In weer en wind staat het schip de RV Simon Stevin paraat om samen met onderzoekers de Belgische Noordzee (en daarbuiten) te trotseren, op zoek naar antwoorden op wetenschappelijke vragen. Op de dag dat deze coverfoto werd genomen, stonden we plots oog in oog met een gasmasker en werden we terug gevoerd naar de tijd waarin landgenoten vochten in een wereldoorlog waarin vriend en vijand het leven lieten. Onze nieuwsgierigheid werd aangewakkerd. Aan wie behoorde dit masker toe? Wat is er met die persoon gebeurd? Welke afstand legde dit masker reeds af?

Wie exact dit merkwaardige stukje geschiedenis heeft gedragen, zal wellicht een raadsel blijven.

In deze VDT-uitgave wordt ingegaan op de al even mystieke en minder zichtbare wereld van microplastics; microscopisch kleine plastics die in zeeën en onderwaterleven verzeild zijn geraakt (cf. pg 203).

Tekst: Annelies Declercq

# 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, C. Burvenich, E. Cox, S. Daminet, P. De Backer, P. De-prez, L. Devriese, R. Ducatelle, M. Haspeslagh, M. Hesta, K. Houf, J. Laureyns, I. Polis, J. Saunders, P. Simoens, L. Van Ham, F. Van Immerseel, A. Van Soom, A. Van Zeveren

## 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](mailto: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](mailto: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 literatuuaraangave **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 prostaglandins. *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, C. Burvenich, E. Cox, S. Daminet, P. De Backer, P. De-prez, L. Devriese, R. Ducatelle, M. Haspeslagh, M. Hesta, K. Houf, J. Laureyns, I. Polis, J. Saunders, P. Simoens, L. Van Ham, F. Van Immerseel, A. Van Soom, A. Van Zeveren

## 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](mailto: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](mailto: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](http://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](http://www.vdt.ugent.be)

## Microplastics: minuscule partikels met grote gevolgen?

### *Microplastics: minuscule particles with big consequences?*

<sup>1</sup>S. Knoll, <sup>1</sup>A. Decostere, <sup>1</sup>A.M. Declercq

<sup>1</sup>Department of Pathology, Bacteriology and Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

Stephane.Knoll@UGent.be

## SAMENVATTING

Sinds het begin van de massaproductie van plastics vormt de contaminatie van het mariene milieu met deze persisterende synthetische stoffen een alsmaar groter probleem. De laatste decennia wordt aangenomen dat microplastics hierbij een grote rol spelen. Deze kleine plastic partikels (< 5mm) komen voor in het mariene milieu en kennen diverse bronnen, waaronder fragmentatie van macroplastics en de afvoer van primaire microplasticscrubs via afvalwater. Recent onderzoek heeft uitgewezen dat microplastics door talrijke mariene organismen opgenomen worden. Dit zou kunnen leiden tot gezondheidsproblemen, onder meer door mechanische schade en door cellulaire toxiciteit. Hiernaast wordt de microplasticproblematiek gecompliceerd door de contaminatie van deze partikels met toxische chemicaliën. Bovendien zouden microplastics en microplastic-gebonden contaminanten kunnen accumuleren in de voedselketen en uiteindelijk bij de mens terechtkomen. Ondanks het toenemend aantal publicaties omtrent microplastics zijn er nog veel onbeantwoorde vragen. In dit artikel wordt de actuele kennis besproken aangaande microplastics in het mariene milieu.

## ABSTRACT

Since the mass production of plastics, contamination of the marine environment with these persistent synthetic materials has become an ever-increasing problem. Lately, it has become clear that microplastics play a big part in this. These small plastic particles (< 5mm) are ubiquitous in seawater and sediments. There are various entryways, such as fragmentation of macroplastics and drainage of primary microplastic via wastewater. Recent studies have shown that microplastics may be ingested by numerous marine organisms. This could result in diverse health effects, including mechanical injury and cellular toxicity. Adverse effects of microplastics are possibly enhanced by the contamination of these plastic particles with toxic chemicals. Furthermore, microplastics and microplastic contaminants could accumulate in the food chain, eventually affecting humans. Despite the growing number of publications on microplastics, there are still many unanswered questions regarding this topic. In this article, the contemporary knowledge of microplastics in the marine environment is provided.

## INLEIDING

Plastics of kunststoffen zijn synthetische organische moleculen. Deze stoffen worden gevormd door polymerisatie van monomeren gewonnen uit gas en olie. Hieraan worden diverse chemische additieven toegevoegd om specifieke eigenschappen te bekomen (Rios et al., 2007; Thompson et al., 2009a). Algemeen zijn plastics licht, stevig, duurzaam, resistent, corrosieresistent en hebben een hoge thermische en elektrische isolatiecapaciteit. Als gevolg van de variabele eigenschappen van plastics zijn de toepassingen voor deze moleculen zo goed als oneindig. Boven-

dien is het productieproces van plastics erg goedkoop (Thompson et al., 2009a; Sivan, 2011), waardoor de wereldwijde plasticindustrie jaar na jaar blijft groeien (PlasticsEurope, 2015). Tussen 1960 en 2000 is de productie van plastics maar liefst 25 maal gestegen (Moore, 2008). In 2014 werd een jaarlijkse plasticproductie van 310 miljoen ton gerapporteerd (Plastics Europe, 2015).

Veel van de toepassingen van plastics zijn de dag van vandaag onmisbaar. Plastics hebben voor tal van medische, technologische en humanitaire vooruitgang gezorgd (Barnes et al., 2009; Thompson et al., 2009a). Anderzijds valt een groot deel van de plastic produc-



**Figuur 1.** Plastic afval gevonden aan de vloedlijn, Oostende, België (© ILVO, 2017).



**Figuur 2.** Plastic afval verzameld uit het mariene milieu (© ILVO, 2017).

ten onder de groep van “wegwerpplastics” (Rios et al., 2007). Deze groep bestaat voornamelijk uit verpakkingen en verpakkingsmaterialen, die zeer vaak binnen het jaar na productie worden weggegooid. Wegwerpplastics vertegenwoordigen meer dan een derde van de totale plasticproductie (Andrady, 2011). Logischerwijs resulteert dit in een enorme hoeveelheid plastic afval. Globaal bestaat onze gemiddelde afvalberg voor 10% uit plastics (Barnes et al., 2009; Thompson et al., 2009a). Een deel van dit afval wordt gerecycleerd, de rest wordt verbrand, gestort of komt in het milieu terecht (Hopewell et al., 2009). Van deze laatste vloeit een substantiële hoeveelheid af naar het mariene milieu (Figuur 1). Marien afval zou tot 60-80% uit plastics bestaan (Lusher et al., 2014) en dit kan op sommige locaties oplopen tot meer dan 90% (Derraik, 2002). Zo worden plastics gevonden in zo goed als alle natuurlijke habitats, gaande van de poolcirkels tot aan de evenaar (Barnes et al., 2009; Thompson et al., 2009a). Bovendien zouden plastics als een van de meest persistente vormen van vervuiling in het mariene milieu optreden (Rios et al., 2007; Moore, 2008). Deze moleculen zijn erg resistent tegen fysische en biologische degradatie (Rios et al., 2007; Sivan, 2011). De halfwaardetijd van plastics wordt geschat op honderden tot duizenden jaren en mogelijk

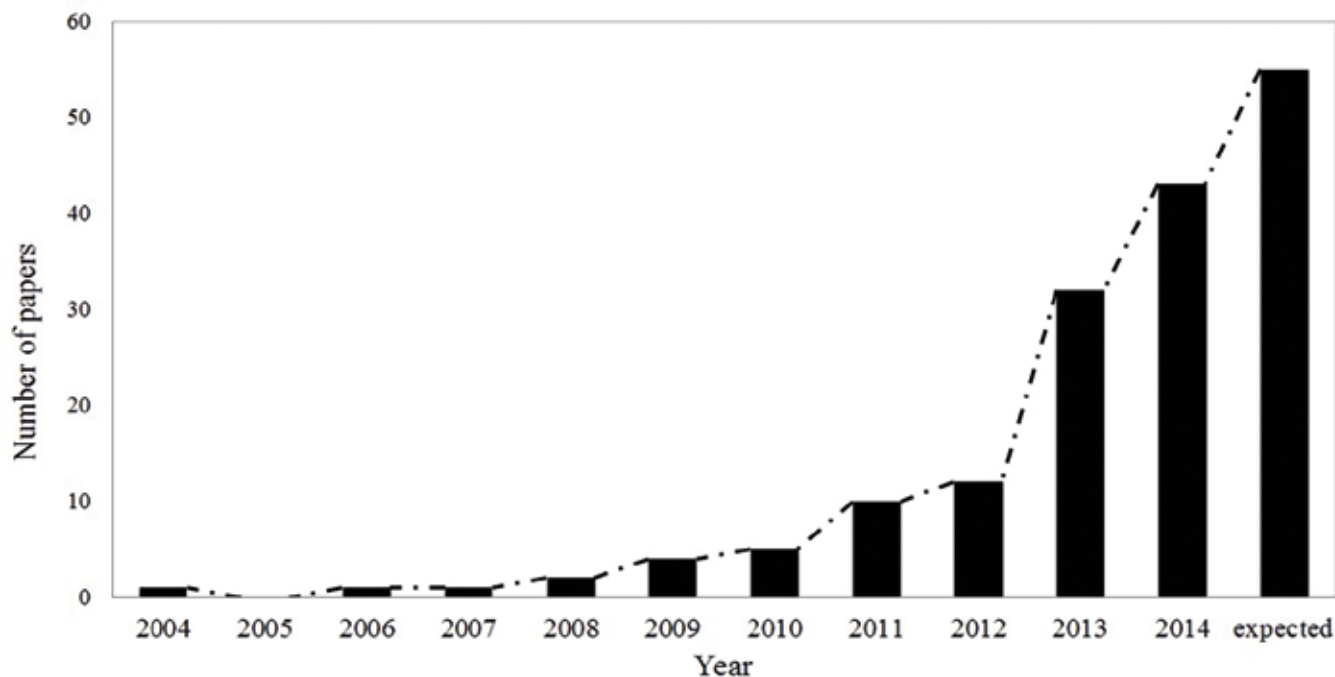
nog langer rond de polen en in de diepste gedeelten van de zee (Barnes et al., 2009).

## MICROPLASTICS

Plastic afval in het mariene milieu wordt volgens grootte onderverdeeld in verschillende klassen: macroplastics (>20 mm diameter), mesoplastics (5-20 mm), microplastics (<5 mm) (Ryan et al., 2009). Onder deze laatste vallen ook de nanoplastics (1-100 nm) (EFSA, 2016). In vergelijking met macroplastics is er aanzienlijk minder onderzoek gebeurd naar het voorkomen en de mogelijke effecten van microplastics in het mariene milieu (Figuur 2). Het aantal publicaties over microplastics in het mariene milieu is in de laatste tien jaar echter exponentieel gestegen, met een grote vooruitgang in de kennis van dit onderwerp tot gevolg (Figuur 3).

Microplastics kunnen verder worden onderverdeeld in primaire en secundaire microplastics. Primaire microplastics zijn kleine stukjes plastic die, in tegenstelling tot secundaire microplastics, bewust het eindresultaat van een productieproces zijn. Deze plastics worden gebruikt in bepaalde zepen, huidscrubs of andere schoonheidsproducten, waarna deze via het afvalwater in het aquatische milieu kunnen terechtkomen (Fendall en Sewell, 2009; Gouin et al., 2011; Van Cauwenberghe et al., 2015). Deze minuscule partikels zijn vaak te klein om te worden gecapteerd door waterzuiveringsinstallaties (Fendall en Sewell, 2009). Het zijn voornamelijk de populatiegrootte en de kwaliteit van waterzuiveringsinstallaties die mee bepalen in hoeverre een land bijdraagt tot de afvloei van niet-gecapteerd plastic afval naar de mariene omgeving (Jambeck et al., 2015). Sinds de jaren tachtig van de vorige eeuw is het gebruik van dergelijke primaire microplastics drastisch gestegen. Deze hebben het gebruik van natuurlijke scrubs, zoals vermalen amandelen, haveremout en puimsteen, in zepen en cosmetische producten vervangen (Cole et al., 2011). Een andere vorm van primaire microplastics zijn pellets. Dit zijn plastic korrels geproduceerd als primair product voor latere verwerking tot allerlei plastic goederen (Thompson et al., 2009b). Pellets bereiken het mariene milieu via het afvoerwater van fabrieken, of bijvoorbeeld door ongelukken op zee gerelateerd aan het transport van deze plastics (Cole et al., 2011). Een derde bron van primaire microplastics zijn resten of afval afkomstig van het zandstralen met synthetische media (Thompson et al., 2009b; Ivar do Sul en Costa., 2014). Hierbij worden plastic partikels aan hoge snelheden afgevuurd om onder meer roest en verf van boten of constructies in zee te verwijderen. Deze partikels worden herhaaldelijk gebruikt waarna ze vaak in het mariene milieu eindigen (Cole et al., 2011).

De hoofdbron van de mariene toevoer van microplastics zou het degradatie- en fragmentatieproces van macro- en mesoplastics zijn (Andrady, 2011). Plastics in het mariene milieu ondergaan namelijk foto-oxida-



**Figuur 3.** Aantal publicaties over microplastics tussen 2004 en 2014 en de verwachte stijging (Naar: Barboza en Gimenez, 2015).

tie. Bij blootstelling aan onder andere UV-stralen in zonlicht, samen met de oxidatieve eigenschappen van de atmosfeer en de hydrolytische eigenschappen van zeewater, verliezen plastics hun treksterkte en worden erg broos (Moore, 2008; Sivan, 2011; Law en Thompson, 2014). Tijdens dit proces behoudt plastic zijn originele structuur maar verliest deze aan stevigheid. De plastics vallen in steeds kleinere stukken uiteen, waardoor er na verloop van tijd een reusachtig reservoir aan kleine plastic fragmenten ontstaat (Rios et al., 2007; Moore, 2008; Barnes, 2014; Barnes et al., 2009; Sivan, 2011; Law en Thompson, 2014). Wanneer deze fragmenten klein genoeg zijn, worden ze secundaire microplastics genoemd (Law en Thompson, 2014).

Een andere bron van secundaire microplastics in het mariene milieu is biologisch afbreekbare plastics (Thompson et al., 2004). Theoretisch gezien zijn alle plastics biologisch afbreekbaar, maar de degradatie van synthetische (geproduceerd op basis van olie) plastics is van dergelijk lange duur dat deze als persistent worden bestempeld. Bioplastics daarentegen zijn plastics geproduceerd uit natuurlijke producten en zouden bijgevolg wel biologisch afbreekbaar zijn (Soroudi en Jakubowicz, 2013). Een product dat biologisch afbreekbaar is, kan -in bepaalde omstandigheden en op een relatief korte tijdsperiode door micro-organismen worden afgebroken tot koolstofdioxide, methaan en water (UNEP, 2015, 2016). Echter, de biodegradeerbaarheid van bioplastics is grotendeels afhankelijk van het milieu waarin deze producten zich bevinden. Bioplastics zijn namelijk ontworpen om onder specifieke condities afbreekbaar te zijn. Dit proces is temperatuursafhankelijk en sommige plastics gelabeld als zijnde biodegradeerbaar vereisen

omgevingen typisch voor industriële eenheden, zoals langdurig contact aan temperaturen boven de 50°C, vooraleer volledige disintegratie optreedt. Dergelijke situaties worden zelden, zo niet nooit bereikt in het mariene milieu (UNEP, 2015, 2016). Bovendien bestaan de meeste biologisch afbreekbare plastics slechts deels uit biologisch afbreekbare materialen. Na afbraak van deze natuurlijke producten blijven de synthetische polymeren over. Deze polymeren ondergaan vervolgens dezelfde degradatie als andere plastic fragmenten, met uiteindelijk het vrijkomen van secundaire microplastics tot gevolg (Cole et al., 2011). Tegenwoordig is er geen wetenschappelijk bewijs voorhanden dat stelt dat zogenaamd biodegradeerbare plastics de hoeveelheid plastics in het mariene milieu zouden verlagen (UNEP, 2015, 2016). Ten slotte vormen synthetische filamenten, die vrijkomen bij het wassen van kledij, ook nog een belangrijke bron van secundaire microplastics. Er wordt geschat dat bij het wassen van 6 kg synthetische kleding tot meer dan 700.000 microfibrillen kunnen vrijkomen bij elke wasbeurt (Napper en Thompson, 2016).

## VOORKOMEN IN HET MARIENE MILIEU

Fragmentatie van plastic afval heeft ervoor gezorgd dat de hoeveelheid aan plastic partikels in het mariene milieu drastisch is toegenomen (Moore, 2008; Law en Thompson, 2014). Microplastics zijn heden ten dage een van de meest voorkomende vormen van vervuiling in het mariene milieu en er wordt gespeculeerd dat de hoeveelheid microplastics in de toekomst zal blijven toenemen (Moore, 2008; Law en Thompson, 2014; Weinstein et al., 2016). Exacte ken-

nis van het voorkomen van microplastics in de mariene omgeving is de laatste jaren toegenomen, maar blijft beperkt (Browne et al., 2010; Claessens et al., 2011; Cole et al., 2011; Doyle et al., 2011; GESAMP, 2015). Het is moeilijk om globaal de exacte hoeveelheid, concentratie en distributie van microplastics te kwantificeren. Dit zou accurate data met betrekking tot alle bronnen en degradatiesnelheden van macroplastics, samen met de bronnen van primaire microplastics in het mariene milieu vergen. Daarnaast is het zeer moeilijk om microplastics die het mariene milieu reeds hebben gecontamineerd, te kwantificeren, voornamelijk door de grootte van deze partikels in vergelijking met de grootte van de zeeën en oceanen op aarde. Daarom is het van groot belang dat de aanwezigheid, concentratie en verspreiding van microplastics in zeewater, sediment en biota worden opgenomen in de nationale monitoring van de verscheidene landen. Bovendien maken stromingen en seizoensgebonden patronen de verdeling van microplastics complexer (Cole et al., 2011; Doyle et al., 2011). Recent onderzoek naar ruimtelijke patronen van microplastics heeft kunnen aantonen dat plastic partikels in de waterkolom accumuleren ter hoogte van gyres (Moore et al., 2001; Law et al., 2010; Cole et al., 2011). Gyres zijn circulaire stromingen van oceaanwater in het centrum van subtropische stromingen en fungeren bijgevolg als massieve reservoirs voor marien plastic afval (Ryan et al., 2009). Temporale patronen van microplastics in het mariene milieu zijn zeer divers en de kennis van de verspreidingswegen van microplastics is gering. Ook de verdeling van microplastics binnen de waterkolom en over verschillende ecosystemen is zeer uiteenlopend (Ryan et al., 2009).

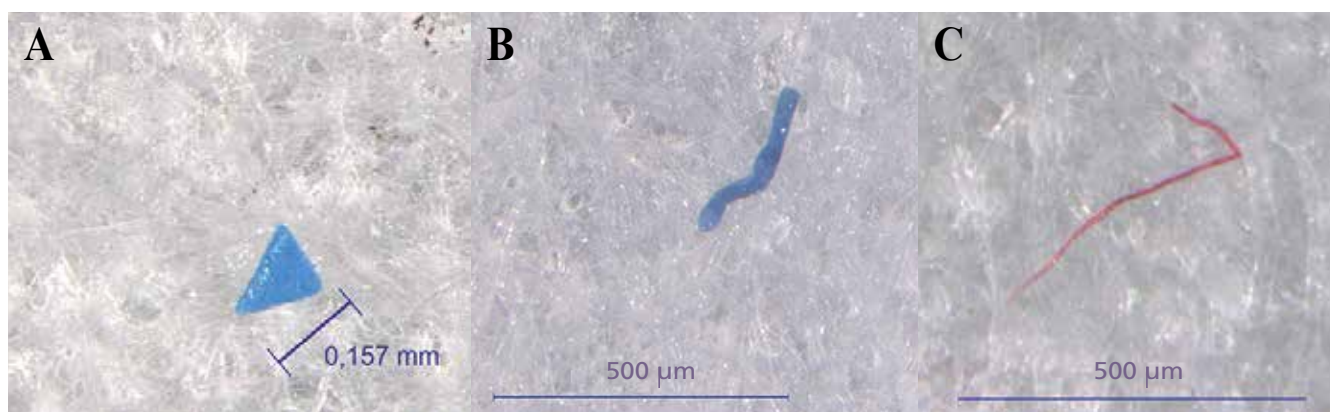
Sinds de ontdekking van microplastics in het mariene milieu in de jaren zestig van de vorige eeuw (Kenyon en Kridler, 1969) worden microplastics aangetoond in open water, ter hoogte van stranden en kustgebieden en in sedimenten (Barnes et al., 2009). Mariene sedimenten worden beschouwd als een belangrijke accumulatieplaats voor bepaalde microplastics (Van Cauwenberghe et al., 2013, 2015). Plastic fragmenten met een densiteit hoger dan die van zeewater ( $>1,02 \text{ g/cm}^3$ ) zinken naar de bodem en worden daar “gevangen”. Bovendien zorgt de accumulatie

van diverse (micro)organismen op plastic fragmenten in het mariene milieu voor een verhoging van de densiteit van deze fragmenten waardoor deze uiteindelijk zinken. Dit proces wordt “biofouling” genoemd (Barnes et al., 2009; Andrady, 2011; Van Cauwenberghe et al., 2013, 2015; Weinstein et al., 2016). Men heeft kunnen aantonen dat microplasticconcentraties gangbaar hoger zijn in sterk bevolkte kustgebieden (Doyle et al., 2011; Van Cauwenberghe et al., 2015). Verder zou afvoer van zoetwater naar het mariene milieu via rivieren en kanalen een belangrijke rol spelen in de aanvoer van microplastics. Stalen genomen ter hoogte van riviermondingen vertonen algemeen hoge concentraties aan microplastics (Van Cauwenberghe et al., 2015). Tabel 1 biedt een overzicht van microplasticconcentraties aangetoond op uiteenlopende locaties over de hele wereld. Anderzijds drijven plastic fragmenten met een lagere densiteit dan die van zeewater aan de oppervlakte of bevinden zich in de waterkolom (Van Cauwenberghe et al., 2015). Het merendeel van de lagedensiteit-microplastics bevindt zich in de microlaag aan het wateroppervlak (Cole et al., 2011).

#### OPNAME EN ACCUMULATIE IN DE VOEDSELKETEN

Als gevolg van het fragmenteren van plastics in het mariene milieu, stijgt het aantal plastic fragmenten waarmee mariene organismen in contact kunnen komen. Bijkomend kunnen deze door het steeds kleiner worden van plastic fragmenten door steeds meer mariene soorten worden opgenomen (Moore, 2008; Barnes et al., 2009; Cole et al., 2011).

Door hun prominente aanwezigheid en hun enorme diversiteit in vorm en kleur kunnen plastic fragmenten in het mariene milieu als natuurlijke prooi worden aanzien (Moore, 2008) en met de natuurlijke voeding worden opgenomen (Browne et al., 2008; Fendall en Sewell, 2009). Microplastics hebben ongeveer dezelfde afmetingen als plankton en zandkorrels, waardoor deze kleine partikels makkelijk worden opgenomen door laagtrofische organismen (Browne et al., 2008; Moore, 2008) (Figuur 4). Dit maakt organismen aan de bodem van de voedselketen bijzonder gevoelig



Figuur 4. Lichtmicroscopische beelden van microplastics uit de maag van sprot (*Sprattus sprattus*) (© ILVO, 2017).



**Tabel 1. Aanwezigheid van microplastics in sedimenten wereldwijd. Locaties met specificaties, bijvoorbeeld sedimenttype, worden aangebracht samen met de deeltjesgrootte (naar: Van Cauwenberghe et al., 2015).**

Continent	Locatie	Specificaties	Partikelgrootte	Gemeten concentratie	Referentie
Afrika	Canarische Eilanden	Strand	1 mm – 5 mm	<1 - >100 g/L	Baztan et al., 2014
Amerika	Hawaiï	Strand	1 mm - 15 mm	541 - 18,559 partikkels/260 L	McDermid en McMullen, 2004
	VS	Florida subtidaal Maine subtidaal	250 µm - 4 mm	116 - 215 partikkels/L 105 items/L	Graham en Thompson, 2009
	Brazilië	Strand	2 mm - 5 mm	60 partikkels /m <sup>2</sup>	Ivar do Sul et al., 2009
	Brazilië	Strand	0,5 mm - 1 mm 1mm - 20 mm	200 partikkels /0,01 m <sup>2</sup> 100 partikkels /0,01 m <sup>2</sup>	Costa et al., 2010
	Hawaiï	Strand	250 µm - 10 mm	0,12% - 3,3% plastic per gewicht	Carson et al., 2011
	Brazilië	Getijdenvlakte	1 mm - 10 cm	6,36 - 15,89 items/m <sup>2</sup>	Costa et al., 2011
	Chili	Strand	1 mm - 4.75 mm	<1 - 805 items/m <sup>2</sup>	Hidalgo-Ruz en Thiel, 2013
	Quebec	Riviersediment	400 µm - 2.16 mm	52 - 13,832 kralen/m <sup>2</sup>	Castaneda et al., 2014
	Nieuw-Schotland	Strand	0.8 µm - 5mm	20 - 80 vezels/10 g	Mathalon en Hill, 2014
Azië	Singapore	Strand	1,6 µm – 5 mm	0 - 4 partikels/250 g droog	Ng en Obbard, 2006
	Indië	sloopwerf	1,6 µm – 5 mm	81,4 mg/kg	Reddy et al., 2006
	Zuid-Korea	Vloedlijn	2 mm - 10 mm	913 partikels/m <sup>2</sup>	Heo et al., 2013
	Indië	Strand	1 mm – 5 mm	10 - 180 partikels/m <sup>2</sup>	Jayasiri et al., 2013
	Zuid-Korea	Strand droge seizoen Strand regenseizoen	1 mm - 5 mm	8205 partikels/m <sup>2</sup> 27,606 partikels/m <sup>2</sup>	Lee et al., 2013
	Singapore	Mangrove	1,6 µm - 5 mm	36,8 partikels/kg droog	Nor en Obbard, 2014
	Pacific Northwest				
	Diepzeegel	300 µm – 5 mm	60 - 2020 partikels/m <sup>2</sup>	Fisher et al., 2015	
	Zuid-Korea	Strand	50 µm – 5 mm	56 - 285,673 partikels/m <sup>2</sup>	Kim et al., 2015
Europa	VK	Strand Subtidaal Zeearm	1,6 µm - 5 mm	0,4 vezels/50 mL 2,4 vezels/50 mL 5,6 vezels/50 mL	Thompson et al., 2004
	Zweden	Subtidaal	2 µm – 5 mm	2 - 332 partikels/100 mL	Norén, 2007
	VK	Strand	1,6 µm - 1mm	<1 - 8 partikels/50 mL	Browne et al., 2010
	VK	Strand (Noordzee) Strand (Kanaal)	38 µm - 1 mm	0,2 – 0,8 vezels/50 mL 0,4e1 vezels/50 mL	Browne et al., 2011
	België	Haven Continentaal plateau Strand	38 µm - 1 mm	166,7 partikels/kg droog 97,2 partikels/kg droog 92,8 partikels/kg droog	Claessens et al., 2011
	Portugal	Strand	1,2 µm - 5 mm	133,3 partikels/m <sup>2</sup>	Martins en Sobral, 2011
	Duitsland	Stadsstrand Ruraal strand	1 mm - 15 mm	5000 - 7000 partikels/m <sup>3</sup> 150 - 700 partikels/m <sup>3</sup>	Ballent et al., 2012
	Duitsland	Ebvlakte	1,2 µm - 5mm	0 - 621 partikels/10 g	Liebezeit en Dubaish, 2012
	Italië	Subalpiene meer	9 µm - 5 mm		
	1108 partikels/m <sup>2</sup>	Imhof et al., 2013			
	Griekenland	Strand	1 mm - 2mm 2mm - 4mm	57 - 602 partikels/m <sup>2</sup> 10 - 575 partikels/m <sup>2</sup>	Kaberi et al., 2013
	België	Vloedlijn Eblijn	38 µm - 1 mm	9,2 partikels/kg droog 17,7 partikels/kg droog	Van Cauwenberghe et al., 2013
	Italië	Subtidaal	0,7 µm - 1 mm	672 - 2175 partikels/kg droog	Vianello et al., 2013
	Duitsland	Strand	<1 mm	1,3 – 2,3 partikels/kg droog	Dekiff et al., 2014
	Slovenië	Strand Sublitoriaal	0,25 - 5 mm	177,8 partikels/kg droog 170,4 partikels/kg droog	Laglbauer et al., 2014 Van
	Wereldwijd	Diepzee	5 µm - 1 mm	0,5 partikels/cm <sup>2</sup>	Van Cauwenberghe et al., 2013

voor de ingestie van microplastics (Moore, 2008). Microplastics met een dichtheid groter dan deze van zeewater zijn beschikbaar voor diverse bodemorganismen (Van Cauwenberghe et al., 2015). Anderzijds zijn lagedensiteitplastics aan het wateroppervlak beschikbaar voor opname door diverse planktonorganismen, zoals pijlwormen, vislarven en eenoogkreeftjes alsook voor allerlei vissen en zeevogels (Cole et al., 2013; Lin, 2016). Recent onderzoek bevestigt dat in het wild levende, laagtrofische zeedieren gecontamineerd kunnen zijn met microplastics. Zo werden microplastics aangetoond in onder meer de blauwe

mossel (*Mytilus edulis*), de Noorse kreeft (*Nephrops norvegicus*), de grijze garnaal (*Crangon crangon*) en eendenmosselen (*Lepas anatifera* en *Lepas pacifica*) (Van Cauwenberghe et al., 2015). Ook de aanwezigheid van microplastics in het spijsverteringsstelsel van allerlei wilde vissen werd gerapporteerd (Browne et al., 2008; Cole et al., 2011). Naast de directe ingestie kunnen zeedieren microplastics indirect opnemen door ingestie van prooidieren die op hun beurt microplastics hebben geaccumuleerd (Browne et al., 2008). Het is zeer waarschijnlijk dat, eens microplastics werden opgenomen door laagtrofische organismen, deze

vervolgens kunnen worden doorgegeven aan organismen hoger in de voedselketen en uiteindelijk tot bij de mens geraken (Farrell en Nelson, 2013).

Toch is er tegenwoordig weinig bekend over de trofische overdracht van microplastics (Browne et al., 2008; Murray en Cowie, 2011; Farrell en Nelson, 2013; Van Cauwenberghe et al., 2015). Om de mogelijke beweging van microplastics in de voedselketen beter te begrijpen is er nood aan verder onderzoek naar het voorkomen van verschillende types microplastics in verschillende organismen (GESAMP, 2015).

## EFFECT OP MENS EN DIER EN RISICO'S VOOR DE VOEDSELKETEN

Aangezien microplastics worden opgenomen door diverse organismen die laag in de voedselketen staan, kan worden verondersteld dat de volledige voedselketen wordt beïnvloed door de mogelijke effecten van deze kleine plastic partikels (Bouwmeester et al., 2015). Zo zou deze vorm van vervuiling belangrijke implicaties kunnen hebben voor hele ecosystemen alsook voor de voedselveiligheid (Van Cauwenberghe et al., 2015).

Het is nog niet volledig opgeklaard hoe en of de ingestie van microplastics daadwerkelijk directe gevolgen heeft voor de gezondheid van mariene organismen (Cole et al., 2011; GESAMP, 2015). Het is mogelijk dat deze kleine plastic partikels nadelige mechanische gevolgen hebben voor laagtrofische zeedieren, analoog aan de effecten van macroplastics op grote dieren. Zo zouden plastic fragmenten anatomische structuren die nodig zijn voor de opname van voedsel, kunnen blokkeren of voor obstructie van het spijsverteringsstelsel kunnen zorgen (Barnes et al., 2009; Wright et al., 2013). De opname van microplastics zou ook potentieel zorgen voor een vals gevoel van verzadiging met verminderde voedselopname tot gevolg (Cole et al., 2011). Dit laatste zou kunnen leiden tot een vertraagde groei en hogere mortaliteit (Carlos de Sá et al., 2015). Microplasticingestie zou fysieke schade aan het spijsverteringsstelsel, of na translocatie, schade aan diverse organen kunnen aanrichten (Wright et al., 2013; Van Cauwenberghe et al., 2015).

Recent onderzoek heeft aangetoond dat zeedieren, zoals de gewone strandkrab (*Carcinus maenas*) microplastics kunnen opnemen en inhaleren met significante, doch tijdelijke gevolgen voor het ademhalingsstelsel (Watts et al., 2016). Andere mogelijke, directe effecten van microplasticopname zijn de inhibitie van enzymproductie, verlaagde hormoonspiegels, uitgestelde ovulatie en een verminderde fertiliteit (Wright et al., 2013). De biologische gevolgen voor dieren hoger in de voedselketen zijn minder bekend. Mogelijk kunnen de schadelijke gevolgen voor diverse organen aangericht door microplasticopname worden doorgetrokken naar hoogtrofische dieren (Carlos de Sá et al., 2015).

Naast de bovenvermelde fysieke gevaren van ingestie van microplastics brengt deze vorm van vervuiling nog tal van andere risico's met zich mee. Zo kunnen microplastics fungeren als bron van toxische, organische pollutanten (Barnes et al., 2009; Teuten et al., 2009; Law en Thompson, 2014). Persistente organische pollutanten of POPs adsorberen aan het oppervlak van microplastics via het omliggende zeewater (Endo et al., 2005; Rios et al., 2010). Deze moleculen hebben een hoge affiniteit voor het hydrofobe oppervlak van plastics (Mato et al., 2001; Teuten et al., 2009). In verschillende studies werd aangetoond dat plastics deze POPs kunnen concentreren en transporteren naar het mariene milieu (Mato et al., 2001; Rios et al., 2010; Bakir et al., 2014). Diverse POPs, zoals dichloordifenyiltrichloorethaan, polychloorbifenylen en polycyclische aromatische koolwaterstoffen, werden reeds gevonden op marien, plastic afval (Gauquie et al., 2015; Rani et al., 2015). De aanwezige concentratie, het type en de verhoudingen van organische pollutanten gevonden in marien plastic afval variëren naargelang de mate waarin het omringende zeewater met POPs is vervuild. Deze vervuiling verschilt sterk per geografisch gebied, wat deze problematiek zeer complex maakt (Teuten et al., 2009).

Na inname van gecontamineerde microplastics door zeedieren zouden geabsorbeerde organische pollutanten kunnen worden vrijgesteld in het organisme (Barnes et al., 2009; Teuten et al., 2009; Law en Thompson, 2014). Recent onderzoek met pyreen (een veel voorkomende polycyclische, aromatische koolwaterstof op marien plastic afval) heeft aangetoond dat accumulatie van POPs in diverse weefsels kan optreden door inname van microplastics (Avio et al., 2015), wat meteen hun intrede in de voedselketen betekent. Dit brengt potentiële negatieve gevolgen met zich mee voor de diergezondheid, de voedselketen, het welzijn van mariene ecosystemen en de mens (Rios et al., 2007, 2010).

Ook potentieel gevaarlijke en toxische plastic-additieven uit microplastics kunnen vrijkomen in het milieu (Teuten et al., 2009; Law en Thompson, 2014). Plastics bestaan namelijk zelden alleen uit polymeren. Tijdens het productieproces worden allerlei additieven toegevoegd om specifieke eigenschappen te bekomen (Andrady en Neal, 2009; Teuten et al., 2009; Rani et al., 2015). Onder deze additieven vallen plastic vulstoffen die het plastic verstevigen, thermische stabilisatoren zodat kunststoffen kunnen worden verwerkt op hogere temperaturen, weekmakers om de plastics flexibeler te maken, vlamvertragers om de brandbaarheid te verlagen en UV-stabilisatoren om degradatie onder invloed van zonlicht te vertragen. Kleurstoffen en matmakers worden toegevoegd om het uitzicht van het eindproduct te bevorderen (Andrady en Neal, 2009; Rani et al., 2015). Andere additieven, zoals antioxidanten, worden in kleine hoeveelheden gebruikt in quasi alle plastic producten. Ook monomeren zoals bisfenol A worden vaak gebruikt als additieven (Rani et al., 2015). Aangezien vele van deze mole-

culen toxisch zijn, kunnen uiteenlopende negatieve effecten worden verwacht voor mens en dier (Moore, 2008; Barnes et al., 2009; Cole et al., 2011). Zo werd bijvoorbeeld aangetoond dat plasticadditieven mutageen, toxisch en bioaccumulatief kunnen zijn (Kim et al., 2011). Vele additieven hebben een reprotoxische werking (Teuten et al., 2009; Rani et al., 2015). Diverse vruchtbaarheidseffecten ten gevolge van blootstelling aan additieven werden reeds aangetoond bij uiteenlopende diersoorten (Oehlmann et al., 2009). Verder zouden additieven ook een effect kunnen uitoefenen op endocriene organen (Teuten et al., 2009), lever- en spierenzymen, het gedrag, het steroïdhormoonmetabolisme en de ontwikkeling (Oehlmann et al., 2009). Anderzijds kan worden opgemerkt dat veel van de effecten van additieven werden vastgesteld na blootstelling aan zeer hoge concentraties die tot op heden niet voorkomen in het milieu (Oehlmann et al., 2009). Desalniettemin wordt gesteld dat deze additieven biomagnificatie kunnen ondervinden doorheen de voedselketen. Dit betekent dat deze toxische stoffen zich kunnen opstapelen in organismen hoger in de voedselketen, waardoor predatoren aan de top van de voedselketen mogelijk cumulatief hogere concentraties opnemen die schadelijke gevolgen kunnen hebben voor de gezondheid (Teuten et al., 2009).

Een ander luik met een belangrijke invloed op de (humane) gezondheid, betreft de aanwezigheid van micro-organismen. In het mariene milieu worden oppervlakten snel gekoloniseerd door een brede waaier aan micro-organismen die zich onder welbepaalde omstandigheden groeperen in een biofilm (Kirstein et al., 2016). In een biofilm zijn micro-organismen vastgehecht aan een oppervlak en gehuld in een zelf aangemaakte extracellulaire matrix (Ricucci en Siqueira, 2010). Welke micro-organismen wel dan niet voorkomen op microplastics is tot op heden niet volledig achterhaald (Kirstein et al., 2016). De samenstelling van micro-organismen op microplastics zou significant verschillen van deze van het omliggende zeewater (Zettler et al., 2013; De Tender et al., 2015). Eveneens werd bevestigd dat potentieel pathogene bacteriën en algen aanwezig kunnen zijn op microplastics (Keswani et al., 2016; Kirstein et al., 2016) met inbegrip van humane pathogene species (Zettler et al., 2013; Kirstein et al., 2016). Door de persistentie van plastic partikels in het mariene milieu en de mogelijkheid om over lange afstanden te worden meegevoerd, wordt aangenomen dat microplastics kunnen fungeren als vectoren voor het transporteren en verspreiden van pathogene micro-organismen. Zo zouden deze partikels een rol kunnen spelen bij het verspreiden van ziekten (Keswani et al., 2016; Kirstein et al., 2016). Verder is de kennis omtrent de effecten en de potentiële risico's van deze microscopische lifters nog niet bekend (Keswani et al., 2016).

Echter, gezien de globale vraag naar zeevruchten en vis enorm is (ongeveer 157 miljoen ton in 2012) (FAO, 2014), moeten alle potentiële gevolgen van mi-

croplastics voor de voedselveiligheid in acht worden genomen. Recent onderzoek toonde de aanwezigheid van microplastics in commercieel gekweekte mosselen (*M. edulis*) en oesters (*Crassostrea gigas*) aan. Aangezien deze organismen bedoeld zijn voor humane consumptie, moet rekening worden gehouden met de aanwezigheid van microplastics naar voedselveiligheid toe (Van Cauwenberghe en Janssen, 2014). Niet alleen wildvangst kan gecontamineerd zijn met microplastics, veel vormen van aquacultuur bestaan uit "open systemen" waarbij de gekweekte dieren worden blootgesteld aan alle contaminanten in zee-water, met inbegrip van microplastics (Van Cauwenberghe en Janssen, 2014). Daarenboven vormt het grote gebruik van vis als voeding in de aquacultuur ook een intredeweg voor microplastics in de voedselketen (Bouwmeester et al., 2015). Onlangs werd de aanwezigheid van microplastics in abiotische mariene producten voor humane consumptie zoals zeezout aangetoond (Yang et al., 2015).

In recente studies uitgevoerd met humane cellen en weefsels alsook in studies aan de hand van diermodellen wordt gesuggereerd dat microplastics schade kunnen aanrichten aan het maagdarmsstelsel bij mens en dier (GESAMP, 2015; Vethaak en Leslie, 2016). Bovendien kunnen zeer kleine plastic partikels doorheen humane celmembranen migreren en zo intracellulair terechtkomen, wat de biologische beschikbaarheid van toxische additieven en gebonden chemicaliën zou bevorderen. Eveneens werd het transport doorheen de bloed-hersenbarrière en de placentabarrière aange-toond (Vethaak en Leslie, 2016).

Algemeen heerst er nog veel onduidelijkheid over de exacte risico's van microplastics voor het mariene milieu en zeedieren. Hetzelfde geldt voor de risico's voor de voedselveiligheid en de mens (Law en Thompson, 2014; EFSA, 2016; GESAMP, 2015; Vethaak en Leslie, 2016). Voornamelijk de eventuele langetermijneffecten zijn tot op heden niet bekend, wat noopt tot verder onderzoek (Oehlmann et al., 2009; Farrel en Nelson, 2013).

## CONCLUSIE

Microplasticscontaminatie van het mariene milieu is een zeer complex probleem. Deze vorm van pol-lutie kent diverse bronnen en ingewikkelde, ruimtelijke en temporele patronen. Deze kleine plastic partikels kunnen zeer uiteenlopende effecten hebben op gehele ecosystemen, mariene organismen alsook op de mens. Deze effecten worden verder gecompliceerd door plasticgebonden moleculen, contaminanten en micro-organismen. Sedert de eerste beschrijving van microplastics is er reeds veel bekend over deze kleine plastic partikels en werd veel vooruitgang geboekt in het onderzoek naar het voorkomen en de effecten van microplastics in het mariene milieu. Vooral de laatste tien jaar is dit onderzoeksveld exponentieel gegroeid.

Desalniettemin moet er nog veel onderzoek verricht worden. In het merendeel van de studies naar het voorkomen van microplastics wordt op microplastics in de waterkolom gefocust. Deze laatste vertegenwoordigen slechts een fractie van de totale hoeveelheid microplastics in het mariene milieu. Veel van de microplastics in het mariene milieu zakken naar de bodem, waar deze in sedimenten worden geïncorporeerd. De bodem van de zeeën en oceanen op aarde dreigen hierdoor een reusachtig reservoir voor microplastics te vormen, wat verder onderzoek vergt. Daarnaast zijn de ruimtelijke en temporele patronen van microplastics in het mariene milieu nog niet volledig bekend.

Om toekomstig onderzoek in goede banen te leiden, is er eerst en vooral nood aan standaardisatie binnen dit onderzoeksgebied. Microplastics moeten correct worden gedefinieerd. Er bestaat nog steeds geen duidelijke, internationaal aanvaarde definitie voor microplastics. Bovendien moeten standaardprocedures worden opgemaakt voor staalname-, isolatie-, detectie- en analysemethoden, alsook voor de gebruikte apparatuur van het onderzoek rond microplastics. Dit is essentieel voor de verdere aanpak van het microplasticprobleem.

De diverse effecten van microplastics en plasticgebonden moleculen moeten grotendeels nog worden achterhaald. Zo zijn de effecten van microplastics op de gezondheid van de mens quasi niet bekend, wat het onmogelijk maakt hier eenduidige conclusies over te trekken. Anderzijds is de kennis betreffende adsorptie van de verschillende types plasticgebonden moleculen en voor de verschillende types plastics in diverse condities in het mariene milieu beperkt. Ook hiernaar is meer onderzoek vereist.

Toekomstig onderzoek zou moeten toegespitst worden op de effecten van chronische blootstelling aan microplastics en dit onder relevante milieuconcentraties en -condities. Tot nog toe werden enkel kortetermijngevolgen (minder dan een maand) van microplastics en plasticgebonden moleculen bestudeerd. Bovendien zijn de gekozen concentraties in experimenten vaak tientallen keren hoger dan deze aangetoond in de natuur en wordt meestal het effect van slechts één type plastic, al dan niet samen met één pollutant of één additief, onderzocht. Dit is niet representatief voor de natuurlijke situatie in het mariene milieu waarin organismen worden blootgesteld aan cocktails van verschillende types contaminanten. Mogelijke interacties tussen deze moleculen kunnen resulteren in een verhoogde toxiciteit. Hierdoor is het van belang zo realistisch mogelijke condities na te streven in experimentele omstandigheden.

Tenslotte zijn de effecten op vissen en dieren, hoger in de voedselketen, nog niet ten gronde onderzocht. Tot op heden werden vooral labo-experimenten op laagtrofische organismen uitgevoerd. Hieruit blijkt dat de effecten van microplastics grotendeels te wijten zouden zijn aan cellulaire toxiciteit na ingestie en translocatie. Aangezien translocatie van microplas-

tics naar diverse zoogdieren en mariene organismen is aangetoond, zou cellulaire toxiciteit evengoed bij hoog- als bij laagtrofische organismen kunnen voorkomen. Dit alles noopt tot verder onderzoek.

## DANKWOORD

De auteurs wensen Dr. Luís G.A. Barboza (CAPES Foundation, Ministry of Education of Brazil, 70040-020 Brasília, DF, Brazil) en Lisa Devriese (Instituut voor Landbouw-, Visserij- en Voedingsonderzoek (ILVO), eenheid Dier-Aquatisch Milieu en Kwaliteit, Oostende, België) te bedanken voor respectievelijk het verschaffen van de ingesloten tabel en de foto's.

## REFERENTIES

- Andrady A.L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 62, 1596-1605.
- Andrady A.L., Neal M.A. (2009). Applications and societal benefits of plastic. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 1977-1984.
- Avio C.G., Gorbi F., Milan M., Benedetti M., Fattorini D., d'Errico G., Pauletto M., Bargelloni L., Regoli F. (2015). Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental Pollution* 198, 211-222.
- Bakir A., Rowland S.J., Thompson R.C. (2014). Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environmental Pollution* 185, 16-23.
- Barboza L.G.A., Gimenez B.C.G. (2015). Microplastics in the marine environment: Current trends and future perspectives. *Marine Pollution Bulletin* 97, 5-12.
- Barnes D.K.A., (2014). Marine plastic debris and colonization by bryozoans in the South Atlantic. *CIESM Workshop Monographs* 46, 69-77; [http://ciesm.org/online/monographs/46/CIESM\\_Monograph\\_46\\_Marine\\_Plastic\\_Litter\\_69\\_77.pdf](http://ciesm.org/online/monographs/46/CIESM_Monograph_46_Marine_Plastic_Litter_69_77.pdf).
- Barnes D.K.A., Galgani F., Thompson R.C., Barlaz M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 1985-1998.
- Bouwmeester H., Hollman P.C.H., Peters R.J.B. (2015). Potential health impact of environmentally released micro- and nanoplastics in the human food production chain: experiences from nanotoxicology. *Environmental Science & Technology* 49, 8932-8947.
- Browne M.A., Dissanayake A., Galloway T.S., Lowe D.M., Thompson R.C. (2008). Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science & Technology* 42, 5026-5031.
- Browne M.A., Galloway T.S., Thompson R.C. (2010). Spatial patterns of plastic debris along estuarine shorelines. *Environmental Science & Technology* 44, 3404-3409.
- Carlos de Sá L.C., Luís L.G., Guilhermino L. (2015). Effects of microplastics on juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*): Confusion with prey, reduction of the predatory performance and efficiency, and

- possible influence of developmental conditions. *Marine Pollution Bulletin* 196, 359-362.
- Claessens M., De Meester S., Van Landuyt L., De Clerck K., Janssen C.R. (2011). Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Marine Pollution Bulletin* 62, 2199-2204.
- Cole M., Lindeque P., Halsband C., Galloway T.S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin* 62, 2588-2597.
- Cole M., Lindeque P., Halsband C., Goodhead R., Moger J., Galloway T.S. (2013). Microplastic ingestion by zooplankton. *Environmental Science & Technology* 47, 6646-6655.
- Derraik J.G.B. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine Pollution Bulletin* 44, 842-852.
- De Tender C.A., Devriese L., Haegeman A., Maes S., Rutink T., Dawyndt P. (2015). Bacterial community profiling of plastic litter in the Belgian part of the North Sea. *Environmental Science & Technology* 49, 9629-9638.
- Doyle M.J., Watson W., Bowlin N.M., Sheavly, S.B. (2011). Plastic particles in coastal pelagic ecosystems of the Northeast Pacific Ocean. *Marine Environmental Research* 71, 41-52.
- Endo S., Takizawa R., Okuda K., Takada H., Chiba K., Kanehiro H., Ogi H., Yamashita R., Date T. (2005). Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: variability among individual particles and regional differences. *Marine Pollution Bulletin* 50, 1103-1114.
- FAO (2014). Yearbook 2012. *Fishery and Aquaculture Statistics*. Beschikbaar op: <http://www.fao.org/3/a-i3740t.pdf> (geconsulteerd op 16 april 2016).
- Farrell P., Nelson K. (2013). Trophic level transfer of microplastics: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution* 177, 1-3.
- Fendall L.S., Sewell M.A. (2009). Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin* 58, 1225-1228.
- Gauquie J., Devriese L., Robbens J., De Witte B. (2015). A qualitative screening and quantitative measurement of organic contaminants on different types of marine plastic debris. *Chemosphere* 138, 348-356.
- GESAMP (2015). Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment In: Kershaw, P. J. (editor). (IMO/FAO/UNESCO- IOC/UNIDO/ WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). Rep. Stud. GESAMP No. 90, 96 p.
- Gouin T., Roche N., Lohmann R., Hodges G. (2011). A thermodynamic approach for assessing the environmental exposure of chemicals absorbed to microplastic. *American Chemical Society* 45, 1466-1472.
- Hopewell J., Dvorak R., Kosior E. (2009). Plastics recycling: Challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 2115-2126.
- Ivar do Sul J.A., Costa M.F. (2014). The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental Pollution* 185, 352-364.
- Jambeck J.R., Geyer R., Wilcox C., Siegler T.R., Perryman M., Andrady A., Narayan R., Law K.L. (2015). Marine pollution. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347, 768-771.
- Kenyon K.W., Kridler E. (1969). Laysan Albatross swallow indigestible matter. *Auk* 86, 339-343.
- Keswani A., Oliver D.M., Gutierrez T., Quilliam R.S. (2016). Microbial hitchhikers on marine plastic debris: Human exposure risks at bathing waters and beach environments. *Marine Environmental Research* 118, 10-19.
- Kim J.W., Chang K.H., Isobe T., Tanabe S. (2011). Acute toxicity of benzotriazole ultraviolet stabilizers on freshwater crustacean (*Daphnia pulex*). *The Journal of Toxicological Sciences* 36, 247-251.
- Kirstein I.V., Kirmizi S., Wichels A., Garin-Fernandez A., Erler R., Löder M., Gerds G. (2016). Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. *Marine Environmental Research* 120, 1-8.
- Law K.L., Moret-Ferguson S., Maximenko N.A., Proskorowski G., Peacock E.E., Hafner J., Reddy C.M., (2010). Plastic accumulation in the North Atlantic subtropical gyre. *Science* 329, 1185-1188.
- Law K.L., Thompson R.C. (2014). Microplastics in the seas. *Science* 345, 144-145.
- Lin V.S. (2016). Research highlights: impacts of microplastics on plankton. *Environmental Science Processes & Impacts* 18, 160.
- Lusher A.L., Burke A., O'Connor I., Officer R. (2014). Microplastic pollution in the Northeast Atlantic Ocean: Validated and opportunistic sampling. *Marine Pollution Bulletin* 88, 325-333.
- Mato Y., Isobe T., Takada H., Kanehiro H., Ohtake C., Kaminuma T. (2001). Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. *Environmental Science & Technology* 35, 318-324.
- Moore C.J. (2008). Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat. *Environmental Research* 108, 131-139.
- Moore C.J., Moore S.L., Leecaster M.K., Weisberg S.B. (2001). A comparison of plastic and plankton in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin* 42, 1297-1300.
- Murray F., Cowie P.R. (2011). Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine Pollution Bulletin* 62, 1207-1217.
- Napper E., Thompson R.C. (2016). Release of synthetic microplastic plastic fibres from domestic washing machines: Effects of fabric type and washing conditions. *Marine Pollution Bulletin* 112, 39-45.
- Oehlmann J., Schulte-Oehlmann U., Kloas W., Jagnytsch O., Lutz I., Kusk K.O., Wollenberger L., Santos E.M., Paull G.C., Van Look K.J.W., Tyler C.R. (2009). A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological* 364, 2047-2062.
- PlasticsEurope (2015). Plastics – the Facts 2015 An analysis of European plastics production, demand and waste data. Beschikbaar vanop: <http://www.plasticseurope.org/> (geconsulteerd op 28 november 2015).
- Rani M., Shim W.J., Han G.M., Jang M., Al-Odaini N.A., Song Y.K., Hong S.H. (2015). Qualitative analysis of additives in plastic marine debris and its new products. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 69, 352-366.
- Ricucci D., Siqueira J.F. (2010). Biofilms and apical periodontitis: Study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *Journal of Endodontics* 36, 1277-1288.

- Rios L.M., Moore C., Jones P.R. (2007). Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Marine Pollution Bulletin* 54, 1230-1237.
- Rios L.M., Jones P.R., Moore C., Narayan U.V. (2010). Quantitation of persistent organic pollutants adsorbed on plastic debris from the Northern Pacific Gyre's "eastern garbage patch". *Journal of Environmental Monitoring* 12, 2226-2236.
- Ryan P.G., Moore C.J., van Franeker J.A., Moloney C.L. (2009). Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 1999-2012.
- Sivan A. (2011). New perspectives in plastic biodegradation. *Biotechnology* 22, 422-426.
- Soroudi A., Jakubowicz I. (2013). Recycling of bioplastics, their blends and biocomposites: A review. *European Polymer Journal* 49, 2839-2858.
- Teuten E.L., Saquing J.M., Knappe D.R.U., Barlaz M.A., Jonsson S., Björn A., Rowland S.J., Thompson R.C., Galloway T.S., Yamashita R., Ochi D., Watanuki Y., Moore C., Viet P.H., Tana T.S., Prudente M., Boonyatumanond R., Zakaria M.P., Akkhangong K., Ogata Y., Hirai H., Iwasa S., Mizukawa K., Hagino Y., Imamura A., Saha M., Takada H. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 2027-2045.
- Thompson R.C., Moore C.J., vom Saal F.S., Swan S.H. (2009b). Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 2153-2166.
- Thompson R.C., Olsen Y., Mitchell R.P., Davis A., Rowland S.J., John A.W.G., McGonigle D., Russell A.E. (2004). Lost at sea: where is all the plastic? *Science* 304, 838.
- Thompson R.C., Swan S.H., Moore C.J., vom Saal F.S. (2009a). Our plastic age. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 1973-1976.
- UNEP (2015). Biodegradable plastics and marine litter. Misconceptions, concerns and impacts on marine environments. United Nations Environment Programme (UNEP), Nairobi, 274pp.
- UNEP (2016). Marine plastic debris and microplastics – Global lessons and research to inspire action and guide policy change. United Nations Environment Programme, Nairobi, 38pp.
- Van Cauwenberghe L., Devriese L., Galgani F., Robbins J., Janssen C.R. (2015). Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects. *Marine Environmental Research* 111, 5-17.
- Van Cauwenberghe L., Janssen C.R. (2014). Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution* 193, 65-70.
- Van Cauwenberghe L., Vanreusel A., Mees J., Janssen C.R. (2013). Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environmental Pollution* 182, 495-499.
- Vethaak A.D., Leslie H.A. (2016). Plastic debris is a human health issue. *Environmental Science & Technology* 50, 6825-6826.
- Watts A.J.R., Urbina M.A., Goodhead R., Moger J., Lewis C., Galloway T.S. (2016). Effect of microplastic on the gills of the shore crab *carcinus maenas*. *Environmental Science & Technology* 50, 6364-6369.
- Weinstein J.E., Crocker B.K., Gray A.D. (2016). From macroplastic to microplastic: Degradation of high density polyethylene, polypropylene, and polystyrene in a salt marsh habitat. *Environmental Toxicology and Chemistry* DOI 10.1002/etc. 3432.
- Wright S.L., Thompson R.C., Galloway T.S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environmental Pollution* 178, 483-492.
- Yang D., Shi H., Li L., Li J., Jabeen K., Kollandhasamy P. (2015). Microplastic pollution in table salts from China. *Environmental Science & Technology* 49, 13622-13627.
- Zettler E.R., Mincer T.J., Amaral-Zettler L.A. (2013). Life in the "plastisphere": Microbial communities on plastic marine debris. *Environmental Science & Technology* 47, 7137-7146.

## Potential welfare issues of the Siamese fighting fish (*Betta splendens*) at the retailer and in the hobbyist aquarium

*Mogelijke welzijnsproblemen bij de Siamese kempvis (Betta splendens) in sierviswinkels en bij de hobbyist*

C.C.F. Pleeging, C.P.H. Moons

Department of Animal Nutrition, Genetics, Production and Ethology, Ghent University, Heidestraat 19, B-9820 Merelbeke, Belgium

Frans\_pleeging@hotmail.com  
Christel.Moons@ugent.be

### ABSTRACT

*Betta splendens* is an extremely popular ornamental fish among hobby aquarists. It has an interesting behavioral repertoire, particularly where male aggression and territoriality are concerned. The lack of scientific studies investigating optimal housing conditions in combination with the wide variety of commercially available husbandry products, raises questions about the welfare status of these fish in captivity. In this article, an overview of the available literature on the biology of the betta and general considerations of ornamental fish keeping is given, and environment- and animal-related factors with potential impact on the welfare of *Betta splendens* are examined. Although more research using biological and physiological indicators is needed, the following factors constituting welfare problems have been identified: an aquarium of limited dimensions, prevalence of *Mycobacterium* spp. infection, aggression to and from conspecifics or other species in the same aquarium and the limited ability to escape, potential for stress due to prolonged visual contact between males in shops and during shows, and the lack of environmental enrichment in the form of sheltering vegetation.

### SAMENVATTING

*Betta splendens* is een zeer populaire siervissoort in de aquaristiek. Ze heeft een interessant diersoortspecifiek gedrag, vooral wat het territoriale gedrag en de agressie van mannelijke dieren betreft. De schaarse wetenschappelijke informatie over de huisvesting in combinatie met de grote verscheidenheid aan huisvestingsmogelijkheden doet vragen rijzen over het welzijn van deze dieren in gevangenschap. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de voor handen zijnde wetenschappelijke literatuur betreffende de biologie en de gebruiken in de aquaristiek, met als doel omgevings- en diergerelateerde factoren in kaart te brengen die mogelijk een impact hebben op het welzijn van *Betta splendens*. Hoewel meer onderzoek nodig is, waarin gebruik gemaakt wordt van biologische en fysiologische indicatoren, kunnen enkele mogelijke welzijnsproblemen aangeduid worden: te kleine aquariumafmetingen, prevalentie van *Mycobacterium* spp., agressie van en naar soortgenoten of andere vissoorten in het aquarium en de beperkte mogelijkheid om eraan te ontsnappen, mogelijke stress door visueel contact tussen mannelijke individuen in winkels en tijdens shows en het gebrek aan omgevingsverrijking die een schuilplaats vormt voor deze vissoort.

### INTRODUCTION

Ornamental fish keeping is a very popular hobby (Peter and Tan, 1997; Chapman and Fitz-Coy, 1997; Tlusty, 2002; Whittington and Chong, 2007). Each year, over a billion ornamental fish are sold worldwide (Ornamental Aquatic Trade Association, Whittington and Chong, 2007). Despite the variety in fresh

water fish species, certain species are extremely popular amongst hobbyists, including the tropical fish *Betta splendens* (Chapman and Fitz-Coy, 1997). In Thailand, known for its ornamental fish production, *Betta splendens* represents 10% of the annual fish export (Wiwatchaisaet, as cited in Meejui et al. 2005).

In recent years, scientific interest in the welfare of farmed fish produced for food, has increased (Brand-

son, 2007). In contrast to its popularity however, there is very little scientific literature documenting the optimum for various housing factors in ornamental fish keeping. As a consequence, the hobbyist mostly relies on non-scientific manuals, his/her own experience and that of peers. This lack of scientific knowledge is accompanied by a wide variety of aquaria (in many sizes and shapes), technical equipment (consisting of different types of filtration, heating and lighting systems), aquarium accessories (live plants, plastic ornaments, rocks, etc.) in both physical and online pet stores. Consequently, ornamental fish may be kept in any number of ways, some of which seem quite extreme. For example, a popular way of keeping *Betta splendens* is the so-called Betta-vase. This is usually a decorative vase, in which the animal lives in a very small volume of water without any temperature maintenance, filtration system or vegetation. A similar type of small aquarium is used by pet stores selling male bettas. In this context, the fish are often housed individually in transparent glass jars, smaller than the typical vase. In addition, these jars are placed adjacently. Being in close visual proximity to each other performing aggressive displays to chase the opponent. Shop keepers count on these displays to make the fish more appealing to buyers. The above-mentioned examples touch on potential issues of water quality, available space, exposure to aggressive opponents and the opportunity to hide, and there may be others.

Owing to the growing knowledge of fish physiology and cognitive functions, the general scientific opinion is that fish, like terrestrial animals, are sentient beings; consequently, they are capable of experiencing suffering (Bshary et al., 2002; Laland et al., 2003; Chandroo et al., 2004; Huntingford et al., 2006; Braithwaite and Boulcott 2007; Broom, 2007; Braithwaite et al., 2013). However, disagreement exists on some aspects of this sentience, like the ability of fish to feel pain (Iwama, 2007; Rose, 2007; Key, 2016). The notion of pain sensation in fish is based on the work by Sneddon (2002; 2003a; 2003b), who identified nociceptors in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and showed behavioral changes following a painful stimulus in the nociceptors. Although other authors acknowledge the existence of nociception in fish, they argue that fish cannot experience the emotional component of pain, because they lack a neocortex (Iwama, 2007; Rose, 2007; Key, 2016). The recency of the article of Key (2016) and the many reactions in response (Balcombe, 2016; Braithwaite and Droegge, 2016; Broom, 2016; Dinets, 2016; Mather, 2016) indicate that this debate is ongoing. Additionally, the study of complex behaviors in fish, like learning through observation, have led to more insight into the cognitive functions of fish. Research has shown that fish are most likely sentient beings, like mammals and birds, because they share the same complex behaviors (Laland et al., 2003; Brandson, 2007; Chandroo et al., 2004). Finally, the growing knowledge of the stress

response and the negative impact of chronic stress in fish have led to the conclusion that fish can suffer due to stress (Mommensen et al., 1999; Chandroo et al., 2004; Huntingford et al., 2006; Iwama, 2007).

Animal welfare has been generally assessed in the literature, in three different ways (Fraser, 2003): (1) the biological functioning of an animal, (2) minimal suffering and the promotion of contentment and (3) the aim to provide a natural life for an animal. Another way to conceptualize animal welfare is by the widely known historic concept of the ‘five freedoms’, initially put forward by the Brambell committee and later adjusted by the FAWC (farm animal welfare committee), which combines physical health and psychological well-being (FAWC 2009). In this article, the same description of welfare is used as Broom (1986) did, namely that welfare is an individual state as related to its attempts to cope with its environment, in which the three points of Fraser (2003) are included. Despite the diversified scientific literature about fish welfare in general, there are few species-specific welfare data available. The aim of this paper was to examine potential welfare problems in ornamental bettas kept in captivity by combining what is known about the biology of the species and the general information available on housing ornamental fish.

## SPECIES DESCRIPTION

*Betta splendens*, also known as Siamese fighting fish or betta, was first described as a species in 1910 by C.T. Regan (Smith, 1945). Wild fish have a brown-green color and both sexes are about 5 – 5.5 cm in size (Smith, 1945; Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001). Domesticated bettas however, are 6 – 6.5 cm (females are a little smaller), and male fish are bred in almost every imaginable color. Females have less bright colors than males (Smith, 1945). There are two varieties of domestic bettas, the betta bred for fighting and the ornamental variety (Smith, 1945; Meejui et al., 2005). To the authors’ knowledge, only the ornamental variety with long and colorful fins is kept in Europe.

Bettas are thought to originate from Thailand (Smith, 1945). Their natural habitat exists of shallow ponds and rice paddy fields with plenty of vegetation. This vegetation provides cover against fish-eating birds, like egrets, herons and kingfishers (Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001). The water is typically high in temperature, low in oxygen and of low pH (Smith, 1945; Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001). Bettas are carnivorous fish with a diet consisting of mosquito larvae and other water insects, which form a source of protein and fat. It is estimated that adult male fish eat about ten to fifteen thousand larvae per year (Smith, 1945; Goldstein, 2004).

Bettas are a member of the family of the Anabantidae, known for their labyrinth organ, which is



a pharyngeal diverticulum that enables consumption of oxygen from the air (Liem, 1963; Kang and Lee, 2010; Alton et al., 2012). Consequently, bettas can survive in water with oxygen levels of as low as 0 - 2 ppm, while other fish die at this concentration (Moore, 1942; Goldstein, 2004). The labyrinth organ is also responsible for the production of air bubbles for nest building. Male bettas build a bubble nest in the centre of their territory, which is both a territorial mark and the site of egg deposition by the female (Braddock and Braddock, 1959; Bronstein, 1982).

The species is well-known and has been much studied for its aggressive and territorial behavior by the male fish, which is also the reason why the species is popular in Asian countries for fighting contests (Smith, 1945; Simpson, 1968; Goldstein, 2004). When placed in the same aquarium, male fish often fight until one dies (Goldstein, 2004).

## ENVIRONMENT-RELATED FACTORS

### Water quality

One of the most important aspects of fish husbandry is the water quality, characterized by a number of water parameters, such as temperature, concentration of ammonia/ammonium, nitrite and nitrate, and oxygen levels (Hirayama, 1974). Water conditions outside the optimal range have an impact on fish physiology, which could eventually be fatal (Hirayama, 1974; Hastein et al., 2005; Demeke and Tassew, 2016).

Wild fish are well adapted to the water conditions of their natural environment (Hastein et al., 2005), and the same is true for bettas (Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001). Jaroensutasinee and Jaroensutasinee (2001) found that the average water temperature in natural betta habitats during breeding season is  $29.9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.4$ , and that pH levels are acidic and range from 5.28–5.80.

For bettas kept as ornamental fish, research about the optimal range of most water parameters is lacking. An indication for the optimal captive water temperature, at least for breeding has been described by Goodrich and Taylor (1934). The authors considered the creation of a bubble nest as a sign of well-being in male bettas and noted that these animals did not build bubble nests when the water temperature was below  $24.4\text{ }^{\circ}\text{C}$  or above  $27.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Most bubble nests were built at a temperature of  $26.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ , leading the authors to conclude this to be the most optimal temperature for breeding in bettas. Although this temperature may first and foremost be optimal for egg development, it is unlikely that the optimal temperature for adult bettas deviates greatly. If temperature would differ significantly, it would be a threat to the survival of particularly the male betta because of prolonged inadequate temperatures. The male would leave the nest exposed to predators and this would eventually result in the extinction of the species.

The nitrogen cycle, in which bacteria in the water convert fish waste products and excess food to ammonia/ammonium, then to nitrite and finally to nitrate (Etscheid, 2003), is another important aspect of water quality. Even low levels of ammonia/ ammonium or nitrite may be lethal to ornamental fish, but no information has been found in the scientific literature about the toxicity levels in bettas. Extrapolation from other fish species is not possible because of the great variability in sensitivity between fish species (Hamlin, 2006; Dolezelova et al., 2011). Also waste products, like uneaten food particles or dead plant leaves, inevitably form in an aquarium. The aerobic breakdown of ammonia and waste products by bacteria lower the amount of dissolved oxygen in the water, which can be potentially lethal (Hirayama, 1974). However, because of the labyrinth organ in bettas, dissolved oxygen might be less of a problem for this species.

In order to manage good water quality, aquarium water should be filtered or changed periodically. A filter physically removes solid waste and provides a surface for bacterial attachment for the biological degradation of waste products and ammonia/ ammonium (Hirayama, 1974). Without added bacteria, the conditioning of a filter takes about 40 - 60 days. After this period, ammonia and nitrite are normally low (Hirayama, 1974). Without a filtration system, water changes are necessary in order to prevent substances to build up (Goldstein, 2004). According to manufacturers of water quality testing products and conditioning products, even nitrate may become toxic in large quantities. However, to the authors' knowledge, no scientific literature exists regarding this topic for home aquaria. Hobbyists literature provides recommendations but these rely on experience. In addition, there is no literature available about the quantity of waste product excretion per betta. This could be interesting to know, in order to calculate the minimum volume of water necessary for a betta given a specific partial water replacement regime. In more recent literature, the impact of chronic doses of nitrite and, more surprisingly, nitrate on health and growth in fish has been described (Voslarova et al., 2008; Bussel et al., 2012; Davidson et al., 2014; Monsees et al., 2016). Moreover, research on production settings of fish has shown that plants can reduce nitrogenous compounds by 25 % (Ng et al., 1990). However, to know the extent of a similar influence in a betta aquarium demands more study.

### Food and nutrition

Food and nutrition are essential for the health and survival of ornamental fish (Lewbart, 1998; Mandal et al., 2010). Research has shown that the daily amount of food required to maintain body weight, varies between species, for example  $< 2.4\%$  of the body weight in food per day for zebrafish (*Danio rerio*),  $1.9\%$  for neon tetras (*Paracheirodon innesi*),  $< 1.5\%$  for moonlight gourami (*Trichopodus microlepis*)

and < 1.0 % for *kribensis* (*Pelvicachromis pulcher*) (Pannevis and Earle, 1994). Information on the maintenance feeding requirements for the betta, seems to be lacking.

As previously mentioned, wild bettas are carnivorous fish, eating primarily mosquito larvae. However, providing formulated dry food to captive bettas has some benefits because it is less variable in nutritional value and is thus less labor-intensive to maintain good quality. Moreover, it is less costly and there is less risk of pathogen contamination, for example with *Mycobacterium* spp. (Sales and Janssens, 2003; Somsiri et al., 2005; Mandal et al., 2010). However, combining live and formulated food provides better results for growth, reproduction and survival rate of young bettas than a single diet of live or formulated food (Mandal et al., 2010; Puello-Cruz et al., 2010; Sipaubá-Tavares et al., 2016).

Both source and quantity of protein in betta food are also important factors. Betta young fed protein of animal origin show better growth and lay more eggs with a higher hatching rate than young raised with food containing proteins of plant origin (James and Sampath, 2003). The quantity of protein in betta food is an even more important factor. Growth in young bettas is optimal when fed food containing 31-35 % protein, but impairs at lower or higher percentages (James and Sampath, 2003; Zuanon et al., 2016). In addition, in female bettas, the ovaries are less developed and eggs are of lesser quality when fed less than 35% protein (James and Sampath, 2003). A protein content of 45% and more is neither favorable for growth or fecundity, possibly due to increased energy expenditure for protein catabolism and increased production of ammonia (James and Sampath, 2003). In 1945, Smith described waste products as growth inhibiting substances and considered them not favorable for propagation of young bettas. When fish are overfed, the excessive excretion of feces and urine combined with uneaten food results in a decreased water quality (Lewbart, 1998). This is also the reason why bettas, and fish in general, need to be fed efficiently, i.e. not too frequently per day and using portions of moderate size (Lewbart, 1998; Sales and Janssens, 2003). For betta young, this means a maximum of two feedings per day (James and Sampath, 2004).

Carotenoids are also important in the food of bettas as they are needed in the immune response. There may also be an interplay with the color of the scales of the fish, as red bettas need carotenoids to maintain their color. When red males are supplemented with carotenoids, their color becomes darker red and their generalized cell mediated immune response is higher. Blue males on the other hand, need few carotenoids for their color and when these males are supplemented with carotenoids, the immune response is even higher than in the red supplemented males (Clotfelter et al., 2007). The increase in immune response by carotenoid supplementation has been found in several

other fish and bird species (Hill, 1999; Blount et al., 2003; Amara et al., 2004; Peters, 2007). However, the question remains if the immune response is lower in red bettas than in blue bettas when fed the same quantity of carotenoids. It is also important to know if the possible lower immunity of red bettas has significant negative health effects.

### Aquarium size

Wild bettas have a mean population density of 1.7 animal per square meter (range = 0.5 – 4.8) with a nearly 1:1 M:F sex ratio (Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001). The presence of the labyrinth organ in bettas has led to the belief that these fish do not need a large volume of water, since they can extract oxygen from air. However, as oxygen decreases faster in smaller volumes of water, so do waste products accumulate much quicker. Despite other potential factors, like a limited possibility of swimming in small volumes of water, scientific and popular sources use waste product accumulation as the only determinant when recommending aquarium sizes. According to the Ornament Aquatic Trade Association, an aquarium should contain at least four litres of water to prevent the accumulation of toxic products, but this advice is regardless of fish species. When advice is species-specific, it generally remains quite vague. A similarly vague advice for betta, i.e. a large aquarium is preferred over a small one, is given by Goldstein (2004) in his betta handbook.

### Social housing and other exposure to conspecifics

Bettas are considered to be territorial fish, particularly the male (Smith, 1945; Simpson, 1968; Goldstein, 2004). In captivity, this may potentially lead to welfare problems due to stress from social interactions when kept with other fish of the same or different species.

Aggressive displays and fighting between male fish are common, even if it is costly from a metabolic point of view (Haller and Wittenberger, 1987; Alton et al., 2012). Male fish produce the endogenic androgen 11-ketotestosterone, responsible for male characteristic development and maintenance (Hackman, 1973). The blood concentration of this hormone rises in aggressive interactions and lowers in non-aggressive interactions (Francis et al., 1993). In other fish species, it has been shown that there is a negative correlation between 11-ketotestosterone and a hormone produced during stressful situations, i.e. cortisol (Pickering et al., 1987; Pottinger et al., 1996). On the other hand, when two betta males interact aggressively while being watched by another male conspecific, the 11-ketotestosterone blood levels rise (Dziewieczynski et al., 2006), implying cortisol levels might be decreased.

A study by Fantino et al. (1972) has indicated that male bettas are highly motivated to perform aggres-

sive displays and that this behavior therefore has a positive valence. Providing access to a mirror image and allowing to perform aggressive displays towards it, could be used as a positive reinforce to teach a male betta to swim through a hoop (Fantino et al., 1972). However, male bettas kept in separate tanks with prolonged visual contact with each other, reduce their aggressive displays over time (Figler, 1972; Peeke and Peeke, 1970). The process takes one to several days, in which every component of the threat display (for example gill cover erection, biting, air gulping) wanes at different times. The question is whether it concerns actual habituation to the sight of the other male betta, or whether other mechanisms, similar to learned helplessness, underlie these findings. Although threat signals may wane following prolonged exposure of male bettas to each other, this does not seem to influence fight readiness or fight outcome (Meliska and Meliska, 1976; Meliska et al., 1980).

Female bettas, with the exception of the 24 hours before mating, prefer not to be kept with a male conspecific and even choose solitude over being in the presence of a male (Snekser et al., 2006). In the presence of a male, the female hides and appears to be intimidated (Bronstein, 1982). When females may choose to be near either a male or a small group of one to three females, they spent more time near the females (Snekser et al., 2006). Although female bettas also fight when placed together in a small aquarium, fighting is more rare, as individual pairs, particularly in larger groups, and they do not have an uninterrupted experience of the aggressive display behavior typically preceding fights (Braddock and Braddock, 1955).

Despite the fact that male bettas are usually housed separately because of their aggressiveness and territorial behavior, it has been documented that a stable community of betta males and females may be established if sufficient space is available (Goldstein, 1975). In a study by Goldsteins (1975), seven males and eight females could be housed in an L-shaped aquarium with arms of 229 x 38 x 51 cm without incidence of severe injuries or complete intimidation.

When multiple fish species are kept together, behavioral changes are seen both at interspecies and at species level (Sloman et al., 2011). It has also been documented that male bettas send aggressive signs to other fish species, which may be followed by an actual fight (Johnson and Peeke, 1972; Johnson and Johnson, 1973; Miley and Burack, 1977). When, during scientific observations, a catfish (*Corydoras reticulatus*) was briefly attacked by a betta, the attacks quickly ended as it failed to attack back (Johnson and Johnson, 1973). This finding is supported by Braddock and Braddock's (1955) remark that aggressiveness has to be mutual in order to start a fight. In the above mentioned study by Johnson and Johnson (1973), paradise fish (*Macropodus opercularis*) and dwarf gourami (*Trichogaster lalius*) had the most vigorous fights with betta, which lasted for an hour.

## Environmental enrichment

Environmental enrichment for fish is increasingly gaining interest, particularly for fish typically kept in barren environments, e.g. under laboratory conditions (Williams et al., 2009). The fact that most captive environments do not have the same amount of complexity as the animal's natural habitat may have a negative effect on welfare, as complex environments provide animals with hiding places and, consequently, with a sense of control over their environment (Broom, 1991; Morgana and Tromborg, 2007). In an experimental study in rats by Jay Weiss (1972), it has been demonstrated that environmental control reduces stress in animals even in aversive situations. In fish, this may relate to any stimulus they consider to be a threat, whether it be other fish or the close presence of humans or other pets in the home. Finally, it has been shown that early environmental enrichment may have positive effects on fish later in life, such as the ability to cope better with novel environments, improvement of neuronal plasticity and higher brain mass, including a more developed cerebellum (Kihslinger and Nevitt, 2006; Salvanes et al., 2013; Manuel et al., 2015).

The natural habitat of the betta in Thailand consists of shallow pools with dense vegetation that constitute cover against predators such as fish-eating birds (Smith, 1945; Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001). Since even the captive environment consists of stimuli that may be perceived as threatening by fish, for example movement around the aquarium, domestic bettas may also have a need to retreat into vegetation in order to escape these stimuli. It has been documented that zebrafish (*Danio rerio*) and checker barb (*Puntius oligolepis*) choose an environment with vegetation when given the choice (Kistler et al., 2011; Schroeder et al., 2014). Because wild zebrafish are equally a prey species and have a similar natural habitat as bettas, it has been suggested that the betta might have the same preference as zebrafish for cover in captivity (Engeszser et al., 2007).

Aside from nutritional needs, food and foraging opportunities may also provide a type of mental stimulation for captive animals (Williams et al., 2009). Contra-freeloading, the phenomenon that an animal favors to work for its food while food is also freely available, has been seen in other animal species (Jensen, 1963; McGowan et al., 2010). When foraging, bettas remain near the water surface to catch prey that reside in the water or have landed on the surface. When they fail to get the prey on the first attack, these food items flee. When such prey is in the water, it attempts to seek cover by diving deeper, while the betta chases it. Given the predatory nature of bettas (Smith, 1945; Paplona et al., 2004), it is likely that this species has a high internal motivation for performing hunting behavior. When they are fed dry food or frozen insects, these items may float on the water surface or sink to the bottom. However, the need for chasing flee-

ing food disappears. Research on captive carnivorous mammals has shown that providing opportunities to display predatory behavior, reduces the need for coping behavior (as expressed by stereotypies), and is thought to increase welfare (Bashaw et al., 2003).

## ANIMAL-RELATED FACTORS

### Disease

The authors have opted to focus on diseases, for which, in the literature, the betta in particular have been highlighted. As a result, information on other diseases, such as white spot (*Ichthyophthirius multifiliis*) and fin rot, the common diseases for ornamental fish in general are beyond the scope of this article and can be found elsewhere (Gratzek, 1988; Lewbart, 2001; Roberts et al., 2009; Crim and Riley, 2012).

'Cotton wool' disease, caused by *Flavobacterium columnaris*, is a bacterial disease, which is especially pathogenic to betta species (Goldstein, 2004). Infected fish show ulcerative lesions with mucus-like filamentous spots (Decostere, 1998; Goldstein, 2004). The bacterium also colonizes the surfaces of the gill, causing necrosis of the extremity of the gill filament, ultimately resulting in progressive necrosis of the entire gill filament (Roberts and Smith, 2011). This causes osmoregulatory problems, which are fatal. The disease can be treated with antibiotics. However, antimicrobial resistance has been documented (Declercq et al., 2013). Prevalence studies in bettas and other fish species are lacking and apart from the publication by Goldstein (2004), there is no literature available about this disease in bettas.

Another condition considered to be important for bettas is 'velvet' disease (Goldstein, 2004). This disease is caused by a dinoflagellate, *Piscinoodinium* spp. Young fry is especially sensitive for infection and the development of clinical disease. The parasite is abundantly present and flourishes in water of poor quality. Skin and gills become infected, resulting in hyperplasia, hemorrhage, osmoregulatory compromise and necrosis (Roberts et al., 2009). Prevention is key for this disease, as fry will mostly die when exhibiting clinical signs (Goldstein, 2004).

Finally, mycobacteriosis is the most common cause of death in bettas on breeding farms in Thailand, and it also poses risks for humans. In fish, it is a slowly progressive disease accompanied by the formation of granulomas in the liver, spleen and kidneys of infected fish (Puttinaowarat, 1999; Zanoni et al., 2008). Other symptoms are extreme anorexia, exophthalmia, keratitis and skeletal deformities (Zanoni et al., 2008; Chansue et al., 2009). In humans, the main clinical signs of this zoonotic disease are limited to skin lesions and ulcers (Gray et al., 1990; Speight and Williams, 1997).

The prevalence of *Mycobacterium* spp. of domes-

tic bettas in breeding farms in Thailand is 0 - 8 % (Pungkachoboon, 1994). *M. fortuitum* and *M. marinum* are most commonly isolated in bettas (Puttinaowarat, 1999; Puttinaowarat et al., 2002). Zanoni et al. (2008) studied the prevalence of *Mycobacterium* spp. in ornamental fish in Italy, including bettas. In this study, dead or dying fish were selected from home aquaria, with a prevalence of 46.8 %, of which 26 of the 39 examined bettas were positive for some species of *Mycobacterium*. In a study by Prearo et al. (2004), a prevalence of 45 % was found in 312 samples of ornamental fish in Italy. The bettas in that study were commonly infected, but specific data per fish species are absent (Prearo et al., 2004).

### Body conformation

The domestic ornamental variety of *Betta splendens*, and more specifically, of the males, is well-known and loved for their long and elegant fins (Smith, 1945; Meejui et al., 2005). Fins are living body parts and contain nerve cells, resulting in pain response when they are damaged (Brandson, 2007). In the scientific literature, no typical fin-associated illness has been found for this species. However, fin damage due to attacks by other fish, e.g. by tiger barbs (*Punctigrus tetrazona*), as is anecdotally known to occur in a multispecies aquarium, is not unlikely.

In addition, the question is whether the long fins themselves hamper the fish to function properly. In other fish species with long tails, such as the montezuma swordtail (*Xiphophorus montezumae*) and the threatfin rainbowfish (*Iriatherina werneri*), males with long fins have a higher metabolism (Basolo and Alcaraz, 2003; Trappett et al., 2013). While in guppies (*Poecilia reticulata*) and threatfin rainbowfish, long fins are not responsible for lower swimming speed, in zebrafish they are (Nicoletto, 1991; Plaut, 2000; Trappett et al., 2013).

## DISCUSSION

The aim of this article was to examine if and what potential welfare issues exist for captive bettas. Common practices for keeping bettas, i.e. living in small volumes of water, contact with conspecifics and lack of environmental enrichment were described. Other housing aspects often discussed for ornamental fish keeping in general were highlighted.

Water parameters outside the optimal range have an impact on fish physiology (Hastein et al., 2005; Demeke and Tassew, 2016). The water parameter values found in the natural habitat of bettas seem to match well with the recommendations in the non-scientific literature. The same may not be true however, for the size of the aquarium that is commonly used. Aquarium size recommendations are primarily based on waste product accumulation (ammonia, ni-

trite and nitrate). In the literature, it has been reported that even low doses of these products may have negative impact on fish, particularly in case of ammonia and nitrite, and may be lethal (Voslarova et al., 2008; Bussel et al., 2012; Davidson et al., 2014; Monsees et al., 2016). To the authors' knowledge, no exact toxicity levels for bettas are available, and extrapolation from other species should be exercised with caution. Nitrate susceptibility, for example, seems to vary between fish species (Hamlin, 2006; Dolezelova et al., 2011). This is of absolute importance as many bettas are often kept in small vases without a filtration system. Therefore, water changes are necessary for maintaining good water quality. However, without proper knowledge of the toxicity levels in bettas and the amount of nitrogenous substances produced by the fish, there is no scientific base for recommendations on water change frequency in betta aquaria. Additionally, fluctuations in water parameters, either as a result of water changes or the fast accumulation of waste products in smaller volumes, and their potential effect on welfare should be kept in mind. Finally, live plants might have a stabilizing effect in betta aquaria as they have a reducing effect on nitrogenous compounds (Ng et al., 1990).

Species-adapted nutrition is of the utmost importance for the health and survival of betta fish. In the scientific literature, the combination of live and formulated food has been reported to result in the best growth and survival rate in young bettas (Mandal, et al., 2010; Puello-Cruz et al., 2010; Sipaub-Tavares et al., 2016). If young bettas are fed with formulated food, it should contain 35% proteins, and proteins of animal origin are preferred (James and Sampath, 2003); For betta breeders, there is hence sufficient evidence-based literature on the correct feeding of betta fish. However, for adult bettas and bettas, which are not used for breeding, such feeding guidelines are still lacking. There are betta foods available that meet the nutritional needs of these fish, but they are mostly of a non-living nature. When floating on the surface, such commercial food items allow bettas to attack them from underneath, much like with live prey in natural conditions. Other foods may sink to the bottom, allowing the betta to chase them. However, it remains to be seen whether this mimics natural hunting conditions. To date, there are no data to confirm or disprove an internal motivation for predatory behavior that may be frustrated by captive feeding conditions in captivity.

Certain fish diseases are mentioned as particularly relevant for bettas, such as cotton wool disease and velvet disease (Goldstein, 2004). However, more research is necessary in order to evaluate the exact impact of these two diseases on bettas. Although the cited studies on the prevalence of *Mycobacterium* spp. in Thailand (Pungkachoboon, 1994; Puttinaowarat, 1999; Puttinaowarat et al., 2002; Somsiri et al., 2005) are not quite recent, they provide an indication that *Mycobacterium* spp. might be a serious health issue

for bettas. In a more recent study by Zanoni et al. (2008), quite a number of dead or dying bettas were infected with *Mycobacterium* spp. However, the isolation of *Mycobacterium* in these fish does not automatically mean that this pathogen is the cause of illness or death (Zanoni et al. 2008). More epidemiological research needs to be done on the current prevalence and pathological impact on the betta in order to define the welfare implications.

Social housing is a complex matter in bettas. First, housing males together without continuous conflict may not be feasible unless specific dimensions and aquarium shapes are employed, for example as described by Goldstein (1975). However, it must be noted that this author obtained a stable population of male and female bettas by gradually introducing fish and removing those that, following the first aggressive encounter, became completely intimidated, i.e. remaining immobile in a corner of the aquarium with disappearance of eating behavior). Consequently, during this process, a selection had occurred of a population that could cope with social housing. It also remains to be seen whether the size of the aquarium needed to socially house multiple males and females is realistic for hobbyists. Consequently, unless under specific circumstances, male bettas are best kept physically separate. Secondly, females only seek out betta males a short while before mating, and hide from them all other times (Bronstein, 1982) while preferring to be with other females (Snekser et al., 2006). Hence, it is best not to house males and females together, unless the females are given retreating space and other females live within the group. Thirdly, similar aggression problems between betta males and fish from other species may occur, but data are rather scarce. The size of the aquarium and sufficient vegetation are most likely to be important stabilizing factors (Braddock and Braddock, 1955).

Housing male bettas in separate tanks while allowing them to see each other causes them to frequently perform aggressive displays. Data indicate that being able to see another male betta and threaten it, has rewarding properties. However, the same may not be true for prolonged visual contact. The observation that males with waned threat displays will readily attack other males when placed in a different context (Meliska and Meliska, 1976), could be considered support for the hypothesis stating that a male habituates to the presence of another male. However, an alternative explanation, in line with Weiss' (1972) observations of perceived lack of control by animals over their environment, is that a male -in close and enduring visual contact with another male- experiences increased frustration and eventually stress due to the inability to attain the desired outcome, i.e. chase the opponent. The authors of the present article hypothesize that the observed decrease in threat displays, as reported by several other authors (Figler, 1972; Peeke and Peeke, 1970; Meliska and Meliska, 1976), is the consequence of a rise in cortisol and the associated

decrease in 11-ketotestosterone, the latter being the hormone that is related to aggressive behavior. Future research should focus on testing this hypothesis to determine whether enforcing permanent visual contact between male bettas constitutes a welfare problem.

Environmental enrichment, particularly in the form of vegetation that functions as shelter, is also important for betta welfare because of the natural habitat of bettas (Smith, 1945). An enriched environment also allows animals a greater control over their environment, which has been shown in other species to be important to reduce the risk of chronic stress (Weiss, 1972; Morgana and Tromborg, 2007). Finally, there is a positive effect on brain development in young fish (Kihlslinger and Nevitt, 2006; Salvanes et al., 2013; Manuel et al., 2015). Although recently, the interest in this topic is increasing for species used in laboratory settings, the effect of barren environments in pet bettas remains to be examined.

Finally, particularly betta males have long fins that may be the target of attacks by other fish. Fins of fish belong to the sensitive body parts (Brandson, 2007), so welfare may be reduced when fins are injured. Data on this topic as well as on the question whether the long fins of ornamental bettas cause problems when functioning (swimming) in water, are clearly lacking. Studies of other species use different methods, have another outcome and can hence not be extrapolated.

## CONCLUSION

Aquarium size is a potential welfare issue because of the trend to keep bettas in small vases and the vague water care recommendations primarily based on waste product accumulation. Infection with *Mycobacterium* spp. is a potential welfare issue because it is abundant in live betta food, betta fish, betta farms and has possible pathologic consequences for infected fish. Female bettas are best kept in groups and without the company of a male, except briefly for breeding purposes. Male bettas are best kept separate from conspecifics (males and females), and housing with other species should be done carefully because fighting can occur. There are indications that prolonged visual exposure to other males could cause welfare issues but more research is required. Vegetation as environmental enrichment in betta aquaria is advisable because their natural habitat consists of thick vegetation to hide from predators. Environmental enrichment may also have a stress-reducing and sheltering effect. However, further research is required in all these domains in order to examine and confirm (or refute) these potential issues.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Prof. dr. Annemie Decostere and two anonymous reviewers for their insightful com-

ments on the manuscript. The authors would also like to thank Roman Robroek sincerely for his help in the writing process.

## REFERENCES

- Alton L.A., Portugal S.J., White C.R. (2012). Balancing the competing requirements of air-breathing and display behaviour during male–male interactions in Siamese fighting fish *Betta splendens*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 164(2), 363–367.
- Amara E.C., Kirana V., Satoha S., Watanabe T. (2004). Enhancement of innate immunity in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. *Fish & Shellfish Immunology* 16, 527–537.
- Anderson U.S., Benne M., Bloomsmith M.A., Maple T.L. (2002). Retreat space and human visitor density moderate undesirable behavior in petting zoo animals. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 5, 125–137.
- Ang P., Rattana-Apiromyakij N., Goh C.L. (2000). Retrospective study of *Mycobacterium marinum* skin infections. *International Journal of Dermatology* 39, 343–347.
- Balcombe J. (2016). Cognitive evidence of fish sentience. Commentary on key on fish pain. *Animal Sentience* 3, 8.
- Bashaw M.J., Bloomsmith M.A., Marr M.J., Maple T.L. (2003). To hunt or not to hunt? A feeding enrichment experiment with captive large felids. *Zoo Biology* 22, 189–198.
- Basolo A.L., Alcaraz G. (2003). The turn of the sword: length increases male swimming costs in swordtails. In: *Proceedings of the Royal Society London B* 270, 1631–1636.
- Blount J.D., Metcalfe N.B., Birkhead T.R., Surai P.F. (2003). Carotenoid modulation of immune function and sexual attractiveness in zebra finches. *Science* 300(5616), 125–127.
- Braddock J.C., Braddock Z.I. (1955). Aggressive behavior among females of the Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Physiological Zoology* 28, 152–172.
- Braddock J.C., Braddock Z.I. (1959). The development of nesting behaviour in the Siamese fighting fish *Betta splendens*. *Animal Behaviour* 7, 222–232.
- Braithwaite V.A., Boulcott P. (2007). Pain perception, aversion and fear in fish. *Diseases of Aquatic Organisms* 75, 113–131.
- Braithwaite V.A., Huntingford F., Van den Bos R. (2013). Variation in emotion and cognition among fishes. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 26, 7–23.
- Braithwaite V.A., Droege P. (2016). Why human pain can't tell us whether fish feel pain. Commentary on key on fish pain. *Animal Sentience* 3, 9.
- Brandson E.J. (2007). *Fish Welfare*. Wiley Blackwell.
- Bronstein P.M. (1982). Breeding, paternal behavior, and their interruption in *Betta splendens*. *Animal Learning Behavior* 10, 145–151.
- Broom D.M. (1986). Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal* 142, 524–526.
- Broom D.M. (1991). Animal welfare: concepts and measurement. *Journal of Animal Sciences* 69, 4167–4175.
- Broom D.M. (2007). Cognitive ability and sentience: Which aquatic animals should be protected? *Diseases of Aquatic Organisms* 75, 99–108.

- Broom D. (2016). Fish brains and behaviour indicate capacity for feeling pain. Commentary on key on fish pain. *Animal Sentience* 3, 10.
- Bshary R., Wickler W., Fricke H. (2002). Fish cognition: a primate's eye view. *Animal Cognition* 5, 1–13.
- Bussel Van C.G.J., Schroeder J.P., Wuertz S., Schulz C. (2012). The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 326, 163–167.
- Chandross K.P., Duncan I.J.H., Moccia R.D. (2004). Can fish suffer? Perspectives on sentience, pain, fear and stress. *Applied Animal Behaviour Science* 86, 225–250.
- Chansue N., Sermwatanakul A., Anekthanakul K. (2009). *Detection of Mycobacterium in Betta splendens excreta by DNA analysis*. Conference paper, June 2009.
- Chapman F.A., Fitz-Coy S.A. (1997). United States of America trade in ornamental fish. *Journal of the World Aquaculture Society* 28.
- Clotfelter E.D., Ardia D.R., McGraw K.J. (2007). Red fish, blue fish: trade-offs between pigmentation and immunity in *Betta splendens*. *Behavior Ecology* 18, 1139–1145.
- Crim M.J., Riley L.K. (2012). Viral diseases in zebrafish: what is known and unknown. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 53, 135–143.
- Davidson J., Good C., Welsh C., Summerfelt S.T. (2014). Comparing the effects of high vs. low nitrate on the health, performance, and welfare of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* within water recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 59, 30–40.
- Declercq A.M., Boyen F., den Broeck W., Bossier P., Karsi A., Haesebrouck F., Decostere A. (2013). Antimicrobial susceptibility pattern of *Flavobacterium columnare* isolates collected worldwide from 17 fish species. *Journal of Fish Diseases* 36, 45–55.
- Decostere A., Haesebrouck F., Devriese L.A. (1998). Characterization of four *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*) strains isolated from tropical fish. *Veterinary Microbiology* 62, 35–45.
- Demeke A., Tassew A. (2016). A review on water quality and its impact on fish health. *International Journal of Fauna and Biological Studies* 3, 21–31.
- Dinets V. (2016). No cortex, no cry. Commentary on key on fish pain. *Animal Sentience* 3, 13.
- Dolezelova P., Mácová S., Pištěková V., Svobodová Z., Bedáňová E., Voslášková E. (2011). Nitrite toxicity assessment in *Danio rerio* and *Poecilia reticulata*. *Acta Veterinaria BNRO* 80(3), 309–312.
- Dzieweczynski T.L., Eklund A.C., Rowland W.J. (2006). Male 11-ketotestosterone levels change as a result of being watched in Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *General and Comparative Endocrinology* 147, 184–189.
- Engeszer R.E., Patterson L.B., Rao A.A., Parichy D.M. (2007). Zebrafish in the wild: a review of natural history and new notes from the field. *Zebrafish* 4, 21–40.
- Etscheid J. (2003). Nitrogen metabolites in ornamental and pond fishkeeping. Origin, elimination and veterinary relevance. *Tierärztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere* 31, 244–249.
- Fantino E., Weigle S., Lancy D. (1972). Aggressive display in the Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Learning and Motivation* 3, 457–468.
- FAWC (2009). Independent report. *FAWC Report on Farm Animal Welfare in Great Britain: Past, Present and Future*. FAWC advice to government and Animal welfare.
- Figler M.H. (1972). The relation between eliciting stimulus strength and habituation of the threat display in male Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Behaviour* 42, 63–96.
- Francis R.C., Soma K., Fernald R.D. (1993). Social regulation of the brain-pituitary-gonadal axis. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90, 7794–7798.
- Fraser D. (2003). Assessing animal welfare at the farm and group level: the interplay of science and values. *Animal Welfare* 12, 433–443.
- Goldstein S.R. (1975). Observations on the establishment of a stable community of adult male and female siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Animal Behaviour* 23, 179–185.
- Goldstein R. (2004). *The Betta Handbook*. Barrons educational series Inc., New York.
- Goodrich H. B., Taylor H. C. (1934). Breeding reactions in *Betta splendens*. *Copeia* 4, 165–166.
- Gratzek J.B. (1988). Parasites associated with ornamental fish. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 18, 375–399.
- Gray S.F., Smith R.S., Reynolds N.J., Williams E.W. (1990). Fish tank granuloma. *British Medical Journal* 300, 1069–1070.
- Hackman E. 1973. Einfluss von Androgenen auf die Geschlechtsdifferenzierung verschiedener Cichliden (Teleostei). *General and Comparative Endocrinology*, 21, 44–52.
- Haller J., Wittenberger C. (1987). Biochemical energetics of hierarchy formation in *Betta splendens*. *Physiology & Behavior* 43, 447–450.
- Hamlin H.J. (2006). Nitrate toxicity in Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). *Aquaculture* 253, 688–693.
- Hastein T., Scarfe A.D., Lund V.L. (2005). Science-based assessment of welfare: aquatic animals. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties* 24, 529–547.
- Hill G.E. (1999). Is there an immunological cost to carotenoid-based ornamental coloration? *The American Naturalist*, 154(5), 589–595.
- Hirayama K. (1974). Water control by filtration in closed culture systems. *Aquaculture* 4, 369–385.
- Huntingford F.A., Adams C., Braithwaite V.A., Kadri S., Pottinger T.G., Sandoe P., Turnbull J.F. (2006). Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*, 68, 332–372.
- Iwama G.K. (2007). The welfare of fish. *Diseases of Aquatic Organisms* 75, 155–158.
- James R., Sampath K. (2003). Effect of animal and plant protein diets on growth and fecundity in ornamental fish, *Betta splendens* (regan). *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 55, 39–52.
- James R., Sampath K. (2004). Effect of feeding frequency on growth and fecundity in an ornamental fish, *Betta splendens* (Regan). *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 56, 138–147.
- Jaroensutasinee M., Jaroensutasinee K. (2001). Bubble nest habitat characteristics of wild Siamese fighting fish. *Journal of Fish Biology* 58, 1311–1319.
- Jensen J.D. (1963). Preference for bar pressing over “free-loading” as a function of number of rewarded presses. *Journal of Experimental Psychology* 65, 451–454.
- Johnson H.G., Peeke H.V.S. (1972). Patterns of intra- and interspecific aggression in labyrinth fish (Belontiidae). *Behavioral Biology* 7, 335–347.
- Johnson R.N., Johnson L.D. (1973). Intra- and interspecific social and aggressive behaviour on the Siamese fighting

- fish, *Betta splendens*. *Animal behaviour* 21, 665-672.
- Kang C.K., Lee T.H. (2010). The Pharyngeal organ in the buccal cavity of the male Siamese fighting fish, *Betta splendens*, supplies mucus for building bubble nests. *Zoology Science* 27, 861-866.
- Kihlslinger R.L., Nevitt G.A. (2006). Early rearing environment impacts cerebellar growth in juvenile salmon. *The Journal of Experimental Biology* 209, 504-509.
- Kistler C., Heggin D., Würbel H., König B. (2011). Preference for structured environment in zebrafish (*Danio rerio*) and checker barbs (*Puntius oligolepis*). *Applied Animal Behaviour Science* 135, 318-327.
- Laland K.N., Brown C., Krause J. (2003). Learning in fishes: from three-second memory to culture. *Fish and Fisheries* 4, 199-202.
- Lewbart G. (1998). Clinical nutrition of ornamental fish. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 7, 154-158.
- Lewbart G.A. (2001). Bacteria and ornamental fish. In: *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*. WB Saunders, 48-56.
- Liem K.F. (1963). The comparative osteology and phylogeny of the Anabantoidei (Teleostei, Pisces) 30. *Illinois Biological Monographs* 30, 1-149.
- Mandal S.C., Sahu N.P., Kohli Singh M.P., Das P., Gupta S.K., Munilkumar S. (2010). Replacement of live feed by formulated feed: effect on the growth and spawning performance of Siamese fighting fish (*Betta splendens*, Regan, 1910). *Aquaculture Research* 41, 1707-1716.
- Manuel R., Gorissen M., Stokkermans M., Zethof J., Ebbesson L.O.E., Vis H. van de, Flik G., Bos R. van den. (2015). The effects of environmental enrichment and age-related differences on inhibitory avoidance in zebrafish (*Danio rerio* Hamilton). *Zebrafish* 12, 152-165.
- Mather J.A. (2016). An invertebrate perspective on pain. Commentary on key on fish pain. *Animal Sentience* 3, 18.
- McGowan R.T.S., Robbins, Alldredge J.R., Newberry R.C. (2010). Contrafreeloading in grizzly bears: implications for captive foraging enrichment. *Zoo Biology* 29, 484-502.
- Meejui O., Sukmanomon S., Na-Nakorn U. (2005). Allozyme revealed substantial genetic diversity between hatchery stocks of Siamese fighting fish, *Betta splendens*, in the province of Nakornpathom, Thailand. *Aquaculture* 250, 110-119.
- Meliska J.A., Meliska C.J. (1976). Effects of habituation on threat display and dominance establishment in the Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Animal Learning & Behavior* 4, 167-171.
- Meliska C.J., Meliska J.A., Peeke H.V.S. (1980). Threat displays and combat aggression in *Betta splendens* following visual exposure to conspecifics and one-way mirrors. *Behavioral and Neural Biology* 28, 473-486.
- Miley W.M., Burack G. (1977). Strength of aggressive display in Siamese fighting fish (*Betta splendens*) toward a conspecific, an alien species (*Macropodus opercularis*), and a mirror image as affected by prior conspecific visual experience. *Behavioral Biology* 21, 267-272.
- Mommsen P.T., Vijayan M.M., Moon T.W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 211-268.
- Monsees H., Klatt L., Kloas W., Wuertz S. (2016). Chronic exposure to nitrate significantly reduces growth and affects the health status of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture Research*, 1-11.
- Moore W.G. (1942). Field Studies on the oxygen requirements of certain fresh-water fishes. *Ecology* 23, 319-329.
- Morgana K.N., Tromborg C.T. (2007) Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behaviour Science* 102, 262-302.
- Ng W.J., Sim T.S., Ong S.L., Kho K., Ho L.M., Tay S.H., Goh C.C. (1990). The effect of *Elodea densa* on aquaculture water quality. *Aquaculture* 84, 267-276.
- Nicoletto P.F. (1991). The relationship between male ornamentation and swimming performance in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 28, 365-370.
- Ornamental Aquatic Trade Association. Internet reference: <http://www.ornamentalfish.org/visited>: 29 august 2016.
- Pannevis M.C., Earle K.E. (1994). Maintenance energy requirement of five popular species of ornamental fish. *Journal of Nutrition* 124, 2616S-2618S.
- Peeke H.V.S., Peeke S.C. (1970). Habituation of conspecific aggressive responses in the Siamese fighting fish (*Betta splendens*). *Behaviour* 36, 232-245.
- Peters A. (2007). Testosterone and carotenoids: an integrated view of trade-offs between immunity and sexual signalling. *BioEssays* 29, 427-430.
- Peter K.L. Ng, Tan H.H. (1997). Freshwater fishes of Southeast Asia: potential for the aquarium fish trade and conservation issues. *Aquarium Sciences and Conservation* 1, 79-90.
- Pickering A.D., Pottinger T.G., Carragher J., Sumpter J.P. (1987). The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown Trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology* 68, 249-259.
- Plaut I. (2000). Effects of fin size on swimming performance, swimming behaviour and routine activity of zebrafish *Danio rerio*. *Journal of Experimental Biology* 203, 813-820.
- Pottinger T.G., Carrick T.R., Hughes S.E., Balm P.H.M. (1996). Testosterone, 11-Ketotestosterone, and Estradiol-17 $\beta$  modify baseline and stress-induced interrenal and corticotropic activity in trout. *General and Comparative Endocrinology* 104, 284-295.
- Prearo M., Zaroni R.G., Campo Dall'Orto D., Pavoletti D., Florio D., Penati V., Ghittino C. (2004). Mycobacterioses: emerging pathologies in aquarium fish. *Veterinary Research Communications* 28, 315-317.
- Puello-Cruz A.C., Velasco-Blanco G., Martínez-Rodríguez I.E. (2010). Growth and survival of Siamese fighting fish, *Betta splendens*, larvae at low salinity and with different diets. *Journal of the World Aquaculture Society* 41.
- Pungkachonboon T. (1994). *Studies on Mycobacteriosis in Siamese Fighting Fish Betta Splendens Regan*. Doctoral dissertation, Universiti Pertanian Malaysia.
- Puttinaowarat S. (1999). *Detection and Characterisation of Aquatic Mycobacterium spp.* Thesis submitted to the University of Stirling for the Degree of Doctor of Philosophy.
- Puttinaowarat S., Thompson K.D., Kolk A., Adams A. (2002). Identification of *Mycobacterium* spp. isolated from snakehead, *Channa striata* (Fowler), and Siamese fighting fish, *Betta splendens* (Regan), using polymerase chainreaction-reverse cross blot hybridization (PCR-RCBH). *Journal of Fish Diseases* 25, 235-243.
- Roberts H.E., Palmeiro B., Weber E.S. (2009). Bacterial and parasitic diseases of pet fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 12, 609-638.



- Roberts H.E., Smith S.A. (2011). Disorders of the respiratory system in pet and ornamental fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 14, 179-206.
- Rose J.D. (2007). Anthropomorphism and 'mental welfare' of fishes. *Diseases of Aquatic Organisms* 75, 139-154.
- Sales J., Janssens G.P.J. (2003). Nutrient requirements of ornamental fish. *Aquatic Living Resources* 16, 533-540.
- Salvanes A.G.V., Moberg O., Ebbesson L.O.E., Nilssen T.O., Jensen K.H., Braithwaite V.A. (2013). Environmental enrichment promotes neural plasticity and cognitive ability in fish. In: *Proceedings Biological Sciences* 280.
- Schroeder P., Jones S., Young I.S., Sneddon L.U. (2014). What do zebrafish want? Impact of social grouping, dominance and gender on preference for enrichment. *Laboratory Animals* 48, 328-337.
- Simpson M.J.A. (1968). The display of the Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Animal Behavior Monographs* 1, 1-74.
- Sipauba-Tavares L.H., Appoloni A.M., Fernandes J.B.K., Millan R.N. (2016). Feed of Siamese fighting fish, *Betta splendens*, (Regan, 1910) in open pond: live and formulated diets. *Brazilian Journal of Biology* 76, 292-299.
- Sloman K.A., Baldwin L., McMahon S., Snellgrove D. (2011). The effects of mixed-species assemblage on the behaviour and welfare of fish held in home aquaria. *Applied Animal Behaviour Science* 135, 160-168.
- Smith H.M. (1945). *Fresh Water Fishes of Siam*. Smithsonian Libraries.
- Sneddon L.U. (2002). Anatomical and electrophysiological analysis of the trigeminal nerve in a teleost fish, *Oncorhynchus mykiss*. *Neuroscience Letters* 319, 167-171.
- Sneddon L.U. (2003a). Trigeminal somatosensory innervation of the head of a teleost fish with particular reference to nociception. *Brain Research* 972, 44-52.
- Sneddon L.U. (2003b). The evidence for pain in fish: the use of morphine as an analgesic. *Applied Animal Behaviour Science* 83, 153-162.
- Snekser J.L., McRobert S.P., Clotfelter E.D. (2006). Social partner preferences of male and female fighting fish (*Betta splendens*). *Behavioural Processes* 72, 38-41.
- Somsiri T., Puttinaowarat S., Soontornwit S., Lacharoje S. (2005). Contamination of *Mycobacterium* spp. in live feeds. *Diseases in Asian Aquaculture* 5, 227-235.
- Speight L.M.D., Williams H.C. (1997). Fish tank granuloma in a 14-month-old girl. *Pediatric Dermatology* 14, 209-212.
- Tlustý M. (2002). The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade. *Aquaculture* 205, 203-219.
- Trappett A., Condon C.H., White C., Matthews P., Wilson R.S. (2013). Extravagant ornaments of male threatfin rainbowfish (*Iriatherina werneri*) are not costly for swimming. *Functional Ecology* 27, 1034-1041.
- Voslarova E., Pistekova V., Svobodova Z., Bedanova I. (2008). Nitrite toxicity to danio rerio: effects of sub-chronic exposure on fish growth. *Acta Veterinaria BRNO* 77, 455-460.
- Weiss J.M. (1972). Psychological factors in stress and disease. *Scientific American* 226, 104-113.
- Whittington R.J., Chong R. (2007). Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: The case for revised import risk analysis and management strategies. *Preventive Veterinary Medicine* 81, 92-116.
- Williams T.D., Readman G.D., Owen S.F. (2009). Key issues concerning environmental enrichment for laboratory-held fish species. *Laboratory Animals* 43, 107-120.
- Zanoni R.G., Florio D., Fioravanti M.L., Rossi M., Prearo M. (2008). Occurrence of *Mycobacterium* spp. in ornamental fish in Italy. *Journal of Fish Diseases* 31, 433-441.
- Zuanon J.A.S., Morais J.A., Souza A.P. (2016). Dietary crude protein levels for juvenile *Betta*. *Boletim do Instituto de Pesca São Paulo* 42, 590-597.

## Effects of training on equine muscle physiology and muscle adaptations in response to different training approaches

*Fysiologische effecten van verschillende soorten arbeid op de spierontwikkeling van het paard*

<sup>1</sup>R. Vermeulen, <sup>1</sup>C. de Meeûs, <sup>1</sup>L. Plancke, <sup>1</sup>B. Boshuizen, <sup>2</sup>M. de Bruijn, <sup>1</sup>C. Delesalle

<sup>1</sup>Department of Comparative Physiology and Biometrics, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-Merelbeke, Belgium

<sup>2</sup>Wolvega Equine Clinic, Stellingenweg 10, NL-8474-EA Oldeholtpade, the Netherlands

Catherine.Delesalle@UGent.be

### ABSTRACT

**It is well known that exercise induces chemical, metabolic and structural changes in muscles. However, the effect of the type of exercise on these changes has not been thoroughly studied in horses yet, because of a lack of standardized study methods. In this review, the effect of three different types of exercise on muscle adaptation and metabolic responses is investigated. The requirements for power exercise are not the same as for low intensity exercise. Each type of training induces its own shift in muscle fiber typing, as well as in enzyme concentrations and (an) aerobic capacity. These physiological adaptations in response to training facilitate more efficient exercise and therefore increase performance. Hence, it is important to know the adaptations that muscles undergo in response to each type of exercise to optimize training management of sport horses in function of the needs of the discipline in which they compete.**

### SAMENVATTING

Het is algemeen bekend dat training leidt tot chemische, metabole en structurele veranderingen in spieren. De invloed van het type van training op deze veranderingen werd echter nog onvoldoende bestudeerd in paarden vanwege een gebrek aan gestandaardiseerde onderzoeksmethoden. In dit overzichtsartikel wordt het effect van drie soorten training op de spiervolutie en metabole veranderingen onderzocht. De vereisten voor powertraining verschillen van die voor (langdurige) inspanning van lage intensiteit. Elk type training leidt tot een specifieke shift van spiervezeltypes, enzymconcentraties en (an)aerobe capaciteit. Deze fysiologische adaptaties als gevolg van training faciliteren het uitvoeren van de specifieke inspanningen en verhogen zo de prestatie. Het kennen van deze adaptaties per type training kan helpen om de training en het management van sportpaarden te optimaliseren in functie van hun discipline.

### INTRODUCTION

One of the ultimate goals of training an athlete, whether it is human or equine, is to modulate muscular physiology, since all power to perform exercise is eventually generated within these muscles. In human athletes, a plethora of controlled standardized studies has been performed, focusing on the different effects of different types of exercise on muscle metabolism and power output capacity. However, in horses, a lot still needs to be unraveled. The available equine studies often greatly differ in their approach (subjects of different breeds, ages, etc.), and the results are often expressed in different units, which makes comparison

difficult. The aim of the current review is to map out the physiological response of the equine muscle in response to three different types of exercise, i.e. power exercise, intermediate intensity-duration exercise and stamina exercise, using standardized methods. This review aims to lay the foundation for future standardized studies.

### ANATOMY OF THE MUSCLE

From a physiological point of view, there are four important structural entities within the muscle fiber: 1. Vascular supply to the muscle is especially impor-

tant for the aerobic red slow twitch muscle fiber type, since efficient oxygen supply needs to be realized by muscle capillaries. 2. The muscle cell membrane is a complex structure loaded with transport systems, such as GLUT 4 to shuttle different types of fuel into the muscle cell. 3. A complex set of intracellular organelles such as the endoplasmic reticulum and mitochondria. They govern the use of different types of fuel within the muscle fiber to eventually generate adenosine-triphosphate (ATP), needed as the ultimate energy source for the muscle cell to induce a muscular contraction by 4. the contractile elements actin and myosin (Clayton, 1991). In addition, there are three different types of muscle fibers (Table 1): 1. slow twitch muscle fibers (type I), which are typically ‘red’ (lots of myoglobin needed for oxygen transport), lean and long (small diffusion distance for optimal oxygen transport), have a low glycogen storage capacity and an important aerobic capacity both with respect to aerobic glycolysis as with respect to aerobic lipolysis. 2. The fast twitch muscle fibers (type IIx), which are voluminous, white and have an important capacity to store glycogen because they mainly thrive on anaerobic glycolysis. The advantages of anaerobic glycolysis are that it can start up seconds after the onset of exercise, and no oxygen is needed. However, it is inefficient (3 moles of ATP are generated out of 1 to 2 moles of glucose versus 39 moles of ATP out of 1 mole of glucose in case of aerobic glycolysis). Lactic acid accumulation and rapid depletion of muscle glycogen, both consequences of anaerobic glycolysis, lead to (early) muscle fatigue. 3. The third type of muscle fibers holds the middle between slow and fast twitch. Those are referred to as ‘intermediate muscle fiber type’ (type IIa). Imposing for example endurance training upon an equine athlete can stimulate transition of these intermediate fibers towards a more aerobic profile.

Human triathlon athletes are typically well-muscled and have a lean muscled appearance. Sprinter athletes, who are trained to have a lot of fast twitch explosive force muscle fibers, have a ‘doubled muscled’ appearance (Figure 1). In humans, the overall body composition slow versus fast twitch is almost fifty-fifty. In horses, the fast twitch fibers predominate, but the amount of slow twitch fibers depends on the horse breed. Quarter horses for example, which are typically used for short explosive type of exercise, are known to have approximately 45% fast twitch,



**Figure 1. Differences in muscle appearance between endurance athletes and sprinters (Left Panel: endurance athlete Paul Tanui (source: <https://citizentv.co.ke/sports>); Right panel: sprint athlete Usain Bolt (source: <http://www.erki.nl>).**

48% intermediate twitch and 7% slow twitch muscle fiber types (Snow et al., 1994). Rivero and Barrey (2001) have demonstrated that, even when all biopsied horses are of the same breed (purebred Spanish horse), interindividual variation in fiber type composition of the m. gluteus medius remains high. Within the horse, the fiber composition also varies depending on the muscle and its function (Rivero and Hill, 2016). Muscle groups involved in the stay apparatus typically contain a lot of slow twitch fibers. Muscles in the hind limbs contain a higher percentage of fast twitch fibers than in the front limbs (Kawai et al., 2009). Finally, within the same muscle, fiber type composition changes with depth from the muscle surface. The superficial parts of equine muscles usually contain a higher percentage of fast twitch fibers than the deeper layers (Lopez-Rivero et al., 1992). Consequently, results of studies can only be compared when the same muscle groups have been biopsied at the same depth.

**MUSCLE PHYSIOLOGY DURING EXERCISE**

As mentioned previously, muscle fibers may use different types of fuel to create ATP, the energy-containing molecule necessary for muscle contraction. Which fuel is used to generate ATP depends upon the time point within the exercise episode (not all fuels

**Table 1. Main properties of the three muscle fiber types.**

Slow twitch (type I)	Intermediate fibers (type IIa)	Fast twitch (type IIx)
Slow oxidative fibers	Fast oxidative fibers	Fast glycolytic fibers
Aerobic metabolism	Intermediate aerobic/anaerobic metabolism	Anaerobic metabolism
Long distance/low intensity sports	High myoglobin content	Power sports/ short distance
Fat accumulation	High glycogen content	Lactic acid producing metabolism
Low glycogen content	Highly adaptive to training	High glycogen content
Small diameter and red color		Large diameter and white color

are immediately available), the intensity of the performed exercise and the 'preferred' fuel of the specific fiber type.

Typically, at the start of any exercise, all ATP that is present within the muscle will be used. This provides enough energy for only fractions of seconds. In a second step, the creatine phosphate pathway is activated. This typically is the 'start-up' motor of exercise. It is called the intermediate metabolism, since it doesn't need oxygen (anaerobic), and on top of that, no lactic acid is produced. The advantage is that the muscle uses creatine phosphate instead of glycogen at that point to perform swift and explosive exercise, which has a glycogen sparing effect. Certain types of training can increase creatine phosphate reserves inside the muscles of human athletes (Buford et al., 2007; MacDougall et al., 1977). In horses, no controlled studies are available. Some studies have looked into the effect of oral creatine supplementation in horses on muscular creatine phosphate reserves, but without any effect. This has been attributed to low creatine oral bioavailability in horses (Schuback et al., 2000).

A few seconds after the onset of exercise, anaerobic glycolysis starts up. Anaerobic metabolism covers the oxygen-independent pathways. The major energy sources are muscle and liver glycogen. It is very fast but relatively inefficient: muscle glycogen depletion and lactic acid accumulation are the limiting factors. Anaerobic metabolism is perfectly fit for high power or sprint exercise. When a horse is to perform exercise at an intensity above its aerobic capacity, this anaerobic motor remains active until exhaustion occurs.

Only two to three minutes after the onset of exercise, the aerobic glycolysis starts up and allows for production of large amounts of ATP without lactic acid production. Aerobic metabolism is a slow process but highly fatigue-resistant. This metabolism uses either carbohydrates (early stage) or fatty acids (as of thirty minutes after the start of exercise, at least in humans) (Rivero, 2007). Oxidative metabolism is used in low intensity/ long duration exercise, such as endurance races. Muscular glycogen depletion occurs slower than during anaerobic exercise because of the higher ATP output needed under anaerobic circumstances. Because of the availability of fatty acids as energy source, the horse can continue its exercise after glycogen depletion, but a decrease in performance is seen (Clayton, 1991).

## INFLUENCE OF TRAINING ON MUSCLE FUNCTION

The aim of training is to improve sport performance and prevent the occurrence of training related injuries. Biochemically, depending on the type of applied training, either an increase in aerobic or anaerobic capacity occurs. Depending on the type of applied training, five important muscle fiber features can be influenced: 1. muscle morphometrics (vol-

ume), 2. fiber type composition (transition), 3. muscle mitochondrial density, 4. muscular capillarization, 5. muscular enzymatic activity. There are three possible responses:

- Quantitative response: is an increase in muscle fiber volume, but with the same physiological and biochemical structures (hypertrophy).

- Qualitative response: is a transition in muscle fiber type, i.e. a change in structure and composition of the muscle fibers without changes in volume (remodeling) (Rivero, 2007).

- A combination of both.

Muscles undergo morphological adaptations in response to exercise. Fiber hypertrophy is typically seen after power training and is characterized by an increase in muscle diameter, with increased protein synthesis that leads to 'powerful muscles' with a decrease of the aerobic capacity (Clayton, 1991). Hypertrophy of IIx muscle fibers is unusual compared to type I fibers that already show hypertrophy in answer to low intensity power training. Type IIa fibers increase in volume mostly in response to high intensity/ short duration training. Endurance training typically increases the muscular capillarization. The capillary density may increase or decrease depending on the type of training. The circulation is particularly important during aerobic metabolism. Aerobic metabolism can mature with training due to an increase in the amount of mitochondria and enzymatic activity (Shoubridge, 1995; Lindner, 2011). Training probably also increases the amount of myofibrils per  $\mu\text{m}^2$  inside the muscle, i.e. it induces hyperplasia; however, there is only one equine study available reporting on the subject (Lindner, 2011). In that study, the number of myofibrils per  $\mu\text{m}^2$  decreased after conditioning, but increased again after the resting period. This was accompanied by a hypertrophy of the myofibrils after conditioning.

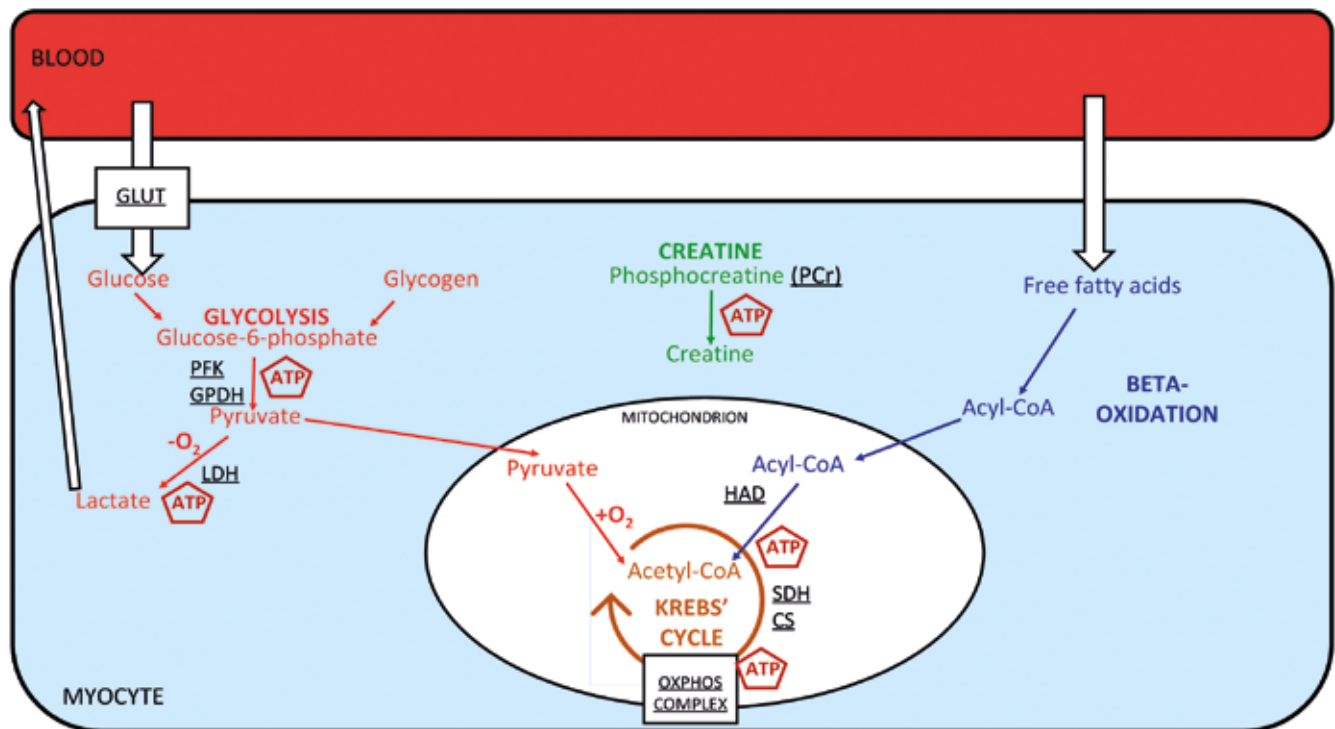
## ENERGY SUPPLY AND ENZYMATIC ACTIVITY IN EXERCISING MUSCLES

The enzymatic activity in muscles is a parameter for evaluating muscular function. Several enzymes and proteins, which are pivotal for the different energy cycles that occur in muscles, are thought to be influenced by training:

- Glucose transporter 4 (GLUT4) is an insulin-dependent glucose transporter present on myocytes and thus important in the muscles' fuel supply. In two studies, the GLUT4 muscle content in horses increased because of training, but a higher glucose influx was not seen in all training groups (McCutcheon et al., 2002; Stewart-Hunt et al., 2010).

- Phosphofructokinase (PFK) catalyzes the first enzymatic step of the glycolysis that uses ATP to metabolize glucose. Even in well-trained horses, this enzyme still gradually increases after long duration/low intensity exercise (Serrano et al., 2000; Eto et al., 2004).

- Lactate dehydrogenase (LDH) catalyzes the sec-



**Figure 2. Fuel sources and energetic pathways in the myocyte. ATP is formed directly through glycolysis, phosphocreatine dephosphorylation and the Krebs cycle. NADH and FADH<sub>2</sub> are energy-containing molecules formed during the glycolysis, Beta-oxidation and the Krebs cycle, and their energy is used during the oxidative phosphorylation in order to create ATP. The proteins/enzymes mentioned in the section 'Energy supply and enzymatic activity in exercising muscles' are underlined.**

ond step of the glycolysis to produce ATP from the reaction from pyruvate to lactate. Training the horse decreases its lactic acid production, independently of the type of training (Serrano et al., 2000).

- Glycerol 3-phosphate dehydrogenase (GPDH) is the enzyme that pursues the glycolysis and brings the formed NADH to the mitochondria where oxidative phosphorylation takes place. This enzyme increases in equine type IIx fibers in answer to power training (Rivero et al., 2007).

- Succinyl dehydrogenase (SDH) is a key enzyme in the Krebs cycle to produce energy-rich molecules such as ATP from carbohydrates, as well as in the electron transportation chain during oxidative phosphorylation. High-intensity exercise might increase the activity of SDH (especially in type I fibers) (Rivero et al., 2007), but this increase has not been seen in trained horses subjected to exercise durations less than fifteen minutes (Eto et al., 2004).

- Citrate synthase (CS) is a marker for oxidative capacity and presence of intact mitochondria, and rises when the exercise duration increases (Serrano et al., 2000). CS transports acetyl-coA produced after fat metabolism ( $\beta$  oxidation) to the Krebs cycle where citric acid can be released.

- 3-Hydroxy-acyl-coA-dehydrogenase (HAD) is an oxidative marker and catalyzes the third step of the  $\beta$  oxidation of fatty acids (Eto et al., 2004). As for CS, HAD activity increases after the implementation of low-intensity, long-duration exercise in horses (Ser-

rano et al., 2000).

- Phosphocreatine (PCr) is a rapidly mobilizable reserve of high energy phosphate that donates a phosphate to adenosine-diphosphate (ADP) in order to create ATP. No effect of training on muscle PCr content has been demonstrated so far (Trilk et al., 2002).

- High resolution respirometry has also been applied in horses in order to determine the mitochondrial oxidative phosphorylation (OXPHOS) and electronic transport (ETS) capacity in muscle biopsies (Votion et al., 2010; Votion et al., 2012). These processes are conducted by a series of transmembranous enzymes (OXPHOS complex) in order to form ATP. The required energy is donated by FADH<sub>2</sub> (reduced flavin adenine dinucleotide) and NADH (reduced nicotinamide adenine dinucleotide) that are derived from glycolysis, beta-oxidation and the Krebs cycle. Aerobic (endurance) training increases OXPHOS and ETS capacity in horses (Votion et al., 2010).

## FIBER TYPE TRANSITION

The modification of muscular fiber type occurs because of changes in structure and enzymatic features of the transitional myocytes. After a high-intensity training period in untrained Thoroughbreds, an increase in IIx fibers has been noticeable (Yamano et al., 2002). In another study, a short period of high-intensity training in already trained horses did not

**Table 2. Overview of the effect of different types of training on the aforementioned muscle parameters.**

Parameter	Type of training		
	High intensity, short duration	Intermediate intensity-duration	Low intensity, long duration
<b>Morphological adaptations</b>			
Hypertrophy	Increase IIX $\geq$ IIA > I	Increase IIA > I > IIX	Increase I > IIA $\gg$ IIX
Capillaries	Increase	Increase	Increase
Mitochondria	Increase	Increase	Increase IIA = IIX > I
Nuclear density myocytes	Constant	Decrease	Decrease
<b>Chemical/metabolic adaptations</b>			
(An)aerobic activity			
Vo <sub>2</sub> max	Increase	Increase	Increase
V <sub>l</sub> a <sub>4</sub>	Increase	Increase	Increase
Energy supply			
Glucose	No results found	No results found	No results found
Glycogen	No conclusions to be drawn	No conclusions to be drawn	Increase in muscular content
Fats	No results found	Constant	No results found
Lactic acid production during exercise (LDH)	Decrease	Decrease	No results found
SDH activity	Increase IIX > IIA > I	No conclusions to be drawn	No conclusions to be drawn
GPDH activity	Increase in IIX type	No results found	No results found
PFK activity	Increase	Decrease	Decrease
CS activity	No results found	Increase	Increase
PCr activity	No results found	Constant	No results found
HAD activity	Constant	Increase	Increase
OXPPOS activity	No results found	No results found	Increase
GLUT4 content	No results found	Increase	No results found
<b>Fiber typing</b>			
Switch in muscle fiber type	I > IIA > IIX	No results found	IIX > IIA > I
IIA/IIX ratio	Increase ++	Increase +	No results found
I/IIA ratio	No results found	Increase	Increase

induce perceptible changes in muscle fiber type (Eto et al., 2004). Ratios between fiber types can be calculated and compared over time to evaluate exercise-induced fiber type transition. Several equine studies have shown that the IIA/IIX ratio increases as a result of stamina training (Rivero et al., 2001; Rivero, 2007; Serrano et al., 2000). Changes in this ratio are particularly intensity-dependent. When focusing on the effect of training on oxidative fibers, I/IIA ratio is used. It has been demonstrated that this ratio increases in answer to low-intensity endurance training in horses (Tyler et al., 1998).

## EVALUATION OF THE PHYSIOLOGICAL MUSCULAR ADAPTATIONS DUE TO EXERCISE

When it comes to assessing the physiological adaptations that occur within the muscles of a horse due to training, several approaches are possible: 1. follow-up of the evolution of performance parameters, such

as speed, heart rate and blood lactic acid, throughout consecutive standardized exercise tests on a, for example, two-weekly basis, 2. follow-up of muscle morphometrics by means of ultrasound (Van de Winkel et al., 2016) 3. longitudinal follow-up of specific parameters, such as muscle fiber typing, total glycogen content, enzymatic activity, in serially harvested muscle biopsies.

Blood lactic acid is a reliable and easily measurable parameter to evaluate fitness in horses (Gansen et al., 1999; Eaton, 1999; Lindner, 2000). Blood is taken from the jugular vein and lactic acid is measured with a hand-held analyzer. Although blood lactic acid concentration is mentioned in the context of muscle physiology, it should be emphasized that blood lactic acid concentrations during exercise not only depend on muscle function but also on the cardiopulmonary system, as an adequate supply of oxygen towards the muscles is required for aerobic glycolysis and beta-oxidation. At rest, the lactic acid concentration in venous blood is below 1 mmol/liter. Lactic acid concentration in blood increases when the intensity

of exercise increases. Lactic acid is produced inside the muscle during anaerobic glycolysis. The physiological answer of the exercising body trying to prevent accumulation of lactic acid, is the Cori cycle. This cycle uses blood lactic acid to produce glucose inside the liver (gluconeogenesis). The freshly synthesized glucose is then released in the blood stream and thus available as energy source for the muscles. However, this so-called Cori cycle isn't beneficial from an energy point of view, as the gluconeogenesis requires more ATP than the ATP obtained during anaerobic glycolysis. When the production of lactic acid exceeds the capacity of the Cori cycle, a rise of lactic acid in blood will be observed. A blood lactic acid concentration of 4 mmol/liter is traditionally considered to be the anaerobic threshold in both human and equine athletes. However, this value is rather arbitrary. From that moment onwards, the lactic acid levels rise exponentially with exercise, and muscles will fatigue. Incremental exercise tests, where the horse runs at increasing speeds for three to five minutes each in order to create a certain 'plateau' in effort, can be used to determine the velocity (V<sub>la4</sub>) at which the horse reaches the blood lactic acid threshold of 4 mmol/liter. Training the horse increases V<sub>la4</sub> and thus delays fatigue (Wasserman et al., 1973; Clayton, 1991; Rivero, 2007).

Another approach is the longitudinal follow-up of changes in muscle morphometrics. For example, eight weeks of aqua-training causes hypertrophy of specific muscles in the forelimb, back and hindlimb, particularly muscles involved in elevation and forward movement of the forelimb (e.g. m. brachiocephalicus), flexion of the hindlimb (e.g. m. quadriceps femoris vastus lateralis) and muscles used for extension of the spine (e.g. thoracal part of m. erector spinae (Van de Winkel et al., 2016).

Finally, serial harvesting of muscle biopsies for example at the start and at the end of a training period and the subsequent analysis of a certain set of parameters may provide a lot of insight into the physiological adaptations that have occurred inside that muscle in response to a certain type of training protocol. As mentioned previously, in order to be able to compare results between studies, it is of crucial importance that the same set of muscles is biopsied at the same depth.

## CONCLUSIONS

The goal of training is to modulate muscular physiology according to the demands of the specific sport discipline. Many standardized studies have been performed in human athletes, mapping out the effect of different types of exercise and different durations of training on muscular physiology. These types of studies reveal valuable information, for example: which muscular changes are to be expected in answer to a certain type of training, and after which time interval should they occur. This information can aid in setting

up more evidence-based training schedules in order to increase performance. In horses unfortunately, knowledge on the physiological muscular adaptations due to exercise is scattered. The aim of the current review is to provide a concise overview of what is known about the effects of training in horses up until now.

## REFERENCES

- Buford T., Kreider R., Stout J., Greenwood M., Campbell B., Spano M., Ziegenfuss T., Lopez H., Landis J., Antonio J. (2007). International Society of Sports Nutrition position stand: creatine supplementation and exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 4, 6.
- Clayton H. (1991). *Conditioning Sporthorses*, Sport Horse Publications. Mason, first edition p 46-60.
- Eaton M., Hodgson D., Evans D., Rose R. (1999). Effects of low-and moderate-intensity training on metabolic responses to exercise in Thoroughbreds. *Equine Veterinary Journal* 30, 521-527.
- Eto D., Yamano S., Mukai K., Sugiura T., Nasu T., Tokuriki M., Miyata H.. (2004). Effect of high intensity training on anaerobic capacity of middle gluteal muscle in Thoroughbred horses, *Research in Veterinary Science* 76, 139-144.
- Gansen S., Lindner A., Marx S., Mosen H., Sallmann H. (1999). Effects of conditioning horses with lactate-guided exercise on muscle glycogen content. *Equine Veterinary Journal* 30, 329-331.
- Kawai M., Minami Y., Sayama Y., Kuwano A., Hiraga A., Miyata H. (2009). Muscle fiber population and biochemical properties of whole body muscles in Thoroughbred horses. *The Anatomical Record* 292, 1663-1669.
- Lindner A. (2000). Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sport horses in practice. *Revue Médecine Vétérinaire* 15, 611-618.
- Lindner A., Dag Erginsoy S., Kissenbeck S. Mosen H., Hetzel U., Drommer W., Chamizo V.E., Rivero J.L. (2013). Effect of different blood-guided conditioning programmes on skeletal muscle ultrastructure and histochemistry of sport horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 97, 374-386.
- Lopez-Rivero J.L., Serrano A.L., Diz A.M., Galisteo AM. (1992). Variability of muscle fibre composition and fibre size in the horse gluteus medius: An enzyme-histochemical and morphometric study. *Journal of Anatomy* 181, 1-10.
- MacDougall J., Ward G., Sale D., Sutton J. (1977). Biochemical adaptation of human skeletal muscle to heavy resistance training and immobilization. *Journal of Applied Physiology* 43, 700-703.
- McCutcheon L.J., Geor R.J., Hinchcliff K.W. (2002). Changes in skeletal muscle GLUT4 content and muscle membrane glucose transport following 6 weeks of exercise training. *Equine Veterinary Journal. Supplement* 34, 199-204.
- Rivero J., Serrano A., Quiroz-Rothe E., Aguilera-Tejero E. (2001). Coordinated changes of kinematics and muscle fibre properties with prolonged endurance training. *Equine Veterinary Journal*, 33, 104-108.
- Rivero J., Barrey E. (2001). Heritabilities and genetic and phenotypic parameters for gluteus medius muscle fibre

- type composition, fibre size and capillaries in purebred Spanish horses. *Livestock Production Science* 72, 233-241.
- Rivero J. (2007). A scientific background for skeletal muscle conditioning in equine practice. *Journal of Veterinary Medicine* 54, 321-332.
- Rivero J., Ruz A., Martí-Korff S., Estepa J.C., Aguilera-Tejero E., Werkman J., Sobotta M., Lindner A. (2007). Effects of intensity and duration of exercise on muscular responses to training of thoroughbred racehorses, *Journal of Applied Physiology* 102, 1871-1882.
- Rivero J., Hill E. (2016). Skeletal muscle adaptations and muscle genomics of performance horses. *Equine Veterinary Journal* 209, 5-13.
- Schuback K., Essen-Gustavsson B., Persson S. (2000). Effect of creatine supplementation on muscle metabolic response to a maximal treadmill exercise test in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal* 32, 533-540.
- Serrano A., Rivero J. (2000). Myosin heavy chain profile of equine Gluteus medius muscle following prolonged draught-exercise training and detraining, *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 21, 235-245.
- Shoubridge E. (1995). Segregation of mitochondrial DNAs carrying a pathogenic mutation (tRNA<sup>Leu</sup>3243) in cybrid cells. *Biochemistry Biophysics Research Communication* 213, 189-195.
- Snow D., Valberg S. (1994). Muscle anatomy, physiology and adaptations to exercise and training. In: Hodgson, D. and Rose R. (editors). *The Athletic horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine*, 145-179.
- Stewart-Hunt L., Pratt-Phillips S., McCutcheon L.J., Geor R.J. (2010). Dietary energy source and physical conditioning affect insulin sensitivity and skeletal muscle glucose metabolism in horses. *Equine Veterinary Journal (Supplement)* 38, 355-360.
- Trilk J., Lindner A., Greene H., Alberghina D., Wickler S. (2002). A lactate-guided conditioning programme to improve endurance performance. *Equine Veterinary Journal* 34, 122-125.
- Tyler C., Golland L., Evans D., Hodgson D., Rose R. (1998). Skeletal muscle adaptations to prolonged training, overtraining and detraining in horses, *Pflügers Archives – European Journal of Physiology* 436, 391-397.
- Van de Winkel D., de Bruijn M., Touwen N., Duchateau L., Goethals K., Oosterlinck M., Pille F., Vanderperren K., Delesalle C., (2016). Morphometric changes in 15 skeletal muscles of horses after 8 weeks of aquatraining, *Equine Veterinary Journal* 48, 30-49.
- Wasserman K., Whipp B., Koyal S., Beaver W. (1973). Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *Journal of Applied Physiology* 35, 236-243.
- Yamano S., Eto D., Sugiura T., Kai M., Hiraga A., Tokuriki M., Miyata H. (2002). Effect of growth and training on muscle adaptation in Thoroughbred horses. *American Journal of Veterinary Research* 63, 1408-1412.





**Monumentale trap in de vroegere Kliniek Kleine Huisdieren van de Faculteit Diergeneeskunde aan de Gentse Coupure. Onderaan de wachtzaal met betegelde hokjes. De trap bleef mooi bewaard in het gerestaureerde gebouw geïntegreerd in een technisch atheneum.**

## Titanium mesh reconstruction of a dog's cranium after multilobular osteochondrosarcoma resection

*Reconstructie van de schedel van een hond met een titanium mesh na het verwijderen van een multilobulair osteochondrosaroom*

A. Dierckx de Casterlé, <sup>1</sup>B. Van Goethem, <sup>1</sup>A. Kitshoff, <sup>1</sup>S.F.M. Bhatti, <sup>2</sup>I. Gielen, <sup>1</sup>T. Bosmans, <sup>3</sup>H. De Cock, <sup>1</sup>H. de Rooster

<sup>1</sup>Small Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

<sup>2</sup>Medical Imaging and Small Animal Orthopedics, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

<sup>3</sup>AML/Veterinary Pathology Services, Emiel Vloorsstraat 9, 2020 Antwerpen, Belgium

bart.vangoethem@Ugent.be

### ABSTRACT

An eleven-year-old cavalier King Charles spaniel was presented with a large mass arising from the sagittal crest of the skull. Computed tomography also revealed an intracranial component. A histological diagnosis of multilobular osteochondrosarcoma grade 1 was made from surgical biopsies. Since this tumor type has a moderate aggressive biological behavior characterized by a slow growth, compression of adjacent structures, and only a 30% metastatic rate, surgical resection was performed. A wide partial craniectomy was performed, the skull defect was reconstructed with a designated custom designed titanium mesh and the skin defect closed with a local subdermal plexus flap technique. Histologic evaluation indicated clean surgical margins, which may lead to a long-term survival in this low-grade tumor. Approximately seventeen months after surgical resection, the dog showed no signs of local tumor recurrence or metastasis.

### SAMENVATTING

Een elf jaar oude cavalier-king-charles-spaniël werd aangeboden met een grote massa centraal op het schedeldak. Met behulp van computertomografie werd de intracraniale uitgebreidheid van het letsel vastgesteld. Biopname en histologisch onderzoek leidden tot de diagnose van een graad-1 multilobulair osteochondrosaroom. Vermits dit een biologisch matig agressieve tumor is die traag groeit, de nabijgelegen weefsels wegdrukt in plaats van te invaderen en deze laaggradige tumor slechts bij 30% van de patiënten metastaseert, werd besloten tot chirurgische resectie. Een ruime partiële craniëctomie werd uitgevoerd, waarna het defect in het schedelbot werd gereconstrueerd met een specifiek daartoe bestemde titanium mesh. Het huiddefect werd gesloten met een lokale huidflap. De marges werden histologisch beoordeeld en waren vrij van tumorcellen. Volledige chirurgische resectie van deze tumor kan resulteren in een lange overlevingstijd. De beschreven hond was ruim zeventien maanden na de operatie nog steeds in leven, zonder aanwijzingen voor een lokaal recidief of metastasering.

### INTRODUCTION

Multilobular osteochondrosarcoma (MLO) is an uncommon malignant tumor occurring most often in the flat bones of the canine skull (McGavin and Zachary, 2007). Similar names used for this tumor type include chondroma rodens, multilobular tumor of bone, multilobular osteosarcoma, multilobular osteoma, calcifying aponeurotic fibroma, multilobular chondroma, cartilage analogue of fibromatosis, and juve-

nile aponeurotic fibroma (Dernell et al., 1998). The majority of dogs with MLO are middle-aged to older dogs (median age at presentation eight years), usually belonging to medium or large breeds (median weight 29 kg) (Straw et al., 1989; Groff et al., 1992; Popvitch et al., 1994; Dernell et al., 1998; Loukopoulos et al., 2003; Jubb et al., 2007).

Clinically, these tumors are slow-growing, locally invasive, firm immobile masses on the surface of the skull (Hathcock and Newton, 2000; Pakhrin

et al., 2006). Although the bone may be invaded by the tumor, the brain is often compressed rather than infiltrated by the mass, resulting in late-onset neurological signs (Pool, 1990; Dernell et al., 1998). MLO has a characteristic ‘popcorn ball’ appearance on radiographic imaging, CT and MRI with sharply demarcated, limited lysis of adjacent bone and a coarse granular mineral density throughout the tumor (Selcer, 1981; Dernell et al., 1998; Webb et al., 2009; Boston, 2010; Forrest, 2013).

The biological behavior makes complete excision the treatment of choice (Straw et al., 1989; Gallegos et al., 2008). Following surgical resection, local tumor recurrence has been reported in 47-58% of dogs with a median time to local recurrence of 420-542 days (Straw et al., 1989; Dernell et al., 1998). The key surgical challenge is therefore to obtain adequate surgical margins. This is complicated by the direct presence of vital structures, of which damage may lead to severe or fatal outcomes, and by the necessity to reconstruct the created skull defect to protect these structures.

A metastatic rate of 56-58% in treated dogs has been reported with a median time to metastasis between 420-797 days (Straw et al., 1989; Dernell et al., 1998). The metastatic sites include mostly the lungs, but also the cerebral cortex, kidneys, pancreas, rib and long bones (Mc Lain et al., 1983; Straw et al., 1989; Dernell et al., 1998).

A histologic grading system has been described in an attempt to predict the biological behavior of this tumor (Banks and Straw, 2004) (Table 1). Local tumor recurrence, metastasis and survival time appear to be correlated to histologic grade (Dernell et al., 1998) (Table 2).

In this case report, the occurrence of MLO in a previously unreported breed, the surgical removal and the use of a designated contourable titanium mesh for the reconstruction of the bone defect in the skull com-

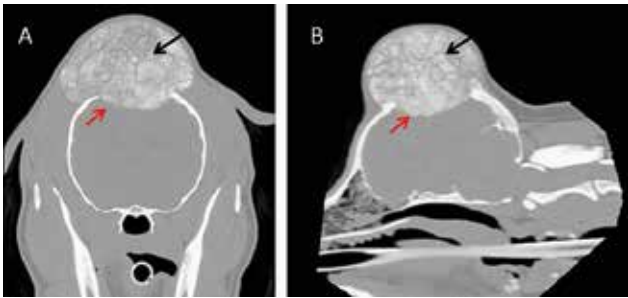
**Table 1. Histological grading criteria for MLO (Dernell et al., 1998).**

Criteria	Score
Borders	
Pushing	1
Pushing and invasive	2
Invasive	3
Size of lobules	
Small and medium	1
Large	2
Organization	
Well organized	1
Moderately well organized	2
Poorly organized	3
Mitotic figures/10 HPFs*	
1 to 5	1
6 to 10	2
>10	3
Pleomorphism of cells	
Monomorphic	0
Mild	1
Moderate	2
Marked	3
Necrosis	
None	0
Present	1
Grade	<b>Total</b>
Grade I	7 or less
Grade II	8 to 12
Grade III	13 or greater

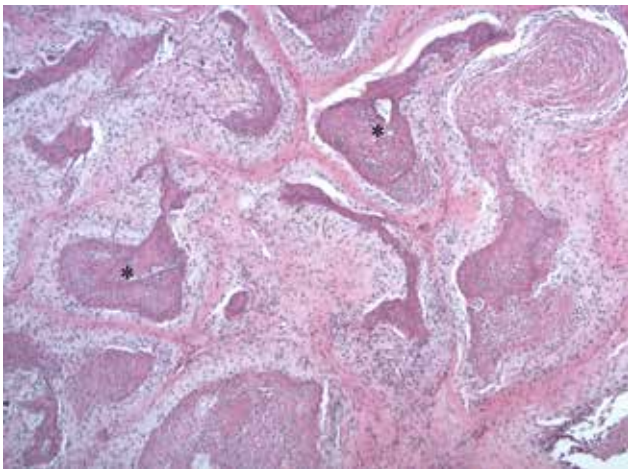
\*HPFs = high-powered fields

**Table 2. Survival outcome for MLO based on tumor grade (Dernell et al., 1998).**

Grade	I	II	III
Number of cases	13	17	9
Time to local recurrence (days)			
Median	>1.332	782	288
Range	192-1.332	30-782	82-534
Time to metastasis (days)			
Median	>820	405	321
Range	720-820	28-1.225	150-542
Survival time (days)			
Median	>897	520	405
Range	66-797	28-1.487	82-1.670



**Figure 1. A. Transverse and B. sagittal CT images of the skull. A well-circumscribed, space-occupying mass is present on the skull with a granular, hyperdense aspect (black arrows). Intracranial expansion with dorsal compression of the brain is present (red arrows).**



**Figure 2. Microscopy of the MLO demonstrating multi-lobular patterns, consisting of a core of bone matrix (asterisk) surrounded by multiple connective tissue cells (Hematoxylin and eosin stain, 40x).**

bined with a single-pedicle advancement flap to close the skin defect are described.

## CASE DESCRIPTION

An eleven-year-old female castrated cavalier King Charles spaniel with a body weight of 8.6 kg was examined for a large mass on the skull of an eleven-months duration. The mass was approximately 5 cm in diameter and centered on the top of the skull. The dog was alert, responsive and able to ambulate well on all limbs. Although no neurologic dysfunction was noted, the owners mentioned the recent appearance of behavioral changes, i.e. anxiety and hiding in the corner of the room. Physical examination was unremarkable other than bilateral breed-related exophthalmia and a systolic heart murmur (3/6). The results of complete blood count were within the reference limits; so were the results of serum biochemical analyses except for the elevated activity of alkaline phosphatase (571 U/L; reference range, 23-212 U/L).

A CT scan of the head was performed to evaluate the extent of bone involvement and to determine

the intracranial extension of the mass. The CT scan revealed a 5.5 x 5.0 x 3.7 cm lobulated, mineralized mass arising from the caudal portions of the frontal bones, both parietal bones, the external sagittal crest and the cranial part of the supraoccipital bone (Figure 1). The mass had a heterogeneous aspect with multiple granular, sharply demarcated hyperdense regions. Transcranial extension exerted a mass effect on the brain parenchyma. A CT scan of the thoracic cavity was performed and no pulmonary metastases could be detected. However, partial, positional atelectasis prevented the complete evaluation of all lung lobes.

A core biopsy confirmed the presumed diagnosis of MLO by finding multiple lobules, centered on a core of cartilaginous or bony matrix surrounded by a thin layer of spindle cells (Figure 2). The tumor was classified as grade I based on tumor borders, size of lobules, organization, mitotic figures, cellular pleomorphism and necrosis (Dernell et al., 1998).

Due to the increasing severity of tumor-related behavioral changes and the potential long survival time after surgical resection, the owners opted for surgery. The dog was premedicated intravenously with 0.5 mg/kg midazolam (Dormicum, Roche B.V., the Netherlands) combined with 0.5 mg/kg methadone (Comfortan, Eurovet Animal Health B.V., the Netherlands). Induction occurred with 4 mg/kg propofol (PropoFlo Plus, Abbott Logistics B.V., the Netherlands) IV, after which a 6-mm endotracheal tube was placed. Maintenance of anesthesia was done with isoflurane (IsoFlo, Abbott Logistics B.V., the Netherlands) in 100% oxygen through a circle rebreathing system (Cicero, Dräger, Germany). Intraoperative analgesia consisted of a continuous rate infusion of fentanyl (Fentadon, Dechra, Belgium) at 5 µg/kg/h. At the time of the induction of anesthesia, 20 mg/kg cefazolin (Cefazoline, Sandoz N.V., the Netherlands) was administered and repeated every two hours until the end of surgery.

The dog was positioned in sternal recumbency with the head elevated and fixed in a 45-degree angle between head and neck, to avoid intracranial venous congestion that might occur from both jugular compression or positional hypostatic congestion (Otto, 2015) (Figure 3). In order to decrease the risk for tumor recurrence, the overlying skin and a 1-cm margin of surrounding soft tissues and bone, ensuring to include the previous biopsy tract, was resected (Figure 4). Hemostasis was achieved with bipolar electrocoagulation. The temporalis muscles were elevated from the parietal bones and the skull around the mass was cut with a 3-mm high-speed pneumatic burr. The endostium was removed with 2-mm Kerrison rongeurs, after which the entire mass was carefully elevated and dissected from the underlying dura by use of blunt probes (Figure 5). Hemorrhage from the right transverse sinus resulted in a subdural hematoma. To avoid an increase of the intracranial pressure, the dura was incised, the hematoma was evacuated, and the dura was closed with a continuous suture pattern using 5-0 polyglecaprone (Monocryl, Ethicon, Belgium).

Gross inspection of the removed mass revealed margins varying from 5 to 10 mm (Figure 6). The excised mass was submitted for histologic evaluation. The results confirmed the diagnosis of a grade-1 MLO and considered the surgical margins free of tumor tissue.

The bone defect was reconstructed by means of a 0.4 mm titanium mesh (MatrixNEURO, Contourable Mesh, DePuy Synthes, Belgium). Briefly, the mesh was molded as a dome overlapping the burred bone edges for 1 cm to allow fixation with 1.5 mm diameter low-profile, self-tapping cortical screws (Figure 7). Since the overlying temporalis muscle was removed, no muscle layer was available to cover the mesh. From the abundant dorsal cervical skin, a single-pedicle advancement flap was elevated and used to cover the mesh and close the skin defect (Figure 8). The underlying cutaneous muscle and deep subcutaneous tissues were closed with 3-0 polyglecaprone in a simple continuous pattern, and the skin was apposed with a subcuticular pattern of 3-0 polyglecaprone.

Postoperative radiographs showed the mesh to be contoured anatomically correct, without any apparent compression of the brain parenchyma (Figure 9). The dog recovered from anesthesia without complications. Postoperative IV analgesics consisted of a continuous rate infusion of lidocaine (Xylocaine, Eurovet Animal Health B.V., the Netherlands) for 2 days at a rate of 30 µg/kg/minute preceded by a single IV loading dose of 2 mg/kg, 10 µg/kg buprenorphine (Vetergesic Multidosis, Patheon UK Limited, United Kingdom) q8h for 11 days, 4 mg/kg carprofen (Rimadyl, Pfizer, Belgium) q24h for 7 days. In addition, 20 mg/kg cefazolin (Cefazolin, Sandoz N.V., the Netherlands) was continued q12h for 11 days. Twenty-four hours after surgery, the dog was quiet and alert but unable to walk due to left-sided hemiparesis. During blinking, the upper eyelids incompletely covered the cornea, for which vitamin A eye ointment (Opticorn A, Ecuphar, Belgium) was instilled q4h. Wound healing occurred without complication, and from the fifth day on, the general condition improved and a progressive improvement of ambulation was noted. On the sev-

enth day, only slight delayed proprioceptive reflexes remained.

Despite the preventive eye ointment, the right eye developed an acute ‘melting’ corneal ulcer with hypopyon and conus cornea. Initially, atropine sulphate 5 mg/ml eye drops (Atropine, Alfasan B.V., the Netherlands) were instilled q12h and 5 mg/g oxytetracycline + 10.000 I.E./g polymyxin B eye ointment (Terramycin, McNeil Manufacturing, France) q8h. Due to disease progression, there was a risk of corneal perforation on the eight postoperative day, a 360-degree conjunctival flap was used as a salvage procedure (Pumphrey et al., 2011). Both anesthesia and surgical procedure were without complications. Postoperatively, ophthalmic medication consisted of 3 mg/g ofloxacin (Trafloxal collyre, Bausch & Lomb Pharm nv, Belgium) q8h, acetyl cysteine (Lysomucil 10%, Zambon n.v., Belgium) q12h, ketorolac trometamol (Aculare 0.5%, Allergan Pharmaceuticals, Ireland) q6h, and 0.02 mg/kg atropine sulphate (Atropine, Alfasan B.V., the Netherlands) q12h.

On the ninth postoperative day, the dog was bright, alert and ambulating with only mild ataxia. The dog was discharged two days later with continued antibiotics (clavulanic potentiated amoxicillin for 7 days), analgesics (carprofen for 14 days), and local eye medication (ofloxacin, acetyl cysteine, and ketorolac trometamol for 3 weeks).

Eight weeks after surgery, the conjunctival flap dehisced spontaneously, with some remaining mucosa reinforcing the weakened cornea at the ulcer site. The eye medication was discontinued. Six months after surgery, the dog was neurologically normal (ambulation and behavior), the eyelids closed during blinking, and all that remained from the corneal ulcer was some pigmented scar tissue (Figure 10). Lung auscultation was unremarkable, but unfortunately skull and thoracic radiographs were declined by the owner because of financial reasons.

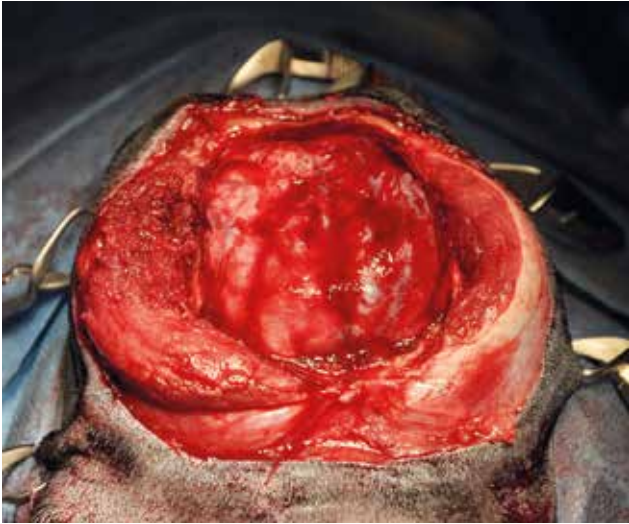
Seven and nine months after surgery, the dog developed a single seizure, which started during rest and was characterized by tonic-clonic convulsions, loss of



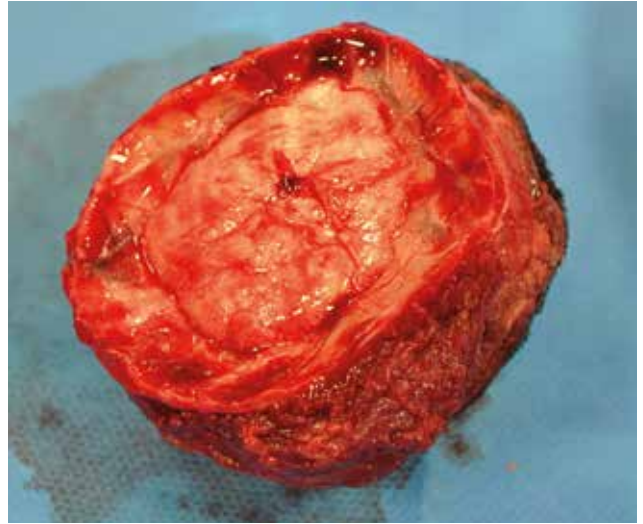
**Figure 3.** Surgical positioning of the dog in sternal recumbency with the head elevated, and the head and neck in a 45-degree angle not to obstruct venous head flow.



**Figure 4.** A circular incision was made around the base of the tumor, the underlying muscles were incised and the bone was prepared for cranioplasty.



**Figure 5.** After tumor removal, a large partial craniectomy defect remained that needed reconstruction. A subdural hematoma is seen in the right hemisphere (purple discoloration).



**Figure 6.** View at the ventral (intracranial) aspect of the tumor. The rim of normal bone present at the craniectomy location determines the macroscopic tumor margins.



**Figure 7.** The 0.4-mm titanium mesh (MatrixNEURO, Contourable Mesh, DePuy Synthes, Belgium) was shaped conforming the removed skull piece and fixed with 1.5-mm screws.



**Figure 8.** From the dorsal neck, a single-pedicle advancement flap consisting of skin and sphincter colli muscle, was mobilized and directed cranially to cover the implant.



**Figure 9.** Postoperative lateral radiograph showing the titanium mesh fixed on the calvarium after partial craniectomy.



**Figure 10.** Six months after tumor resection, the dog is fully functional. There is some remaining scar tissue visible on the right cornea, but no evidence of local tumor recurrence or metastasis.

consciousness and abnormal autonomous activity. Interictally, the dog behaved normal. On general clinical and neurological examination, no abnormalities were detected. Eleven and thirteen months after surgery, new seizures developed. Complete blood count and serum biochemistry were normal and cardiac ultrasound revealed stable stage B1 mitral endocardiosis. Further diagnostics (magnetic resonance imaging) to search for underlying structural cerebral disorders were offered but unfortunately declined by the owner. The dog was started on 2.5 mg/kg phenobarbital (Phenoleptil, Le Vet B.V., the Netherlands) q12h. At the time of writing, seventeen months after surgery, no further seizures had occurred.

## DISCUSSION

Because of its location, complete surgical removal of MLO is often difficult resulting in local recurrence in about 57% of the cases (McLain et al., 1983; McCalla et al., 1989; Straw et al., 1989; Dernell et al., 1998; Jubb et al., 2007). In a retrospective study on 39 dogs with MLO, complete excision resulted in a disease free interval of 1.332 days versus only 320 days for incomplete removal (Dernell et al., 1998). In addition, the development of metastases is also correlated to the completeness of surgical resection, with the metastatic rate for complete excision being 25% versus 75% for incomplete removal (Dernell et al., 1998). Therefore, aggressive surgical excision with wide margins is the treatment of choice.

In earlier studies on canine cranioplasty, the use of cranial bone allograft (Moissonnier et al., 1997), polymer prostheses (including polytetrafluoroethylene, high-density polyethylene, polyester, polyamide mesh), and polymethylmethacrylate (Moissonnier et al., 1997; Mouatt, 2002; Bryant et al., 2003), and metal plates including platinum, tantalum, cobalt-chromium alloys, aluminum, titanium and stainless steel (Bordelon and Rochat, 2007) have been described.

Polymethylmethacrylate is the most widely used implant material because it is radiolucent, can be easily molded, has acceptable tensile and flexural strength, is widely available, and relatively inexpensive in relation to other implant materials (Moissonnier et al., 1997; Park et al., 2001; Mouatt, 2002; Bryant et al., 2003). Preforming the PMMA using a mold avoids potential for tissue necrosis and creates a custom, lightweight and durable implant (Rosselli et al., 2017). However, potential disadvantages include exothermic reaction associated with polymerization, the brittle nature of the material once it has polymerized, variations in porosity depending on mixing technique, the potential to provide for bacterial colonization (Arens et al., 1996), and the extended duration of surgery caused by the multiple steps for molding (Rosselli et al., 2017). To provide sufficient protection, a thickness of 5-10 mm is recommended (Moissonnier et al., 1997). Thus, in smaller patients and in

patients with defects of the dorsal aspect of the skull, where excessive tension of the overlying soft tissues may lead to necrosis or dehiscence, PMMA may not be the best choice (van Gool, 1985; Moissonnier et al., 1997; Mouatt, 2002; Bryant et al., 2003).

Titanium has been reported to be the most promising of metallic implants (Bordelon and Rochat, 2007). Potential disadvantages include poor malleability, lack of availability and high cost (Moissonnier et al., 1997). Advertised advantages include radiolucency, lower density, corrosion resistance and potentially lower susceptibility to infection (Arens et al., 1996; Rosselli et al., 2017). Bordelon and Rochat (2007) used a 1.5-mm-thick sheet of rigid titanium mesh for a cranioplasty and concluded the benefits in terms of fit, strength, low profile and secure fixation to the remaining calvarium outweighed the costs. The contourable 0.4-mm titanium mesh used in this case is a technologically improved version of the previously described titanium implant, which is even more malleable, yet maintains substantial rigidity due to its dome shape. In a case series of five dogs, Rosselli et al. (2017) demonstrated the titanium mesh did not interfere with postoperative CT or MR images, thereby allowing postoperative imaging for ongoing assessment.

Postoperative radiographs confirmed the correct placement and anatomical contouring of the titanium mesh over the skull defect. The titanium mesh in this case report was secured to the skull with screws. No complications were recorded during or after the procedure attributable to the titanium implant. In previous case series, the use of sutures to secure the mesh to the skull has been documented, claiming that the use of screws could prolong and increase the cost of surgery, create iatrogenic damage to underlying brain parenchyma, and might be associated with postoperative loosening or migration (Rosselli et al., 2017). The screws used in this case report were low-profile, self-tapping screws that were placed monocortically, thereby eliminating the aforementioned potential disadvantages. Follow-up radiographs at seventeen months after surgery showed no signs of implant loosening or migration. Screw fixation to the skull offers a more rigid fixation of the implant than fixing it to overlying soft tissues. Furthermore, suturing the mesh to the overlying temporalis fascia might work for smaller reconstructions, but may not be applicable when there is insufficient overlying muscle or fascia.

Because MLO's are considered to be locally invasive tumors, the overlying skin, biopsy tract and surrounding muscles were removed together with the tumor. A wide deep resection was not necessary since this tumor does not usually invade across the meninges. Other authors have removed MLO's with a linear skin incision and the conservation of superficial muscle layers (Bordelon and Rochat, 2007; Gallegos et al., 2008). Unfortunately, due to the size of the tumor, the location on the sagittal crest and the presence of a biopsy tract, conservation of either skin or muscles would endanger complete surgical resection.

A single pedicle skin flap that advances skin from the dorsal cervical region was used to close the skin defect. The incorporated sphincter colli and cutaneous muscle allowed to cover the mesh with a muscular layer. However, positional differences between the head in the surgical field and in the awake dog may result in undue traction when using this type of skin flap. A ninety-degree rotation flap would have increased surgical morbidity, but could have provided skin for closure without any traction on the upper eyelids (Smith et al., 1991).

Both CT and MR imaging were offered postoperatively for ongoing assessment. Rosselli et al. (2017) have shown there is no interference of image quality using a titanium mesh. Since elemental titanium has a low molecular number, it is minimally attenuating and since it is non-ferrous, it does not create magnetic field inhomogeneities.

The description of the dog of the present study was different from that of previous reviews and case reports (Straw et al., 1989; Groff et al., 1992; Dernell et al., 1998; Loukopoulos et al., 2003; Banks and Straw, 2004; Jubb et al., 2007; Webb et al., 2009; Leonardi et al., 2014). Although multilobular osteochondrosarcoma appears to be a disease of middle-aged to older, medium- to large-breed dogs, scarce reports of young and small dogs do exist (Jacobson, 1971; Diamond et al., 1980; Fukui and Takamori, 1986; Pakhrin et al., 2006; Bordelon and Rochat, 2007).

The dog's exophthalmos was originally attributed to breed-related conformation. But the combination of neurologic changes (behavioral) and ocular changes (exophthalmia) with intracranial tumor growth has been described before (Pletcher et al., 1979; Straw et al., 1989; Pakhrin et al., 2006; Psychas et al., 2009; Leonardi et al., 2014). In a review study on 39 dogs, 5% had neurologic symptoms and 15% exophthalmia (Dernell et al., 1998). It is therefore possible that the presurgical exophthalmia was, at least partially, tumor-induced.

According to some studies, elevated levels of alkaline phosphatase are a negative prognostic factor for osteosarcoma (Ehrhart et al., 1998; Garzotto et al., 2000). For MLO, such a correlation has not been established. Earlier reports have also found elevated levels of alkaline phosphatase and have linked this to tumor-induced increased bone metabolism (Gallegos et al., 2008).

Skull radiographs can easily differentiate between osteoma and MLO (Ling et al., 1974). However, some MLO's don't display typical radiographic characteristics and in these patients, a preoperative histological biopsy is necessary for accurate diagnosis (Stoll et al., 2000). In the current case, the diagnosis was made based on the radiographs, but the biopsy was performed to establish a tumor grade. Dernell et al. (1998) found that the tumor grade is not only correlated

to local recurrence (30% for grade I MLO, 47% for grade II MLO, and 78% for grade III MLO), but also to the presence of metastasis (30% for grade I MLO, 60% for grade II MLO, and 78% for grade II MLO). The identification of a low-grade MLO in the present case offered the owner a more informed decision on the expected course after surgical therapy.

Risk factors for postoperative wound infection are the presence of a metallic implant and a surgical duration longer than two hours (Brown et al., 1997). Prolonged antibiotic therapy is, however, essential when there is a communication between the frontal sinus and mesh implant (Moissonnier et al., 1997). In the present case, where no communication with the frontal sinus existed and where a metallic implant was used that is less susceptible to harboring bacteria, antibiotic therapy was pursued for the postoperative corneal ulcer development and the pending risk for eye perforation.

The role of chemotherapy and radiation therapy in the management of MLO is not well defined. No increase in survival time, time to local recurrence and metastasis have been found between the surgical excision alone and the surgical excision followed by adjuvant therapy (Straw et al., 1989; Dernell et al., 1998; Koch et al., 2000). However, adjuvant therapy may provide some benefit for local tumor control or palliation of unresectable or recurrent lesions (Boston, 2010).

Idiopathic epilepsy was considered very unlikely in this case as the dog developed seizures at the age of eleven years, whereas in most of the dogs with idiopathic epilepsy, the seizure onset is between the age of six months and six years (De Risio et al., 2015). Metabolic and toxic causes of the seizures were also considered unlikely as the blood examination was normal, and no history of toxin exposure was mentioned in the anamnesis. In this case, the possibility of a structural cause for the seizures seemed most likely (De Risio et al., 2015). Taking into account the previous medical issues in this dog, regrowth of the skull tumor or the development of scar tissue at the surgery site seem the two most likely possibilities (De Risio et al., 2015). However, other structural causes, such as neoplasm, inflammation and vascular disorders, should be taken into account as well (De Risio et al., 2015).

## CONCLUSION

Despite the extensiveness of the process in the skull and the compression of intracranial structures, a dog with MLO may reach a prolonged survival time if the tumor has been removed with complete margins. The titanium mesh used in this case offers a smooth, fast and uncomplicated method to reconstruct the cranium of a dog.



## REFERENCES

- Arens S., Schlegel U., Printzen G., Ziegler W.J., Perren S.M., Hansis M. (1996). Influence of materials for fixation implants on local infection. An experimental study of steel versus titanium DCP in rabbits. *Journal of Bone and Joint Surgery* 78 B, 647-651.
- Banks T.A., Straw R.C. (2004). Multilobular osteochondrosarcoma of the hard palate in a dog. *Australian Veterinary Journal* 82, 409-412.
- Bordelon J.T., Rochat M.C. (2007). Use of a titanium mesh for cranioplasty following radical rostral tentorial craniectomy to remove an ossifying fibroma in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 231, 1692-1695.
- Boston S.E. (2010). Craniectomy and orbitectomy in dogs and cats. *Canadian Veterinary Journal* 51, 537-540.
- Bhatti SF, De Risio L, Muñana K, Penderis J, Stein VM, Tipold A, Berendt M, Farquhar RG, Fischer A, Long S, Löscher W, Mandigers PJ, Matiasek K, Pakozdy A, Patterson EE, Platt S, Podell M, Potschka H, Rusbridge C, Volk HA. (2015). International veterinary epilepsy task force consensus proposal: medical treatment of canine epilepsy in Europe. *BMC Veterinary Research* 28, 176-192.
- Brown D.C., Conzemius M.G., Shofer F., Swann H. (1997). Epidemiologic evaluation of postoperative wound infections in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 210, 1302-1306.
- Bryant K.J., Steinberg H., McAnulty J.F. (2003). Cranioplasty by means of molded polymethylmethacrylate prosthetic reconstruction after radical excision of neoplasms of the skull in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223, 67-72.
- Dernell W.S., Straw R.C., Cooper M.F., Powers B.E., LaRue S.M., Withrow S.J. (1998). Multilobular osteochondrosarcoma in 39 dogs: 1979-1993. *Journal of the American Animal Hospital Association* 34, 11-18.
- DePuy Synthes Companies (2015). MatrixNEURO. The next generation cranial plating system. Internetreference: <http://emea.depuyssynthes.com/hcp/cmfp/products/qs/matrixneuro-system>
- De Risio L, Bhatti S, Muñana K, Penderis J, Stein V, Tipold A, Berendt M, Farquhar R, Fischer, A, Long S, Mandigers PJ, Matiasek K, Packer RM, Pakozdy A, Patterson N, Platt S, Podell M, Potschka H, Batlle MP, Rusbridge C, Volk HA. (2015). International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. *BMC Veterinary Research* 28, 148-159.
- Diamond S.S., Raflo C.P., Anderson M.P. (1980). Multilobular osteosarcoma in the dog. *Veterinary Pathology* 17, 759-780.
- Ehrhart N., Dernell W.S., Hoffman W.E., Weigel R.M., Powers B.E., Withrow S.J. (1998). Prognostic importance of alkaline phosphatase in serum from dogs with appendicular osteosarcoma: 75 cases (1990-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 213, 1002-1006.
- Forrest L.J. (2013). The Cranial and Nasal Cavities: Canine and Feline. Multilobular Osteochondrosarcoma. In: Thrall D.E. (editor). *Veterinary Diagnostic Radiology*. Elsevier Saunders, Missouri, p. 121.
- Fukui K., Takamori Y. (1986). Multilobular osteoma (chondroma rodens) in a Pekingese. *Veterinary Record* 118, 483.
- Gallegos J., Schwarz T., McAnulty J.F. (2008). Massive midline occipitotemporal resection of the skull for treatment of multilobular osteochondrosarcoma in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 233, 752-757.
- Garzotto C.K., Berg J., Hoffmann W.E., Rand W.M. (2000). Prognostic significance of serum alkaline phosphatase activity in canine appendicular osteosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14, 587-92.
- Groff J.M., Murphy C.J., Pool R.R., Koblik P., Bellhorn R. (1992). Orbital multilobular tumour of bone in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 33, 597-600.
- Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (2007). Bone and joints. In: *Pathology of Domestic Animals*. Fifth edition, Volume 1, Elsevier, St. Louis, p. 119-120.
- Koch B.B., Karnell L.H., Hoffman H.T., Apostolakis L.W., Robinson R.A., Zhen W., Menck H.R. (2000). National cancer database report on chondrosarcoma of the head and neck. *Head Neck* 22, 408-425.
- Leonardi L., Carrano A., Stoppini L., Floris M. (2014). Multilobular tumor of the zygomatic bone in a dog. *Open Veterinary Journal* 4, 9-11.
- Ling G.V., Morgan J.P., Pool R.R. (1974). Primary bone tumors in the dog: a combined clinical, radiographic, and histologic approach to early diagnosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 165, 55-67.
- Loukopoulos P., Thornton J.R., Robinson W.F. (2003). Clinical and pathologic relevance of p53 index in canine osseous tumors. *Veterinary Pathology* 40, 237-248.
- McCalla T.L., Moore C.P., Turk J., Collier L.L., Pope E.R. (1989). Multilobular osteosarcoma of mandible and orbit in a dog. *Veterinary Pathology* 26, 92-94.
- McGavin M.D., Zachary J.F. (2007). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Fourth edition, Elsevier, Mosby, United States, p. 1091.
- McLain D.L., Hill J.R., Pulley L.T. (1983). Multilobular osteoma and chondroma (chondroma rodens) with pulmonary metastasis in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* 19, 359-362.
- Moissonnier P., Devauchelle P., Delisle F. (1997). Cranioplasty after en bloc resection of calvarial chondroma rodens in two dogs. *Journal of Small Animal Practice* 38, 358-363.
- Mouatt J.G. (2002). Acrylic cranioplasty and axial pattern flap following calvarial and cerebral mass excision in a dog. *Australian Veterinary Journal* 80, 211-215.
- Otto K.A. (2015). Physiology, Pathophysiology and Anesthetic Management of Patients with Neurological Disease. In: Grimm K.A., Lamont L.A., Tranquilli W.J., Greene S.A. en Robertson S.A. (editors). *Veterinary Anesthesia and Analgesia*, Fifth edition of Lumb and Jones, Wiley Blackwell, Iowa, p. 574-582.
- Pakhrin B., Bae I.H., Jee H., Kang M.S., Kim D.Y. (2006). Multilobular tumor of the mandible in a Pekingese dog. *Journal of Veterinary Science* 7, 297-298.
- Park H.K., Dujovny M., Agner C., Diaz F.G. (2001). Biomechanical properties of calvarium prosthesis. *Neurological Research* 23, 267-276.
- Pletcher J.M., Koch S.A., Stedhem M.A. (1979). Orbital chondroma rodens in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 175, 187-190.
- Pool R.R. (1990). Tumors of bone and cartilage. In: Moulton J.E. (editor). *Tumors of Domestic Animals*. Third edition, University of California Press, Berkeley, p. 159-213.
- Popvitch C.A., Weinstein M.J., Goldschmidt M.H., Shofer

- F.S. (1994). Chondrosarcoma: a retrospective study of 97 dogs (1987-1990). *Journal of the American Animal Hospital Association* 30, 81-85.
- Psychas V., Loukopoulos P., Polizopoulou Z.S., Sofianidis G. (2009). Multilobular tumour of the caudal cranium causing severe cerebral and cerebellar compression in a dog. *Journal of Veterinary Science* 10, 81-83.
- Pumphrey S.A., Pizzirani S., Pirie C.G. (2011) 360-degree conjunctival grafting for management of diffuse keratomalacia in a dog. *Veterinary Ophthalmology* 14, 209-213.
- Rosselli D.D., Platt S.R., Freeman C., O'Neill J., Kent M., Holmes S.P. (2017). Cranioplasty using titanium mesh after skull tumor resection in five dogs. *Veterinary Surgery* 46, 67-74.
- Selcer B.A., McCracken M.D. (1981). Chondroma rodens in dogs: a report of two case histories and a review of the veterinary literature. *Journal of Veterinary Orthopedics* 2, 7-11.
- Smith M.M., Payne J.T., Moon M.L., Freeman L.E. (1991). Axial pattern flap based on the caudal auricular artery in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 52, 922-925.
- Stoll M.R., Roush J.K., Moisan P.G. (2001). Multilobular tumour of bone with no abnormalities on plain radiography in a dog. *Journal of Small Animal Practice* 42, 453-455.
- Straw R.C., LeCouteur R.A., Powers B.E., Withrow S.J. (1989). Multilobular osteochondrosarcoma of the canine skull: 16 cases (1978-1988). *American Veterinary Medical Association* 195, 1764-1769.
- van Gool A.V. (1985). Preformed polymethylmethacrylate cranioplasties: report of 45 cases. *Journal of Maxillofacial Surgery* 13, 2-8.
- Webb J.A., Liptak J.M., Hewitt S.A., Vince A.R. (2009). Multilobular osteochondrosarcoma of the os penis in a dog. *The Canadian Veterinary Journal* 50, 81-84.



## World Veterinary Poultry Association

WVPA - Belgian Branch

WVPA België organiseert jaarlijks verschillende studienamiddagen omtrent recente problematiek bij industrieel gehouden pluimvee. De thema's van de studienamiddagen spelen in op de huidige problematiek in de pluimveesector en proberen tegemoet te komen aan de verwachtingen van de pluimveedierenarts.

Thema's die tijdens het academiejaar 2017-2018 aan bod zullen komen, zijn: persisterende Salmonella infecties, drinkwaterkwaliteit en -veiligheid, pluimveewelzijn en de registratiewetgeving omtrent het gebruik van antimicrobiële producten in de pluimveesector.

Deelname aan het programma is gratis voor leden. Graag nodigen wij u uit om uw lidmaatschap te verlengen. Alle informatie over de geplande studienamiddagen, het lidgeld alsook het rekeningnummer waarop het lidgeld kan gestort worden, kan u vinden op de website [www.wvpa.be](http://www.wvpa.be).

Met vriendelijke groeten,  
WVPA België

## Pheochromocytoma in a horse with polymorphic ventricular tachycardia

### *Feochromocytoma bij een paard met polymorfe ventriculaire tachycardie*

<sup>1</sup>A. Dufourni, <sup>1</sup>D. De Clercq, <sup>1</sup>L. Vera, B. Broux, <sup>1</sup>L. Lefère, <sup>2</sup>L. Bosseler, <sup>2</sup>H. Versnaeyen, <sup>1</sup>G. van Loon

<sup>1</sup>Department of Large Animal Internal Medicine  
<sup>2</sup>Department of Pathology, Bacteriology and Poultry Diseases  
Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University,  
Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

Alexander.Dufourni@UGent.be

## **A**BSTRACT

A twenty-four-year-old mare, which had been examined seven years earlier for mitral valve regurgitation and mild left sided cardiomegaly, was presented with tachycardia, profuse sweating and muscle fasciculations. Blood examination revealed an increased packed cell volume, metabolic acidosis, hypocalcemia, hyperglycemia and increased cardiac troponin I concentration. ECG revealed ventricular premature beats and monomorphic ventricular tachycardia followed by polymorphic ventricular tachycardia with R-on-T phenomenon. The horse was treated immediately with hypertonic solution followed by isotonic solution and calcium, but the general condition deteriorated within forty-five minutes after arrival. The horse was euthanized due to poor prognosis. On necropsy, a pheochromocytoma of the left adrenal gland was found. Although this horse had undergone a cardiovascular examination seven and one year prior to the onset of the clinical signs, no indications for a neoplastic process or symptoms of a pheochromocytoma were found at that time. Early diagnosis of pheochromocytoma is based on catecholamine mediated cardiovascular effects, blood examination, blood pressure measurement, rectal palpation and rectal ultrasound of the adrenal gland. Based on a retrospective analysis of echocardiographic images and measurements, no predisposing factors were found. In this article, the importance of including pheochromocytoma as a differential diagnosis is highlighted, especially in older horses with acute polymorphic ventricular tachycardia, sweating, muscle tremors and signs of acute abdominal pain.

## SAMENVATTING

Een vierentwintig jaar oude merrie die zeven jaar geleden onderzocht werd voor een mitralisklep-regurgitatie en milde, linkszijdige cardiomegalie, werd aangeboden voor tachycardie, uitgesproken zweten en spiertremor. Het bloedonderzoek toonde een verhoogde hematocriet, metabole acidose, hypocalcemie, hyperglycemie en een verhoogde cardiaal troponine I-concentratie aan. Elektrocardiografie toonde talrijke ventriculaire premature contracties en monomorfe ventriculaire tachycardie die gevolgd werd door polymorfe ventriculaire tachycardie met R-op-T fenomeen. Ondanks onmiddellijke behandeling met hypertoon en calciuminfuus verslechterde de klinische situatie progressief binnen de vijfenveertig minuten na aankomst. Omwille van de gereserveerde prognose werd het paard geëuthanaseerd. Pathologisch onderzoek toonde een bijniermergtumor (feochromocytoom) van de linkerbijnier aan. Alhoewel dit paard reeds zeven en één jaar vóór het begin van de klinische tekenen van feochromocytoom onderzocht werd, konden op die momenten geen indicaties voor een neoplastisch proces of klinische tekenen van een feochromocytoom worden waargenomen. Een vroege diagnose van bijniermergtumoren kan gebaseerd zijn op catecholamine gemedieerde cardiovasculaire effecten, bloedonderzoek, bloeddrukmeting, rectaal onderzoek en rectale echografie van de bijnier. Aan de hand van een retrospectieve analyse van echocardiografische beelden en metingen konden in het voorliggende geval geen predisponerende factoren gevonden worden. In dit artikel wordt het belang van het overwegen van een feochromocytoom in de differentiaaldiagnose benadrukt, voornamelijk bij oudere paarden met polymorfe ventriculaire tachycardie, zweten, spiertremoren en acute kolieksymptomen.

## INTRODUCTION

Tumors of chromaffin and non-chromaffin paraganglia are relatively rare in all species (Calsyn et al., 2010), but pheochromocytoma is the most frequently occurring medullary adrenal neoplasm in domestic animals and the most common adrenal tumor in older horses (Appelby, 1976; Johnson et al., 1995; Luethy et al., 2016; Wilson et al., 1986). The prevalence of pheochromocytomas is higher than the prevalence of cortical tumors (Appleby, 1976). Prolonged stimulation of the adrenal gland might lead to neoplastic change with a continuous gradient from hyperplasia to adenoma (Appleby, 1976; De Cock and MacLachlan, 1999). In humans, pheochromocytoma may have a familial occurrence and can occur together with other endocrine neoplasms, i. e. multiple endocrine neoplasia (MEN-) (De Cock and MacLachlan, 1999; Germann et al., 2006; Luethy et al., 2016; Pugsley and Spratt, 1984; Tischler et al., 2004). Usually, equine pheochromocytomas are unilateral, non-functional and have a low incidence of malignancy. There is no breed or gender predisposition, but older horses (> twelve years) are at higher risk for developing the neoplasia (Germann et al., 2006; Johnson et al., 1995; Luethy et al., 2016; Toribio, 2010; Yovich et al., 1984).

Functional, catecholamine-producing pheochromocytomas occur in horses, and they mainly secrete epinephrine, but also norepinephrine secreting pheochromocytomas have been identified (Johnson et al., 1995; Toribio, 2010). In cattle and dogs, they predominantly produce norepinephrine, while in humans, both hormones are often produced (Edmondson et al., 2015; Johnson et al., 1995; Luethy et al., 2016). The sudden inappropriate release of catecholamines in the blood may lead to lethargy, polydipsia, polyuria, weight loss with a variable appetite, tachypnea, hyperthermia, pyrexia, abdominal distention, ileus, abdominal pain, recurrent colic, diarrhea, edema, excessive sweating, excitability, mydriasis, restlessness, anxiety, muscle fasciculations, ataxia, hypertension, abortion, concentric cardiac hypertrophy, tachycardia, supraventricular and ventricular arrhythmia or sudden death (Anderson and Aitken, 1977; Buckingham, 1970; De Simone G, 2004; Dybdal and McFarlane, 2009; Froscher and Power, 1982; Gelberg et al., 1979; Germann et al., 2006; Johnson et al., 1995; Kline et al., 1961; Snow, 1979; Luethy et al., 2016; Toribio, 2010; Yovich and Ducharme, 1983; Yovich et al., 1984). Dopamine is a precursor of epinephrine and norepinephrine. Tumors, which are deficient in beta hydroxylase, the enzyme that converts dopamine into norepinephrine, predominantly secrete dopamine (Dubois, 2005). Dopamine secreting pheochromocytomas are less common and occur occasionally with an asymptomatic, non-classical presentation with vague, non-specific signs and a normal blood pressure (Calsyn et al., 2010; Dubois,

2005; Johnson et al., 1995).

The sudden onset of the severe, non-specific clinical signs makes it difficult to make the diagnosis before necropsy (Luethy et al., 2016). Ante mortem diagnosis can sometimes be made by the combination of the clinical signs, including especially profuse sweating with tachycardia in absence of colic, enteritis or septicemia, coccygeal blood pressure measurement, abdominocentesis, determination of circulating serum catecholamines and their urinary metabolites, rectal examination or transrectal ultrasonography (Durie et al., 2010; Johnson et al., 1995; Luethy et al., 2016; Wilson et al., 1986). In this case report, a twenty-four-year-old horse with acute polymorphic ventricular tachycardia due to a functional pheochromocytoma is described.

## CASE HISTORY

A seventeen-year-old warmblood mare was initially presented at the Department of Large Animal Internal Medicine (Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University) for the evaluation of an asymptomatic, left-sided, mid-end systolic, crescendo murmur over the mitral valve region with a grade 3/6. A limited ultrasound examination, which included only two dimensional (2D) images and Doppler evaluation of the mitral valve, was performed for a murmur that was detected immediately before induction of anesthesia for elective surgery on a hoof abscess. The horse had a regular heart rhythm at a frequency of 36 beats per minute. Ultrasonography revealed moderate mitral valve regurgitation (MR) with a slightly dilated left atrium (LA) (Table 1). The LA/Ao end-systolic diameter ratio was increased to 1.32 (reference value: < 1.25) (Van der Vekens et al., 2016).

Six years later, the twenty-three-year-old horse showed sudden ventral edema. On auscultation, a regular heart rhythm and a normal heart rate of 44 beats per minute were present. A holosystolic, crescendo murmur grade 4/6 was present over the mitral valve region. On the right side, a holosystolic plateau type murmur grade 2/6 was detected. Electrocardiographic (ECG) recording showed a normal sinus rhythm. The general clinical examination was normal, except for ventral edema. A general blood examination performed at home revealed no abnormalities. Ultrasound of the thorax and abdomen was normal. Echocardiography revealed a slightly thickened mitral valve with severe regurgitation and a mild aortic and tricuspid regurgitation in combination with a slightly thickened aortic valve. On M-mode of the left ventricle, a mild hyperkinetic movement of the interventricular septum was observed. A 2D echocardiographic examination revealed an increased mean and relative wall thickness and left ventricular area in diastole. The interventricular septum thickness in dia-

**Table 1. Cardiac measurements obtained in 2008 and 2013 (reference values are based on <sup>1</sup>Sabev, 2014; <sup>2</sup>Ven et al., 2016; <sup>3</sup>Trachsel et al., 2013; <sup>4</sup>Patteson et al., 1995).**

Measurement	2DE 2008	2D Ultra- sound 2013	Reference	Measurement	M-Mode 2013	Reference
			Mean ± SD			Mean ± SD
R-LVFWd4C (cm)	1.8	1.8	3.1 ± 0.6 <sup>1</sup>	R-LVFWd <sub>ch</sub> (cm)	2.0	2.4 ± 0.2 <sup>1</sup>
R-LVFWs4C (cm)	3.0	3.2	4.0 ± 0.4 <sup>4^</sup>	R-LVFWs <sub>ch</sub> (cm)	3.6	3.7 ± 0.6 <sup>1</sup>
R-LVDd4C (cm)	11.4	11.7	11.9 ± 0.6 <sup>4^</sup>	R-LVIDd <sub>ch</sub> (cm)	12.6	9.8 – 12.6 <sup>2</sup>
R-LVDs4C (cm)	8.3	8.2	7.5 ± 0.7 <sup>4^</sup>	R-LVIDs <sub>ch</sub> (cm)	8.2	4.7 – 8.1 <sup>2</sup>
R-LVAd4C (cm <sup>2</sup> )	180.5	<b>187.6</b>	105.9 – 184.7 <sup>2</sup>		/	/
R-LVAs4C (cm <sup>2</sup> )	65.8	77.5	43.1 – 92.7 <sup>2</sup>		/	/
MWT (cm)	1.8	2.5	no data <sup>°</sup>	MWT (cm)	2.2	2.8 ± 0.3 <sup>3</sup>
RWT	0.32	0.43	no data <sup>°</sup>	RWT	0.35	0.5 ± 0.1 <sup>3</sup>
R-IVSd4C (cm)	1.9	3.2	3.4 ± 0.2 <sup>1</sup>	R-IVSd <sub>ch</sub> (cm)	2.4	2.9 ± 0.2 <sup>1</sup>
R-IVSs4C (cm)	3.2	2.8	4.1 ± 0.3 <sup>4^</sup>	R-IVSs <sub>ch</sub> (cm)	3.5	3.8 ± 0.3 <sup>1</sup>
R-LAD <sub>SAX</sub> (cm)	<b>9.70</b>	<b>10.00</b>	7.54 – 9.62 <sup>2</sup>		/	/
R-AoD <sub>SAX</sub> (cm)	7.30	7.60	6.22 – 8.46 <sup>2</sup>		/	/
R-LA/AoD <sub>SAX</sub>	<b>1.32</b>	<b>1.32</b>	1.05 – 1.29 <sup>2</sup>		/	/

R-LVFWd4C: end-diastolic left ventricular free wall thickness from the four-chamber view; R-LVFWs4C: end-systolic left ventricular free wall thickness from the four-chamber view; R-LVDd4C: end-diastolic left ventricular internal diameter from the four-chamber view; R-LVDs4C: end-systolic left ventricular internal diameter from the four-chamber view; R-LVAd4C: end-diastolic left ventricular area from the four-chamber view; R-LVAs4C: end-systolic left ventricular area from the four-chamber view; MWT: mean wall thickness; RWT: relative wall thickness; R-IVSd4C: end-diastolic interventricular septum thickness at chordal level from the four-chamber view; R-IVSs4C: end-systolic interventricular septum thickness at chordal level from the four-chamber view; R-LAD<sub>SAX</sub>: end-systolic left atrial short-axis diameter; R-AoD<sub>SAX</sub>: end-systolic aortic short-axis diameter; R-LVFWd<sub>ch</sub>: end-diastolic left ventricular free wall thickness at chordal level; R-LVFWs<sub>ch</sub>: end-systolic left ventricular free wall thickness at chordal level; R-LVIDd<sub>ch</sub>: end-diastolic left ventricular internal diameter at chordal level; R-LVIDs<sub>ch</sub>: end-systolic left ventricular internal diameter at chordal level; R-IVSd<sub>ch</sub>: end-diastolic interventricular septum thickness at chordal level; R-IVSs<sub>ch</sub>: end-systolic interventricular septum thickness at chordal level.

<sup>°</sup> no data in Warmblood horses  
<sup>^</sup> data in Thoroughbred horses

stole had increased, but did not reach values above the reference value. An increase in left atrial and aortic diameter occurred without a significant change in La/Ao ratio. The echocardiographic measurements of 2008 and 2013 are compared in Table 1. Based upon the ultrasonographic findings, the ventral edema was not related to the cardiac problem. No additional tests were performed in the diagnosis of the ventral edema. After a prednisolone therapy given at home, the edema disappeared.

**Clinical examination**

At the age of twenty-four, the horse was presented because of excessive sweating, muscle fasciculation and signs of colic. Previously, no signs of restlessness, sweating or excitation were seen. Rectal palpation performed at home by the referring veterinarian had not revealed any abnormalities. The horse had been treated before referral to the clinic with 30 cc of N-butylscopolaminiumbromide with metamizolum IV (Buscopan compositum®, Boehringer Ingelheim, Belgium) and 10 cc of dexamethasone IV (Rapidexon®, Ecuphar, Belgium).

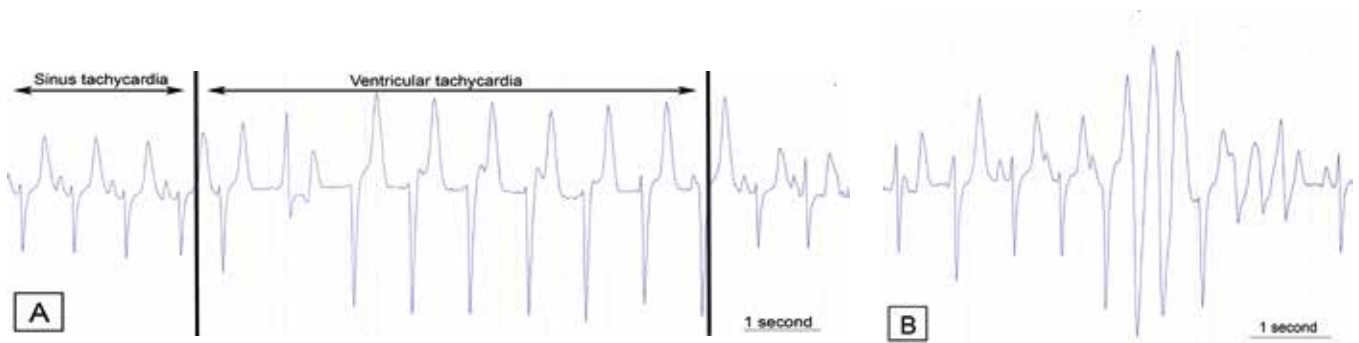
Upon arrival at the clinic, the horse had hyperemic mucous membranes and a normal rectal temperature of 37.4 °C. The horse weighed 457 kg and had a body condition score of 5/9. The mare was sweating and showed severe muscle trembling. On auscultation,

there were reduced gut sounds and pronounced vesicular breathing. Cardiac auscultation revealed a tachyarrhythmia at 100 beats per minute with a holo-systolic murmur grade 4/6 over the mitral valve area and loud heart sounds. The pulse quality was good. No ventral edema was present. Blood examination revealed a metabolic acidosis, hypocalcemia, hyperglycemia and an increased packed cell volume (Table 2). Serum cardiac troponin I was directly send to the lab and determined by the acridinium ester-based ADVIA centaur troponin I-ultra assay. The value was markedly increased (Table 2).

Apart from tachycardia, echocardiography showed a good contractile function and was not suggestive of primary cardiac failure. A resting ECG (Televet

**Table 2. Analysis of a venous blood sample of the horse with a pheochromocytoma.**

Sample	Value	Reference values
pH	7.24	7.40 ± 0.50
Base Exces	- 6 mEq/L	0 ± 5 mEq/L
Packed cell volume	<b>62 %</b>	40 ± 5 %
Ionized Calcium	<b>1.17 mmol/L</b>	1.40 – 1.60 mmol/L
Sodium	140 mmol/L	135 - 150 mmol/L
Potassium	3.0 mmol/L	3.0 – 4.0 mmol/L
Chloride	82 mmol/L	95 - 105 mmol/L
Glucose	<b>368 mg/dL</b>	80 - 120 mg/dL
Cardiac Troponin I	<b>17.40 ng/mL</b>	< 0.03 ng/mL



**Figure 1. A. Sinus tachycardia followed by ventricular tachycardia with different QRS morphologies B. Run of polymorphic ventricular tachycardia and R-on-T phenomenon.**

100<sup>®</sup>, Engel Engineering Service GmbH, Offenbach, Germany) showed sinus tachycardia, with episodes of ventricular premature depolarizations (VPD) and polymorphic ventricular tachycardia (VT) (Figure 1A). During the placement of a catheter in the jugular vein, a short run of polymorphic ventricular tachycardia with R-on-T morphology was seen (Figure 1B). No blood pressure measurements were performed.

Thoracic ultrasonography revealed no abnormalities. Abdominal ultrasound showed a few mildly dilated, contractile small intestines. There was no increase in free abdominal fluid. The stomach had a normal size of three intercostal spaces without any gas-fluid line. On rectal palpation, no abnormalities were palpated in the region of the left kidney, the nephrosplenic ligament and the spleen. There was dry feces present in the rectum and the cecum was slightly distended with gas.

Sampling of the abdominal fluid showed clear yellowish transudate with a white blood cell count of 1000 cells/ $\mu$ L (reference value: < 5000 cells/ $\mu$ L), a total protein of 2 g/dL (reference value: < 2.5 g/dL) and a lactate of 20 mmol/L (reference value: < 4.1 mmol/L).

Four ml/kg of hypertonic saline (7.2% NaCl<sup>®</sup>, Braun, Belgium), 0.5 mg/kg of calciumborogluconate (Calcii Borogluconas<sup>®</sup>, Eurovet, Belgium) and bicarbonate supplementation, followed by 11 ml/kg of lactated Ringer's solution (Dirinco<sup>®</sup>, Haemopharm Biofluids, Italy) were administered. Within 45 minutes after arrival in the clinic, the general condition of the horse deteriorated and the owner decided to let the horse be euthanized.

## Post-mortem findings

### Macroscopic examination

A full necropsy was performed within 24 hours after death by a recognized European specialist pathology. A hemorrhagic mass (5 x 3 cm) was found at the craniomedial aspect of the left kidney. The neoplastic adrenal gland was not enlarged (reference length: 7-8 cm, width: 2.4-4.5 cm, thickness: 0.6-1.6 cm) (Durie et al., 2010). Multiple petechiae were found on the pleura, spleen, mesentery and coronary vessels. Additionally, multiple subendocardial white plaques were

found in the myocardium. The left atrium appeared slightly dilated. Macroscopic examination of the different cardiac valves did not reveal clear abnormalities. The liver was diffusely congested, moderately firm and irregular, and had an accentuated zonal pattern.

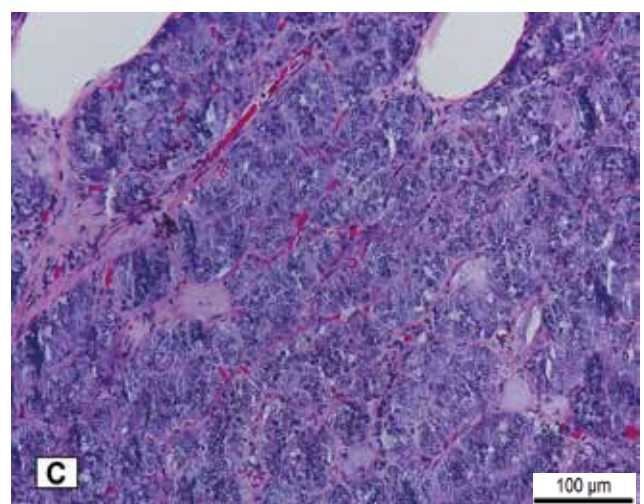
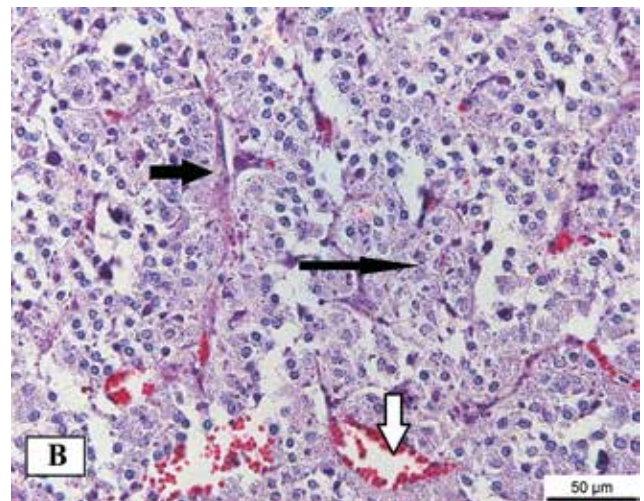
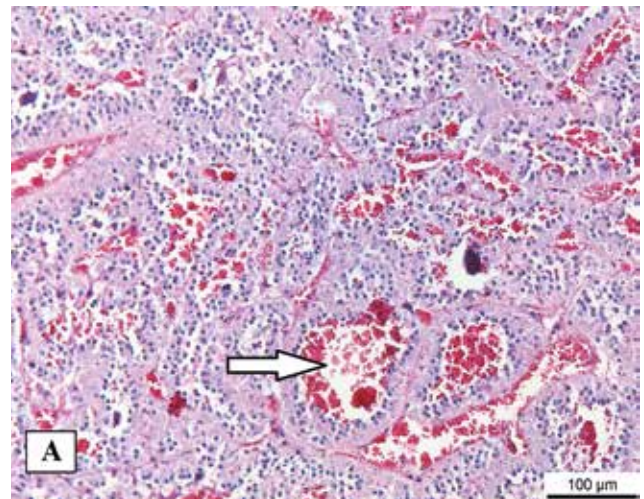
### Microscopic examination

Samples taken during necropsy were fixed in 4%-buffered formalin and embedded in paraffin. Sections of 4  $\mu$ m were made and subsequently stained with hematoxylin-eosin (HE) for routine histological evaluation. The adrenal medulla consisted of packets of columnar to cubic cells with a high amount of eosinophilic to brownish, granular cytoplasm and an eccentrically located hyperchromatic nucleus. Anisokaryosis and anisocytosis were moderate. The packets were separated by delicate strands of highly vascularized fibrovascular stroma. There was less than one mitotic figure per high power field. The histological presentation was indicative of a pheochromocytoma (Figures 2A and 2B). No immunohistochemistry was performed due to the typical eosinophilic intracytoplasmic granular aspect. An indication about the normal architecture of an adrenal medulla is given in Figure 2C. In the heart, there was mild, multifocal hypertrophy of the cardiomyocytes as judged by the pathologist. The nuclei were surrounded by a yellow-brownish pigment (lipofuscin). Subendocardially, multiple fibrotic zones with centrally accumulated mineralization indicative of chronic and/or acute cardiac dilation were present (Robinson and Robinson, 2016). The liver showed diffuse capsular fibrosis and the presence of coalescing subcapsular vascular spaces (teleangiectasia), which can be interpreted as incidental findings. The Kupffer cells, as well as some hepatocytes, contained a moderate amount of hemosiderin, which is indicative of an increased red blood cell turn-over. Multifocal single cell necrosis was present. The portal areas were infiltrated by small amounts of lymphocytes, plasma cells and hemosiderin-laden macrophages, which suggested a non-specific, reactive hepatitis. Additionally, lymphoplasmacytic infiltration of the colonic lamina propria was found.

## DISCUSSION

Pheochromocytomas are the most frequently occurring adrenal medullary tumors in older horses, but they are a relatively rare finding with a prevalence of 0.95 % (Luethy et al., 2016). Yet, the ante-mortem diagnosis of pheochromocytomas in equine medicine is difficult and the definitive diagnosis is often made on necropsy (Luethy et al., 2016), despite the existence of data on catecholamine concentrations in normal and affected horses (Fouché et al., 2016; Yovich et al., 1984). The clinical signs of a pheochromocytoma are correlated with the functionality of the tumor cells and occur continuously or paroxysmally (Calsyn et al., 2010; Johnson et al., 1995; Yovich et al., 1984). The clinical signs in the horse of the present case were noticed for the first time when it was presented at the age of twenty-four. Retroperitoneal hemorrhage or hemoperitoneum may result from severe bleeding and rupture of the tumor due to a weak vascular integrity in combination with a rapid growth and an increased intracapsular pressure (Herbach et al., 2010; Johnson et al., 1995; Yovich and Ducharme, 1983). In the present case, no signs of abdominal bleeding were seen by abdominal ultrasonography and abdominocentesis. Moreover, on rectal palpation, no mass was palpated in the region of the left kidney, which actually could have been missed due to the cranial position of the adrenal gland in the abdominal cavity. No rupture of the neoplasm was seen macroscopically on post-mortem examination. These facts suggest that the horse suffered from a functional, non-ruptured neoplasm of the left adrenal gland. In most cases, the medullary tumor compresses the adjacent hemorrhagic cortex (Luethy et al., 2016; Pugsley and Spratt, 1984). As in the present case, histology of the adrenal gland tumor reveals cellular trabeculae, packets or nests, which are separated by large vascular spaces and fibrous stroma. Round to oval nuclei are located in the apical part of the cells distant to the vascular channel or are located centrally. The cytoplasm is eosinophilic and filled up by just one type of eosinophilic secretory granules (Buckingham, 1970; Froscher and Power, 1982; Gelberg et al., 1979; Germann et al., 2006; Herbach et al., 2010; Johnson et al., 1995; Luethy et al., 2016; Pugsley and Spratt, 1984; Wilson et al., 1986).

Biochemically, dopamine has  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenergic and dopaminergic receptor activity with a predominance of  $\alpha$ -adrenergic effects (Marsh, 2010). The effects of epinephrine ( $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenergic effects) and norepinephrine (only  $\alpha$ -adrenergic effect) may lead to an increased rate of alpha-mediated hepatic glycogenolysis and beta-mediated muscle glycogenolysis resulting in hyperglycemia (Luethy et al., 2016; Snow, 1979). Acute stress situations in horses are likely to cause initially a rise in blood glucose levels. Furthermore, circulatory compromises, splanchnic vasoconstriction, ischemia and  $\beta$ 2-mediated muscle glycogenolysis may increase the blood lactate values,



**Figure 2.** A. H&E stain. Histological presentation of the left adrenal pheochromocytoma, showing trabeculae and packets of moderately sized, polygonal cells (→), separated by highly vascularized (⇔) stroma (↔). B. H&E stain. Close-up of tumor cells. C. H&E stain. Normal adrenal medulla with less eosinophilic cytoplasm and less vascular spaces.

resulting in metabolic acidosis (Germann et al., 2006; Luethy et al., 2016; Snow, 1979). In the present case, no blood lactate measurement was performed, but lactate values of the abdominal fluid were increased to 20 mmol/l. As increased blood lactate values are a reflection of generalized hyperlactatemia, the increased level of lactate in the abdominal fluid of the patient of the present case is also a potent reflection of this hyperlactatemia. Maximal splenic contraction raises the packed cell volume and results in a higher number of circulating erythrocytes (Snow, 1979). The intestinal sequestration of fluids and splanchnic vasoconstriction may lead to hypovolemia and hemoconcentration. In the present case, no reason for severe systemic dehydration was found on clinical and pathological examination. Hence, splenic contraction was in this case the most plausible cause of a rise in circulating erythrocytes. Positive chronotropic effects of the catecholamines on  $\beta_2$ -receptors may be an explanation for the increased heart rate (Luethy et al. 2016; Anderson and Aitken, 1977; Snow, 1979). Alternatively, tachycardia may also be induced by severe pain, dehydration, endotoxemic or hemorrhagic shock or cardiovascular disease. Excessive sweating and pronounced muscle tremors in the patient of the present case might also be explained by  $\beta_2$ -adrenergic stimulation (Germann et al., 2006; Luethy et al., 2016; Toribio, 2010; Yovich and Ducharme, 1983), but hypocalcemia and physiological stress or pain might also be the reason for these clinical findings. Electrolyte changes have been reported in horses with functional pheochromocytomas and may result in hypocalcemia, hypo- or hyperkalemia, hypochloremia, hyponatremia or hyperphosphatemia (Toribio, 2010). These electrolyte changes may be the result of severe electrolyte losses due to sweating or severe muscle fasciculation and stress. Abdominal pain may destabilize patient (Froscher and Power, 1982), and makes the differentiation with an acute colic extremely difficult. The sympathetic effects on the postganglionic nerves of the gastrointestinal system may cause functional ileus with possible secondary gaseous distention and impaction of the large intestine (Yovich and Ducharme, 1983). Low-grade lymphocytic enteritis has already been described in association with pheochromocytoma (Gelberg et al., 1979; Johnson et al., 1995; Yovich et al., 1984).

Catecholamine mediated overstimulation increases cardiac contractility and heart rate, with an increase in myocardial oxygen demand. Functional hypoxia induced by vasoconstriction in the coronary macro- and microcirculations results in an uncoupling of the oxidative phosphorylation and induces electrolyte imbalances (Liaudet et al., 2014). An increase in cytosolic and mitochondrial calcium triggers mitochondrial oxidative stress and permeability, resulting in apoptotic and necrotic cell death and progressive focal myocardial fibrosis (Liaudet et al., 2014). The presence of

subendocardial mineralization may occur in association with an acute onset of heart disease (Robinson and Robinson, 2016). Although dehydration and valvular regurgitation might induce a mild cardiac troponin increase, the extremely high value found in the horse of the present case (17.4 ng/ml) was probably due to direct catecholamine-induced myocardial damage (Van der Vekens et al., 2015a; Van der Vekens et al., 2015b).

The cardiac arrhythmia seen in this horse might be explained by catecholamine release, which causes myocardial hypoxia and myocardial damage on the one hand and hypertension related to concentric hypertrophy and cardiomyopathy on the other hand. These effects of catecholamines may be an explanation for a hypertrophic left ventricle in horses with pheochromocytoma (Kline, 1961; Johnson et al., 1995; Parry, 1984; Toribio, 2010; Yovich and Ducharme, 1983; Yovich et al., 1984). While chronic hypertensive effects may lead to concentric cardiac hypertrophy, mitral and aortic valve regurgitation may finally result in eccentric cardiac hypertrophy. In the present case, during the last presentation, a full cardiac examination could not be performed due to the instable condition of the horse. Therefore, the exact contribution and type of hypertrophy due to the combined effect of mitral valve regurgitation and pheochromocytoma could not be assessed. Due to the acute onset of the clinical signs, catecholamines were thought to be unlikely to result in concentric hypertrophy, but they were the most likely cause of ventricular tachycardia. In addition, the ventricles had a normal appearance on necropsy.

Hypertension is a common finding in horses with functional pheochromocytoma. Direct blood pressure monitoring or indirect blood pressure monitoring from the coccygeal artery is useful for the early diagnosis of a functional pheochromocytoma (Johnson et al., 1995; Parry, 1984) and is more important than serum sampling for catecholamines. Unfortunately, blood pressure monitoring in this horse with functional pheochromocytoma was not performed due to instability and the rapid aggravation of the clinical signs. Normal norepinephrine levels in horses and ponies range between 120 – 300 pg/mL and 140 – 450 pg/mL, respectively. Due to excitation, these values quickly rise to 400 – 1200 pg/mL (Yovich et al., 1984). Epinephrine and norepinephrine are rapidly inactivated and excreted as glucuronides (metanephrines or urine vanillylmandelic acid) (Calsyn et al., 2010; Fouché et al., 2016; Johnson et al., 1995; Wilson et al., 1986), so the plasma concentrations of catecholamines are not stable. Good sampling and rapid determination are essential for obtaining representative values. Blood should be collected on EDTA tubes that contain bisulfate, an antioxidant, to prevent the degradation of norepinephrine (Hardee et al., 1982; Parry, 1984). Metabolite screening is extremely



insensitive for diagnosing a dopamine secreting pheochromocytoma. Therefore, in human patients' serum and urine, dopamine levels are measured for screening (Dubois and Daryl, 2005). The determination of catecholamines is not a standard analytic procedure and finding an adequate laboratory may be difficult. In addition, dopamine plasma concentrations vary widely among individuals (Marsh, 2010). Blood catecholamines and their urinary metabolites are a good diagnostic parameter for ante-mortem diagnosis of epinephrine or norepinephrine secreting tumors with a high sensitivity and a high specificity (Calsyn et al., 2010), but due to the rapid onset and the fast evolution of the clinical signs, plasma epinephrine and urinary metabolites were not analyzed in the patient of the present case, as the results would not have been known on time for contributing in making a definite diagnosis.

Any retroperitoneal mass palpable in the dorsal abdomen near the abdominal aorta may be indicative of a pheochromocytoma. Depending on horse and tumor size, the right kidney and right adrenal gland cannot always be reached by rectal palpation. Unfortunately, the normal right adrenal gland cannot be visualized by rectal ultrasonography in most horses. The deep abdominal location of the adrenal glands in adult horses makes it hard to use transabdominal ultrasonography for diagnostic imaging (Durie et al., 2010). By a rectal approach, the left adrenal gland potentially can be rectally palpated and visualized by ultrasound. As in the present case, the tumor is often missed (Buckingham, 1970; Froscher, 1982; Johnson, et al., 1995; Yovich, 1983), due to the cranial position or an inappropriate inspection or palpation of this abdominal region, especially in an instable patient. If a presumptive diagnosis of an abdominal mass is made by rectal examination, rectal ultrasound can be used to examine the morphology of the mass (Durie et al., 2010; Johnson et al., 1995). A normal equine adrenal gland has a length of 7-8 cm, a mean thickness of 0.6-1.6 cm and a width of 2.4-4.5 cm (Durie et al., 2010).

Curative treatment of horses with functional pheochromocytomas is difficult. Symptomatic treatment of the metabolic acidosis and electrolyte disturbances should be done by infusion therapy (Johnson et al., 1995; Yovich and Ducharme, 1983). Resection by laparotomy is possible but difficult due to the anatomical position of the adrenal gland (Toribio, 2010). On the other side, general anesthesia enables to monitor the patient better. Standing laparoscopic adrenalectomy in horses seems to be a possible surgical technique in case of a stable patient (Fouché et al., 2016; Vanschandevijl et al., 2008). Mechanical manipulation of the tumor during surgery might result in tachycardia and hypertension (Germann et al., 2006). Therefore, cardiovascular monitoring by ECG and blood pressure measurement during the intervention are essential and the combination of early interruption of tumor

vessels, which are directly draining into the inferior vena cava and a careful dissection are recommended (Pillinger et al., 2002; Toribio, 2010). Laparoscopic transperitoneal adrenalectomy is the method of choice for resection of a benign adrenal tumor and has become the golden standard with an excellent prognosis in human medicine (Johnson et al., 1995; Pillinger et al., 2002). Complete surgical removal is usually curative in human medicine (Parry, 1984). Preoperatively,  $\alpha$ -adrenergic antagonists, such as phentolamine, phenoxybenzamine hydrochloride (0.2 – 0.5 mg/kg q12h orally) (Fouché et al., 2016) or prazosin hydrochloride can be used as hypotensive agents (Fouché et al., 2016; Toribio, 2010). Acepromazine maleate as dopamine receptor antagonist can also be used for its hypotensive characteristics. Propranolol (0.78 mg/kg orally) can block  $\beta$ -receptors, which reduces tachycardia, sweat response and the effects of glycogenolysis and lipolysis (Toribio, 2010; Fouché et al., 2016). Administration of  $\beta$ -blockers without prior administration of  $\alpha$ -adrenergic blockers is contraindicated due to a risk of unopposed  $\alpha$ -adrenergic receptor stimulation causing a hypertensive reaction (Fouché et al., 2016). Dopamine (D<sub>2</sub>) receptors are expressed in human pheochromocytomas and have inhibitory effects on norepinephrine secretion. Pergolide, a dopamine agonist, is supposed to have remissive effects on clinical signs (Fouché et al., 2016). Alpha-adrenergic blockage is contraindicated for the treatment of dopamine-secreting tumors because of the hypotensive effects and cardiovascular collapse. This illustrates the need to analyze which catecholamine is secreted by the tumor before starting medical therapy. Metyrosine, which inhibits the enzyme tyrosine hydroxylase, can be used in humans for conservative treatment by blocking the dopamine synthesis (Dubois and Daryl, 2005). Successful treatment of horses with functional pheochromocytomas has not been reported yet, and for the above mentioned medication, effective dosages in horses are poorly documented or based on a single case report.

## CONCLUSION

The prognosis of a functional equine pheochromocytoma remains poor due to the difficulty of early diagnosis and the rapid onset of clinical signs. Although the cardiovascular system of the horse had been examined seven and one year prior to the onset of the clinical signs of pheochromocytoma, no indications for the neoplastic process or symptoms of a pheochromocytoma were found at that time. Based on general examination and the achieved cardiac parameters, no signs of catecholamine induced hypertensive effects on the equine myocardium could be found. Even if careful inspection of the left caudo-dorsal abdominal region would have been performed, the diagnosis

could have been missed because of normal adrenal size and the absence of hemorrhage. Tachycardia, polycythemia, muscle trembling, profuse sweating and acute colic were the most important signs in this case. Prompt cardiac examination including echocardiography, ECG recording and cardiac troponin assessment are valuable in order to include pheochromocytoma in the differential diagnosis of colic signs.

## REFERENCES

- Anderson M.G., Aitken M.M. (1977). Biochemical and physiological effects of catecholamine administration in the horse. *Research in Veterinary Science* 22, 357-360.
- Appleby E.C., Sohrabi I. (1978). Pathology of the adrenal glands and paraganglia. *The Veterinary Record* 102, 76-78.
- Appleby E.C. (1976). Tumors of the adrenal gland and paraganglia. *Bulletin World Health Organisation* 53, 227-235.
- Buckingham J.D.E. (1970). Pheochromocytoma in a mare. *Canadian Veterinary Journal* 11, 205-208.
- Calsyn J.D.R., Green R.A., Davis G.J., Reilly C.M. (2010). Adrenal pheochromocytoma with contralateral adrenocortical adenoma in a cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 46, 36-42.
- De Cock H.E.V., MacLachlan N.J. (1999). Simultaneous occurrence of multiple neoplasms and hyperplasias in the adrenal and thyroid gland of the horse resembling multiple endocrine neoplasia syndrome: case report and retrospective identification of additional cases. *Journal of Veterinary Pathology* 36, 633-636.
- De Simone G (2004). Concentric or eccentric hypertrophy: How clinically relevant is the difference. *Journal of the American Heart Association* 43, 714-715.
- Dubois L.A., Daryl K.G. (2005). Dopamine-secreting pheochromocytomas: In search of a syndrome. *World Journal of Surgery* 29, 909-913.
- Durie I., van Loon G., Vermeire S., De Clercq D., Vanschandevijl K., Deprez P. (2010). Transrectal ultrasonography of the left adrenal gland in healthy horses. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 51, 540-544.
- Dybdal N.O., McFarlane D. (2009). Endocrine and metabolic diseases: pheochromocytoma. In: Smith B.P. (editor). *Large Animal Internal Medicine*. Fourth edition, Elsevier, St. Louis, p. 1339-1387.
- Fouché N., Gerber V., Gorgas D., Marolf V., Grouzmann E., van der Kolk J.H., Navas de Solis C. (2016). Catecholamine metabolism in a Shetland pony with suspected pheochromocytoma and pituitary pars intermedia dysfunction. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30, 1872-1878.
- Froscher B.G., Power H.T. (1982). Malignant pheochromocytoma in a foal. *Journal of American Veterinary Medical Association* 181, 494-496.
- Gelberg H., Cockerell G.L., Minor R.R. (1979). A light and electron microscopic study of a normal adrenal medulla and a pheochromocytoma from a horse. *Veterinary Pathology* 16, 395-404.
- Germann S.E., Rütten M., Derungs S.B., Feige K. (2006). Multiple endocrine neoplasia-like syndrome in a horse. *Veterinary Record* 159, 530-532.
- Hardee G.E., Lai J.W., Semrad S.D., Trim C.M. (1982). Catecholamines in equine and bovine plasma. *Journal of Veterinary Pharmacology Therapy* 5, 279-284.
- Herbach N., Breuer W., Hermanns W. (2010). Metastatic extra-adrenal sympathetic paraganglioma in a horse. *Journal of Comparative Pathology* 143, 199-202.
- Johnson P.J., Goetz T.E., Foreman J.H., Zachary J.F. (1995). Pheochromocytoma in two horses. *Journal of American Veterinary Medical Association* 206, 837-841.
- Kline I.K. (1961). Myocardial alterations associated with pheochromocytomas. *American Journal Pathology* 38, 539-551.
- Liaudet L., Calderari B., Pacher P. (2014). Pathophysiological mechanisms of catecholamine and cocaine-mediated cardiotoxicity. *Heart Failure Reviews* 19, 815-824.
- Luethy D., Habecker P., Murphy B., Nole-Walston R. (2016). Clinical and pathological features of pheochromocytoma in the horse: A multi-centre retrospective study of 37 cases (2007-2014). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30, 309-313.
- Marsh P.S. (2010). Critical care. In: Reed S.M., Bayly W.M., Sellon D.C. (editors). *Equine Internal Medicine*. Third edition, Elsevier, St. Louis, p. 246-279.
- Parry B.W. (1984). Diagnosis of equine pheochromocytoma. *Canadian Veterinary Journal* 25, 333.
- Patteson M.W., Gibbs C., Wotton P.R., Cripps P.J. (1995). Echocardiographic measurements of cardiac dimensions and indices of cardiac function in normal adult thoroughbred horses. *Equine Veterinary Journal Supplement* 19, 18-27.
- Pillinger S.H., Bambach C.P., Sidhu S. (2002). Laparoscopic adrenalectomy: A 6-year experience of 59 cases. *The Australian and New Zealand Journal of Surgery* 72, 467-470.
- Pugsley S.L., Spratt D.M.J. (1984). Pheochromocytoma in a Przewalski horse. *The Journal of Zoo Animal Medicine* 15, 94-99.
- Robinson W. F., Robinson N. A. (2016). Cardiovascular system. In: Maxie M. G. (editor). *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Sixth edition, Elsevier, St. Louis, USA, p. 1-101.
- Toribio R.E. (2010). Disorders of specific body systems. In: Reed S.M., Bayly W.M., Sellon D.C. (editors). *Equine Internal Medicine*. Third edition, Elsevier, St. Louis, p. 1248-1310.
- Sabev S.P. (2014). Cardiac structures measurements by echocardiography in clinically healthy warmblood horses. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 17, 267-275.
- Snow D.H. (1979). Metabolic and physiological effects of adrenoreceptor agonists and antagonists in the horse. *Research in Veterinary Science* 27, 372-378.
- Tennent-Brown B.S., Wilkins P.A., Lindborg S., Russell G., Boston R.C. (2010). Sequential plasma lactate concentrations as prognostic indicators in adult equine emergencies. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24, 198-205.
- Tischler A.S., Powers J.F., Alroy J. (2004). Animal models of pheochromocytoma. *Histology and Histopathology* 19, 883-895.
- Toribio R.E. (2010). Disorders of specific body systems. In: Reed S.M., Bayly W.M., Sellon D.C. (editors). *Equine Internal Medicine*. Third edition, Elsevier, St. Louis, p. 1248-1310.
- Van Der Vekens N., Decloedt A., Sys S., Ven S., De Clercq D., van Loon G. (2015a). Evaluation of assays for troponin I in healthy horses and horses with cardiac disease. *The Veterinary Journal* 203, 97-102.
- Van der Vekens N., Decloedt A., Ven S., De Clercq D., van

- Loon G. (2015b). Cardiac Troponin I as compared to troponin T for the detection of myocardial damage in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29, 348-354.
- Van Der Vekens N., Decloedt A., De Clercq D., Ven S., Sys S., van Loon G. (2016). Atrial natriuretic peptide vs. N-terminal-pro-atrial natriuretic peptide for the detection of left atrial dilatation in horses. *Equine Veterinary Journal* 48, 15-20.
- Vanschandevijl K., Wilderjans H., van Loon G., Totte E., Nollet H., Deprez P. (2008). Pheochromocytoma in the horse: the use of ultrasound and laparoscopic removal to improve outcome. In: *Proceedings of the AVEF-congress 2008*, Paris, France.
- Ven S., Decloedt A., Van der Vekens N., De Clercq D., van Loon G. (2016). Assessing aortic regurgitation severity from 2D, M-mode and pulsed wave Doppler echocardiographic measurements in horses. *The Veterinary Journal* 210, 34-38.
- Wilson R.B., Holscher M.A., Kasselberg A.G., Jones M. (1986). Leu-enkephalin and somatostatin immunoreactivities in canine and equine pheochromocytomas. *Veterinary Pathology* 23, 96-98.
- Yovich J.V., Ducharme N.G. (1983). Ruptured pheochromocytoma in a mare with colic. *Journal of American Veterinary Medical Association* 183, 462-464.
- Yovich J.V., Horney F.D., Hardee G.E. (1984). Pheochromocytoma in the horse and measurement of norepinephrine levels in horses. *Canadian Veterinary Journal* 25, 21-25.

#### Uit het verleden

### 185 JAAR BELGISCHE MILITAIRE DIERGENEESKUNDIGE DIENST (1830-2015)

A. Van De Sompel, 2016  
Uitgave in eigen beheer

‘Van paardenmeester tot beschermer van de collectieve gezondheid. De ondertittel van dit recent verschenen werk geschreven door André Van De Sompel vat de evolutie van de veterinaire dienst bij het leger kernachtig samen. Niet enkel daarvan wordt een goede beschrijving gegeven, ook meerdere persoonlijkheden die hierin een rol speelden, komen aan bod. Dit werk (270 p.) vult een lacune in.

Het boek is verkrijgbaar aan € 12,00 bij afhaling, Kruisenstraat 70, 9270 Kalken of mits extra kost van € 3,70 om het werk te verzenden naar een bestemming in België. De betaling kan gebeuren op het rekeningnummer IBAN BE79 0630 3995 4133, André Van De Sompel, Kruisenstraat 70, 9270 Kalken, met vermelding ‘Boek Belgische Militaire Diergeneeskundige Dienst’. Voor eventuele correspondentie: Andre.van.de.sompel@telenet.be

## Waarschijnlijkheidsdiagnose van spontane hypothyreoïdie bij een volwassen kat

*Probable diagnosis of spontaneous hypothyroidism in an adult cat*

<sup>1</sup>H. De Bosschere, <sup>1</sup>E. Kindermans, <sup>2</sup>E. Buelens, <sup>2</sup>N. Gantois

<sup>1</sup>Medisch Labo Bruyland – Afdeling Diergeneeskunde, Meiweg 1, B-8500 Kortrijk, België

<sup>2</sup>Dierenartsenpraktijk VetriCure, Westkerkestraat 18, B-8480 Eernegem, België

hendrik.de.bosschere@bruyland.be

### SAMENVATTING

In deze casuïstiek wordt een waarschijnlijkheidsdiagnose beschreven van een zeldzame endocriene aandoening bij een kat. Een zeven jaar oude, gecastreerde Europese korthaar werd aangeboden met lethargie, partiële anorexie en postprandiale hypersalivatie sinds drie dagen. Een verminderde lichamelijke activiteit en een slechte vachtkwaliteit met verhoogde haaruitval waren sedert een halfjaar aanwezig. De waarschijnlijkheidsdiagnose van spontane, verworven hypothyreoïdie werd gesteld aan de hand van gedaalde serumconcentraties van het totale thyroxine (TT<sub>4</sub>)- en vrije thyroxine (fT<sub>4</sub>)- gehalte en de gunstige respons op een therapeutische behandeling. Niet-thyroidale aandoeningen werden uitgesloten. Bijna twee jaar later stelde de kat het nog steeds goed en was ze volledig vrij van symptomen.

### ABSTRACT

In this case report, a probable diagnosis of a rare endocrine condition in a cat is described. A seven-year-old, spayed domestic shorthair presented with lethargy, partial anorexia and postprandial hypersalivation. A decreased activity level and a poor quality haircoat with excessive hair loss had developed over the past six months. A probable diagnosis of acquired hypothyroidism was made after exclusion of non-thyroidal diseases, decreased serum TT<sub>4</sub> and serum fT<sub>4</sub> levels and a positive response to a therapeutic trial with levothyroxine. Nearly two years after the initial diagnosis, the cat was doing well and was completely free of symptoms.

### INLEIDING

Hypothyreoïdie is een endocriene aandoening die het gevolg is van een verstoorde productie en secretie van thyroxine (T<sub>4</sub>) en triiodothyronine (T<sub>3</sub>) door de schildklier. De oorzaak hiervan kan zich bevinden op elk niveau van de hypothalamo-hypofysaire as (Nelson, 2009; Scott-Moncrieff, 2010; Peterson, 2013). Literatuur over spontane primaire hypothyreoïdie bij de volwassen kat is erg zeldzaam. Slechts drie gevallen werden tot op heden uitvoerig beschreven (Rand et al., 1993; Blois et al., 2010; Galgano et al., 2014). In de voorliggende casuïstiek wordt een geval beschreven van een zeven jaar oude, gecastreerde Europese korthaar met progressief verergerende anorexie, lethargie en een doffe vacht met verhoogde epileerbaarheid. De symptomen, waarschijnlijkheidsdiagnose en de behandeling bij deze kat worden besproken en de literatuur over hypothyreoïdie bij de kat wordt belicht.

### CASUÏSTIEK

Een zeven jaar oude, gecastreerde Europese korthaar van 4,4kg werd aangeboden vanwege lethargie, partiële anorexie en postprandiale hypersalivatie sinds drie dagen. Een verminderde lichamelijke activiteit en een slechte vachtkwaliteit met verhoogde haaruitval waren sinds zes maanden aanwezig. Tijdens het consult maakte de kat een kalme, maar alerte indruk. De patiënt had een doffe vacht met een verhoogde epileerbaarheid en een toename van haarverlies, doch vertoonde geen zones van alopecie. Op het lichamelijke onderzoek werden een ademhalingsfrequentie van 40 per minuut en een hartfrequentie van 130 slagen per minuut met een regelmatig ritme vastgesteld. Er waren geen afwijkingen merkbaar op het circulatie- en respiratieonderzoek. De mucosae waren roze en de capillaire vullingstijd (CVT) was korter dan twee seconden. Het abdomen was soepel bij palpatie. De rectale temperatuur bedroeg 38°C. Bij de muil- en

keelinspectie werden geen abnormaliteiten gevonden. Na overleg met de eigenaar werd een symptomatische behandeling tegen nausea ingesteld (Cerenia®, maropitant, 1mg/kg, Zoetis, Zaventem, België). De patiënt werd twee dagen later terug aangeboden met klachten van complete anorexie. De kat maakte op dat moment een lethargische indruk. Op het klinisch onderzoek werden een ademhalingsfrequentie van 38 per minuut en een hartfrequentie van 140 slagen per minuut met een regelmatig ritme vastgesteld. Het circulatie- en respiratieonderzoek was normaal en het lichaamsgewicht bedroeg 4,3 kg. De mucosae waren roze en de CVT bedroeg minder dan twee seconden. Bij buikpalpatie werden er geen afwijkingen vastgesteld. Een rectale temperatuur van 38,3°C werd gemeten.

Er werd een bloedname ter hoogte van de Vena jugularis uitgevoerd en de patiënt werd gehospitaliseerd. Er werd een intraveneuze katheter (22 Gauge Terumo®, Leuven, België, Surflo I.V. Catheter) geplaatst in de rechter Vena cephalica. Infuustherapie met natriumchloride 0,9% (B. Braun Vet Care®, Tuttlingen, Duitsland) 1-2 ml/kg per uur I.V. werd

opgestart. Verder werd metoclopramide (Emepriid®, CEVA Santé Animale B.V. Naaldwijk, Nederland) 0,2 mg/kg I.V. tweemaal daags (BID) toegediend in afwachting van de bloedresultaten. Na het toedienen van een lokale verdoving (Lignocaïne HCL 2%, Kela, Kela®, Kela N.V., Hoogstraten, België), werd er een naso-oesofagale voedingssonde (Rusch PCV feeding tube, No.1) geplaatst. Via deze toedieningsweg werd Convalescence Support (Royal Canin, 20 g) viermaal daags (QID) toegediend. Het bloedonderzoek bracht milde leukocytose met neutrofilie en lymfopenie en trombocytopenie aan het licht (Tabel 1). Neutrofiële leukocytose kan ontstaan onder invloed van inflammatie, stress, corticosteroiden, inspanning en adrenaline (Willard en Tvedten, 2012). Bij deze kat werd ze toegeschreven aan stress. De trombocytopenie was het gevolg van plaatjesaggregatie (pseudotrombocytopenie). Verder waren er milde hyperglycemie, een milde daling van ureum, hypercholesterolemie en hypofosfatemie. De serumconcentratie van de totale T<sub>4</sub> (TT<sub>4</sub>) (Immulite 2000, KT4 canine Total T<sub>4</sub>) en vrije T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>) (Idexx, evenwichtsdiagnose RIA)) waren ver-

**Tabel 1. Resultaten van het hematologisch en biochemisch onderzoek.**

Hematologie			Referenties	Datum staalname
Erythrocyten	7,78	x 10 <sup>12</sup> /l	5,5 – 10,0	
Hemoglobine	7,7	mmol/l	5,5 – 9,9	
Hematocriet	334	ml/l	260 – 460	
MCV	43	fl	40 – 55	
MCH	10	fmol	8,00 – 10,6	
MCHC	23	mmol/l	18,6 – 23,6	
Leucocyten	15,90	x 10 <sup>9</sup> /l	5,5 – 15,5	
Neutrofielen	14,8	x 10 <sup>9</sup> /l	3,0 – 11,5	
Lymfocyten	0,5	x 10 <sup>9</sup> /l	1,2 – 5,6	
Monocyten	0,14	x 10 <sup>9</sup> /l	0 – 0,7	
Basofielen	0	x 10 <sup>9</sup> /l	0 – 0,1	
Eosinofielen	0,48	x 10 <sup>9</sup> /l	0,05 – 1,1	
Trombocyten	187	x 10 <sup>9</sup> /l	190 - 430	
Biochemie				
Totaal Proteïne	71,4	g/l	55,0 – 85,0	
albumine	32,1	g/l	29 – 41	
alfa 1	2,1	g/l	0,5 – 1,5	
alfa 2	17	g/l	9 – 15	
beta	9,8	g/l	7 – 11	
gamma	10,4	g/l	7 - 18	
Ureum	3,7	mmol/l	5,9 – 12,5	
Creatinine	94,59	µmol/l	70 – 130	
AST	34	U/l	<60	
ALT	46	U/l	37 - 75	
Bilirubine totaal	<2,57	µmol/l	2,5 – 3,5	
Bilirubine direct	<1,54	µmol/l	1,71 – 2,5	
Gamma GT	<3	U/l	0 – 8	
Alkalische Fosfatase	12	U/l	10 – 50	
Galzuren	13	µmol/l	<20	
Amylase	752	U/l	260 – 1040	
Lipase	12	U/l	<250	
Cholesterol	6,4	mmol/l	1,8 – 3,9	
Ca	2,22	mmol/l	1,8 – 3	
P	0,93	mmol/l	1,1 – 1,6	
Totaal thyroxine	8,8	nmol/l	12 - 52	15/07/15
Vrije thyroxine	8,4	pmol/l	12,87 – 51,48	20/07/15
Totaal thyroxine	32,6	nmol/l	12 - 52	18/08/15
Totaal thyroxine	37,5	nmol/l	12 - 52	12/02/16
Totaal thyroxine	36	nmol/l	12 – 52	18/02/17

laagd. De milde hyperglycemie werd vermoedelijk veroorzaakt door stress. Voor de gedaalde ureumconcentratie en de hypofosfatemie werd geen duidelijke verklaring gevonden. Aangezien feliene hypothyreoïdie een uiterst zeldzame aandoening is, moesten niet-schildkliergerelateerde aandoeningen en oorzaken van gedaalde T<sub>4</sub>-serumconcentraties uitgesloten worden.

Er werden geen afwijkingen gezien op de radiografieën van thorax en abdomen en op de abdominale echografie. Er werd geen antithyroïdale medicatie toegediend en er konden geen thyreotoxische stoffen in de nabije omgeving geïdentificeerd worden. De evolutie van de klinische klachten en hun aard, de afwezigheid van een niet-thyroïdale aandoening, de gedaalde serumconcentraties van TT<sub>4</sub> en fT<sub>4</sub> en de hypercholesterolemie ondersteunden de waarschijnlijkheidsdiagnose van spontane primaire hypothyreoïdie. Een testbehandeling met levothyroxine aan een dosering van 0,05 mg SID (Forthyron®, Eurovet Animal Health BV, Bladel, Nederland; 200 microgram, ¼ tablet), toegediend via een voedingssonde, werd ingesteld. Een duidelijke respons op therapie was reeds na 48 uur merkbaar. De patiënt was veel alerter en begon kleine hoeveelheden te eten. De infusetherapie werd na drie dagen stopgezet en thuis werd een orale therapie van levothyroxine opgestart. Bij controle na vier weken waren het activiteitsniveau en de eetlust van de kat volledig genormaliseerd. Op inspectie maakte het dier een kalme maar alerte indruk. De vacht was van een veel betere kwaliteit. De kat was wat bijgekomen en woog 4,65 kg. Op het lichamelijke onderzoek werden geen afwijkingen gevonden. Er werd een controlebloedname uitgevoerd om de therapie te evalueren. De serum TT<sub>4</sub>-concentratie bedroeg 32,6 nmol/L (ref. 12-52 nmol/L). De waarschijnlijkheidsdiagnose van hypothyreoïdie werd in dit geval ondersteund door een therapeutische trial. Bij controle op zes en twaalf maanden na het instellen van de behandeling stelde de kat het goed en werden er geen afwijkingen gevonden op het lichamelijke onderzoek. Het serum-TT<sub>4</sub>-gehalte bedroeg respectievelijk 37,5 nmol/L en 36,0 nmol/L (ref. 12-52 nmol/L). De therapie werd voortgezet en bijna twee jaar na de waarschijnlijkheidsdiagnose verkeerde de kat in goede gezondheid.

## DISCUSSIE

Feliene hypothyreoïdie is een uiterst zeldzame aandoening. De voornaamste oorzaken van primaire hypothyreoïdie bij de volwassen kat zijn (over)behandeling van hyperthyroïdie met radiojodium, chirurgische excisie van de schildklier en overdosering van antithyroïdale medicatie (Nelson, 2009; Scott-Moncrieff, 2010; Peterson, 2013). Daarnaast bestaat er een congenitale en een spontane, verworven vorm. De congenitale vorm zou vaker voorkomen dan de

spontane, verworven vorm en kan het gevolg zijn van een gestoorde biosynthese van de schildklierhormonen (dys-hormonogenese) en van dysgenese van de schildklier (Greco, 2006; Nelson, 2009; Quante et al., 2010; Bojanic et al., 2011). Recent werd een geval van congenitale, primaire hypothyreoïdie beschreven (van Bergen et al., 2016). De eigenlijke prevalentie van deze aangeboren aandoening zou hoger kunnen liggen dan wordt aangenomen omdat de kans bestaat dat dergelijke kittens sterven of geëuthanaseerd worden zonder of met de verkeerde diagnose (Lim et al., 2014). Van verworven hypothyreoïdie bij de volwassen kat zijn slechts drie gedocumenteerde gevallen beschreven (Rand et al., 1993; Blois et al., 2010; Galgano et al., 2014). Secundaire hypothyreoïdie is te wijten aan agenesie of beschadiging van de thyrotrofe cellen, bijvoorbeeld na koptrauma, in de hypofyse of aan een gestoorde secretie van thyrotropine (thyreoïd stimulerend hormoon (TSH)). In het geval van tertiaire hypothyreoïdie is er een deficiëntie in de secretie van het thyroliberine (“thyrotropin releasing hormone” (TRH)) ter hoogte van de hypothalamus. Deze laatste vorm is tot op heden niet beschreven bij de kat. Op primaire congenitale, secundaire en tertiaire hypothyreoïdie wordt hier verder niet ingegaan omdat deze vormen in het voorliggend geval onwaarschijnlijk waren.

Veel aandoeningen vertonen klinische gelijkenissen met hypothyreoïdie, zelfs bij het normaal functioneren van de schildklier. Verschillende extra-thyroïdale factoren, bijvoorbeeld niet-thyroïdale ziekte en het gebruik van bepaalde medicijnen) kunnen leiden tot een laag serum-thyroxinegehalte bij euthyroïde dieren. De diagnose van hypothyreoïdie vereist daarom een zorgvuldige beoordeling van de klinische symptomen en van de resultaten van de labotesten (Scott-Moncrieff, 2010). Omdat primaire hypothyreoïdie bij de kat zo zeldzaam is, is het erg belangrijk om patiënten grondig te screenen en op die manier de kans op valspositieve resultaten zo laag mogelijk te houden (Peterson, 2013).

Klinische symptomen van hypothyreoïdie bij de kat zijn lethargie, inactiviteit, obesitas, partiële tot volledige anorexie, dermatologische problemen, zoals niet-jeukende seborrea sicca, droge en doffe vacht, verhoogde epileerbaarheid van de haren, het slecht teruggroeien van de vacht, endocriene alopecie, alopecie van de oorschelpen, otitis externa, verdikte huid, myxoedeem van het aangezicht), milde hypothermie met mogelijk ook koude-intolerantie, bradycardie, constipatie en vruchtbaarheidsproblemen, zoals cyclusstoornissen en dystocie (Rand et al., 1993; Greco, 2006; Blois, 2009; Nelson, 2009). Lethargie en obesitas worden het vaakst gerapporteerd (Greco, 2006). Anorexie en lethargie kunnen erg uitgesproken zijn (Nelson, 2009). Obesitas wordt voornamelijk waargenomen bij katten met iatrogene hypothyreoïdie, maar niet altijd (Peterson, 1994; Nelson, 2009; Daminet, 2012). Het is vaak zo dat de eigenaar, on-

danks een progressief dalende eetlust, een duidelijke gewichtstoename opmerkt (Greco, 2006). Bilaterale, symmetrische alopecie ontwikkelt zich niet zoals bij de hond, maar focale alopecie ter hoogte van de cranio-laterale carpi, caudale hakken en dorsolateraal van de staartbasis wordt occasioneel beschreven (Peterson, 1994; Daminet, 2012). De tragische faciale expressie die soms gezien wordt bij hypothyreoïde katten is het gevolg van compressie van de Nervus facialis door myxoedeem (Schori en Greco, 2006). In het voorliggende geval waren de symptomen gerapporteerd door de eigenaar beperkt tot anorexie, lethargie evoluerend naar apathie en een afwijkende, doffe vacht met verhoogde haaruitval en epileerbaarheid. In de literatuur zijn drie gevallen bij katten beschreven: Rand et al. (1993) beschreven een geval van verworven primaire hypothyreoïdie bij een vijf jaar oude, vrouwelijke, gesteriliseerde Europese korthaar met apathie, obesitas, koude-intolerantie en een onverzorgde vacht van slechte kwaliteit. Blois et al. (2010) beschreven een geval van verworven primaire hypothyreoïdie bij een twaalf jaar oude, mannelijke, gecastreerde Europese korthaar met een slechte vachtkwaliteit, seborree, pruritus otitis externa en lethargie. Galgano et al. (2014) beschreven een geval van primaire hypothyroidie met goiter bij een vijf jaar oude, mannelijke, gecastreerde Europese korthaar met een gedaalde eetlust, gewichtstoename, lethargie, slechte kwaliteit van de vacht en otitis externa.

Op het hematologische en biochemische routine-onderzoek van katten met hypothyreoïdie kunnen verschillende afwijkingen gezien worden. Normocytair, normochrome, niet-regeneratieve anemie wordt waargenomen bij ongeveer 30% van de gevallen. Hypercholesterolemie, hypercalcemie, verhoogde creatininekinase activiteit, verhoogde triglyceriden, milde hyponatriëmie, verhoogde fructosamine en glucose-intolerantie en een gedaald TT<sub>4</sub> zijn afwijkingen die kunnen voorkomen op het biochemisch onderzoek (Schori en Greco, 2006; Greco, 2006; Nelson, 2009; Peterson, 2013; Galgano et al., 2014). Deze afwijkingen worden voornamelijk gezien bij katten met de iatrogene vorm van hypothyreoïdie. De afwijkingen op het hematologisch en biochemisch onderzoek bij de in de literatuur beschreven gevallen van verworven primaire hypothyreoïdie bij de volwassen kat zijn eerder specifiek.

De eigenlijke diagnose van feliene hypothyreoïdie is uiterst moeilijk wegens het gebrek aan sensitiviteit en specificiteit van zowel TT<sub>4</sub>, fT<sub>4</sub> en TSH (Peterson, 2013). De specificiteit van een verlaagde TT<sub>4</sub> schommelt slechts rond de 70% (Greco, 2006). Een verlaagde TT<sub>4</sub>-serumconcentratie bij de volwassen kat is in de meeste gevallen het gevolg van niet-thyroidale ziekte of van andere niet-schildkliergerelateerde factoren zoals de toediening van medicatie. Aandoeningen waarbij de schildklier niet betrokken is, kunnen de thyroïdale functietesten verstoren en worden gecatalogeerd onder niet-thyroidale

aandoeningen of “euthyroid sick syndrome” (Schori en Greco, 2006). “Euthyroid sick syndrome” wordt gekenmerkt door een normale schildklierfunctie ondanks een gedaalde TT<sub>4</sub>. Aandoeningen die een daling van TT<sub>4</sub> kunnen veroorzaken zijn onder andere diabetes mellitus, chronische nierziekte, leverfalen en infecties. Hoe ernstiger de aandoening, hoe lager de TT<sub>4</sub>-concentratie (Greco, 2006). Bij katten met lage TT<sub>4</sub>-spiegels kan een bepaling van fT<sub>4</sub> differentiëren tussen “euthyroid sick syndrome” en echte hypothyreoïdie (Schori en Greco, 2006). Vrij T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>), de ongebonden fractie van serum TT<sub>4</sub>, is biologisch actief. De meeste “single-stage solid phase” (analoge) commerciële assays voor fT<sub>4</sub> zijn niet beter dan de bepaling van totaal TT<sub>4</sub>, waarschijnlijk door verschillen in binding met serumeiwitten. Een methode die gebruik maakt van evenwichtsdiagnose (directe dialyse) heeft een betere accuraatheid. In vergelijking met de bepaling van TT<sub>4</sub> heeft een bepaling van fT<sub>4</sub> via evenwichtsdiagnose een grotere sensitiviteit en specificiteit (Greco, 2006; Peterson, 2013). Een nadeel van deze analyse is de beperkte beschikbaarheid en de kostprijs. Bovendien bleek uit een studie van Peterson et al. (2001) dat fT<sub>4</sub> gedaald was bij 17,2% van de katten met non-thyroidale ziekte, met een duidelijke correlatie met de ernst van de aandoening. Hoe erger de ziekte, hoe lager de fT<sub>4</sub>. De fT<sub>4</sub>-bepaling is dus niet geschikt om alleen te gebruiken. De resultaten dienen altijd samen met TT<sub>4</sub> en TSH geïnterpreteerd te worden (Peterson, 2013). Ook medicatie, zoals fenobarbital, diazepam, trim-sulfa en corticoïden, kan zorgen voor een daling van TT<sub>4</sub>. Het effect op fT<sub>4</sub> en TSH is variabel (Greco, 2006). Een specifieke, feliene TSH-assay is niet beschikbaar, maar de caniene TSH-assay kan gebruikt worden (Schori en Greco, 2006; Nelson en Couto, 2009; Peterson, 2013; Galgano, 2014). Een stijging van de serumconcentratie van TSH is te verwachten bij dieren met primaire hypothyreoïdie (iatrogeen en spontaan), gezien het werkingsmechanisme van de thyroliberine-thyrotropine-as (Galgano et al., 2014). Bij de hond zijn de TSH-waarden bij 13% tot 37% van de dieren met hypothyreoïdie normaal. Bemerkingen betreffende het gebruik van deze test zijn dat het geen feliene TSH-test is; er zijn geen feliene referentiewaarden, er is een beperkte ondergrens van de metingen met de caniene test. Bij de behandeling van hyperthyreoïdie wordt regelmatig een gestegen TSH-waarde gezien samen met normale TT<sub>4</sub>- en fT<sub>4</sub>-waarden. Hoe dit komt is nog niet bekend. Het zou om een artefact kunnen gaan maar het zou ook kunnen dat die dieren subklinisch hypothyroïde zijn als gevolg van de behandeling. Bij katten die behandeld worden voor hypothyreoïdie, blijft de TSH-waarde soms hoog, ondanks een hoge tot normale TT<sub>4</sub>-concentratie en resolutie van de symptomen (Peterson, 2013). Ook TSH-bepalingen mogen nooit alleen beoordeeld worden maar altijd in functie van de klinische symptomen, het routine-laboratoriumonderzoek en de TT<sub>4</sub>- en fT<sub>4</sub>-concentraties. In sommige

gevallen van het “euthyroid sick syndrome” kunnen de TT<sub>4</sub>-waarde verlaagd en de TSH-waarde verhoogd zijn zonder dat hypothyreoïdie een rol speelt. De bepaling van fT<sub>4</sub> is bij dergelijke gevallen van groot belang om niet verkeerdelijk de diagnose van primaire hypothyreoïdie te stellen (Greco, 2006).

Bij een kat, waarbij een verlaagde TT<sub>4</sub>-serumconcentratie niet toegeschreven kan worden aan oorzaken buiten de schildklier gelegen, dienen de fT<sub>4</sub>- en TSH-waarden bepaald te worden (Peterson, 2013; Galgano et al., 2014). Dit is zeker het geval voor katten met een voorgeschiedenis van anti-thyroidale medicatie, thyroïdectomie of therapie met radiojodium. Bij een dier met het vermoeden van hypothyreoïdie, dienen de TT<sub>4</sub>-, T<sub>3</sub>-, fT<sub>4</sub>- en TSH-waarden bepaald te worden (Peterson, 2013). Als minstens drie van de vier parameters afwijkend zijn, is de diagnose van hypothyreoïdie waarschijnlijk. Een TSH-stimulatietest en/of scintigrafie van de schildklier moeten, als dit tot de mogelijkheden behoort, uitgevoerd worden ter confirmatie van het vermoeden (Blois et al., 2009; Peterson, 2013). Een andere mogelijkheid om de diagnose te bevestigen is een therapeutische trial met levothyroxine (Rand et al., 1993; Nelson, 2009).

Bij de drie gevallen beschreven in de literatuur was de TT<sub>4</sub> gedaald (Rand et al., 1993; Blois et al., 2010; Galgano et al., 2014). Bijkomstig werd bij twee van deze dieren de diagnose gesteld aan de hand van een gedaalde fT<sub>4</sub>, een verhoogde TSH en bijkomende onderzoeken (Blois et al., 2010; Galgano et al., 2014). Bij het geval van Rand et al. (1993) werd bijkomstig een TSH-stimulatietest uitgevoerd. De kat in die casuïstiek had hypercholesterolemie en gedaalde TT<sub>4</sub> en fT<sub>4</sub>-waarden. Er werd geen T<sub>3</sub>- en TSH-bepaling uitgevoerd en bijkomende onderzoeken om het vermoeden van hypothyreoïdie te bevestigen behoorden niet tot de mogelijkheden. Aangezien er geen andere aandoeningen werden vastgesteld die het gedaalde TT<sub>4</sub>-gehalte konden verklaren en de kat in kritieke toestand verkeerde, werd besloten een therapeutische trial uit te voeren. Net zoals bij de drie andere in de literatuur beschreven gevallen was er een snelle en duidelijke respons op de therapie. In die drie gevallen werd de diagnose ook bevestigd. In de voorliggende casus wordt echter een waarschijnlijkheidsdiagnose beschreven.

De behandeling van verworven primaire hypothyreoïdie – en bij uitbreiding ook de andere vormen van hypothyreoïdie bij de kat – bestaat uit het toedienen van synthetisch levothyroxine (Forthyron®, Eurovet Animal Health BV, Bladel, Nederland) per os (Nelson, 2009; Scott-Moncrieff, 2010). De aanbevolen startdosis ligt tussen 0,05 – 0,1 mg per kat één- tot tweemaal daags (Nelson, 2009; Scott-Moncrieff, 2010; Peterson, 2013). De dosis is hoger dan deze die gewoonlijk bij honden wordt gebruikt, omdat katten het hormoon sneller metaboliseren en minder goed absorberen dan honden. Toediening op een lege maag wordt aanbevolen (Peterson, 2013; Garcia, 2015).

Objectieve criteria worden gebruikt om de respons op behandeling te beoordelen. In de regel zijn de patiënten binnen de week alerter en actiever. Veranderingen van de vacht en het lichaamsgewicht kunnen pas beoordeeld worden na één tot twee maanden therapie. De serum-TT<sub>4</sub>-waarden worden vier uur na het toedienen van de medicatie bepaald en nadat het dier minstens vier weken behandeld werd (Nelson, 2009; Scott-Moncrieff, 2010; Peterson, 2013). Op dat moment moet de TT<sub>4</sub>-waarde in de middennormale range zitten (Scott-Moncrieff, 2010; Peterson, 2013). Wegens gebrek aan specifieke studies bij katten wordt aangeraden om de therapeutische monitoring en de dosisaanpassingen uit te voeren zoals bij de hond (Scott-Moncrieff, 2010). De startdosis in het voorliggend geval bedroeg 0,05 mg levothyroxine SID. De spectaculaire klinische verbetering, die binnen de week optrad, werd hieraan toegeschreven. Bij controle, vier weken na het instellen van de behandeling bedroeg de TT<sub>4</sub>-concentratie 32,6 nmol/L (ref. 12-52 nmol/L). Op dat moment had de kat terug een volledig normaal activiteitsniveau en was de vacht van een veel betere kwaliteit. De dosis van 0,05 mg levothyroxine SID werd aangehouden. Een halfjaar en een jaar na de start van de therapie was het TT<sub>4</sub>-gehalte respectievelijk 37,5 nmol/L en 36,0 nmol/L (ref. 12-52 nmol/L). Dezelfde dosis werd verder aangehouden en de kat deed het twee jaar later nog altijd goed.

Omdat verworven primaire hypothyreoïdie een uiterst zeldzame aandoening is bij katten en omdat andere niet-thyroidale ziekten een gelijkaardig klinisch beeld kunnen geven is het van heel groot belang de respons op therapie kritisch en zo objectief mogelijk te beoordelen. Is er sprake van een snelle verbetering van de symptomen en valt de TT<sub>4</sub>-concentratie binnen de normale range, dan is de diagnose van hypothyreoïdie als correct te beschouwen. Bij een gedeeltelijke verbetering van de klachten en een lage TT<sub>4</sub> in combinatie met een hoge TSH, moet de dosis levothyroxine verhoogd worden en de patiënt vier weken later opnieuw geëvalueerd worden. Bij een goede respons op behandeling en een TT<sub>4</sub>-waarde die normaal is of verhoogd, moet de dosis verminderd worden en het dier na vier weken opnieuw beoordeeld worden. Is er geen verbetering van de klachten en is de TT<sub>4</sub> hoognormaal of verhoogd, dan is de diagnose van hypothyreoïdie waarschijnlijk niet correct, ervan uitgaand dat alle niet-thyroidale oorzaken van het ziektebeeld uitgesloten zijn of behandeld werden en de toediening correct gebeurde. Wordt het dier niet beter en is de TT<sub>4</sub>-concentratie te laag en de TSH-concentratie verhoogd, dan moet de dosis levothyroxine opgedreven worden en wordt er een controle aangeraden na acht weken (Scott-Moncrieff, 2010). Als de respons op behandeling positief is, dan moeten bij het stoppen van de therapie de klinische symptomen terugkeren (Peterson, 2016).

Dan is er nog de grote valkuil van het “sick euthyroid syndrome”. In de voorliggende casus is het



mogelijk dat de oorzaak van de klachten buiten de schildklier gelegen was, en dat deze spontaan is opgelost geraakt, waardoor ook de symptomen verdwenen waren. Echter, gezien de ernst van de symptomen en de kritieke toestand waarin de kat zich bevond, lijkt dit eerder onwaarschijnlijk. Dit kan echter niet als diag-notisch criterium gebruikt worden. Binnen de mogelijkheden van de eigenaar en de praktijk waar de patiënt behandeld werd, werd wel gezocht naar mogelijke oorzaken van het “sick euthyroid syndrome”, maar er werden geen oorzaken gevonden.

## CONCLUSIE

In deze casuïstiek wordt een waarschijnlijkheidsdiagnose beschreven van hypothyreoïdie bij een volwassen kat. Belangrijke stappen in de diagnosestelling werden niet uitgevoerd, zoals een bepaling van T<sub>3</sub> en TSH. Verder zou het aangewezen geweest zijn de waarschijnlijkheidsdiagnose te controleren met scintigrafie van de schildklier en/of een TSH-stimulatiest. De symptomen, het progressieve verloop, de resultaten van het bloedonderzoek en de respons op de therapie waren echter wel suggestief voor een correcte waarschijnlijkheidsdiagnose.

## REFERENTIES

- Blois S. L., Abrams-Ogg A. C., Mitchell C., Yu A., Stoewen D., Lillie B. N., Kiupel M. (2010). Use of thyroid scintigraphy and pituitary immunohistochemistry in the diagnosis of spontaneous hypothyroidism in a mature cat. *Journal of Feline Medical Surgery* 12, 156-160.
- Daminet S. (2012). Feline hypothyroidism. In: Mooney C. T., Peterson M. E., editors. *British Small Animal Veterinary Association, Manual of Canine and Feline Endocrinology*. Fourth edition. Quedgeley, Gloucester, p. 111 – 115.
- Galgano M., Spalla I., Callegari C., Patruno M., Auriemma E., Zanna G., Ferro S., Zini E. (2014). Primary hypothyroidism and thyroid goiter in an adult cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28, 682-686.
- Garcia J. L. (2015). <http://veterinarymedicine.dvm360.com/hypothyroidism-cats-how-it-diagnosed-and-treated>, Jun 16, 2015.
- Greco D. S. (2006). Diagnosis of congenital and adult-onset hypothyroidism in cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 21, 40-44. Elsevier Saunders.
- Medlau L., Hnilica K. A. (2006). *Small Animal Dermatology. A Color Atlas and Therapeutic Guide*. Saunders Elsevier, Missouri, p. 264.
- Nelson R. W. (2009). Disorders of the thyroid gland. In: Nelson R. W., Couto C. G. (editors). *Small Animal Internal Medicine*. Fourth edition, Mosby Elsevier, St. Louis, Missouri, p. 724-745.
- Peterson M. E., Randolph J. F., Mooney C. T. (1994). Endocrine diseases. In: Sherding R. G., (editor). *The Cat: Diseases and Clinical Management*. Second edition, New York, Churchill Livingstone, p. 1403.
- Peterson M.E., Melian C., Nichols R. (2001). Measurement of serum concentrations of free thyroxine, total thyroxine and triiodothyronine in cats with hyperthyroidism and cats with nonthyroidal disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218, 529-536.
- Peterson M. E. (2013). Diagnostic testing of feline thyroid disease: hypothyroidism. In: *Compendium on Continuing Education for Veterinarians*. Feline Focus, Vetlearn.com, E1-E6.
- Peterson M. E. (2016). [http://www.merckvetmanual.com/mvm/endocrine\\_system/the\\_thyroid\\_gland/hypothyroidism.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/endocrine_system/the_thyroid_gland/hypothyroidism.html). Last full review/revision August 2013 by Mark E. Peterson, DVM, DACVIM
- Rand J. S., Levine J. Best S. J., Parker W. (1993). Spontaneous adult-onset hypothyroidism in a cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 7, 272 – 276.
- Schori J. L., Greco D. S. (2006). Diagnosis of congenital and adult-onset hypothyroidism in cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 21, 40-46.
- Scott-Moncrieff J.C.R. (2010). Hypothyroidism. In: Ettinger S. J., Feldman E.C. (editors). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Seventh Edition, volume 2, Saunders/Elsevier, St. Louis, Missouri, p. 1751-1761.
- Thompson M. S. (2007). *Small Animal Medical Differential Diagnosis. A Book of Lists*. Saunders Elsevier, Missouri, p. 248.
- van Bergen L, Bassez I, Junius G., Vandermeulen E. (2016). Congenital primary hypothyroidism in a cat. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 85, 349-354.
- Willard M. D., Tvedten H. (2012). *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. Elsevier Saunders, Missouri, pp. 66-67, 148, 162, 166, 171.

## Biomechanische aspecten met betrekking tot hoefbeslag bij paarden

### *Biomechanical aspects of farriery in horses*

M. Oosterlinck, M. Dumoulin, E. Van de Water, F. Pille

Vakgroep Heelkunde en Anesthesie van de Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Maarten.Oosterlinck@UGent.be

## SAMENVATTING

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de huidige biomechanische inzichten die nuttige aanwijzingen kunnen verschaffen voor “evidence-based” keuzes omtrent het bekappen en/of het aanbrengen van hoefbeslag in de behandeling van kreupelheid bij het paard. De nadruk wordt gelegd op een optimale hoefbalans, de absorptie van schokken, de gepaste mate van grip/afremmen versus glijden, optimale drukverdeling binnen de hoef, en het bevorderen van “breakover”. Ook met het hoefmechanisme moet rekening gehouden worden. Ideaal gezien worden de meeste van deze principes reeds gecombineerd in de preventie van letsels.

## ABSTRACT

In this paper, the current biomechanical concepts that are important for the evidence-based application of trimming and shoeing techniques in the treatment of lameness in horses are reviewed. Hoof balance, shock absorption, grip versus sliding of the hoof, the pressure distribution within the hoof and hoof breakover are discussed. Moreover, possible effects on the hoof mechanism should be taken into account. Ideally, these issues should be considered in the prevention of injury rather than in the treatment of established pathology.

## INLEIDING

Het onderzoek en de behandeling van kreupelheid vormen van oudsher een van de belangrijkste taken van dierenartsen. Voor talloze problemen aan het bewegingsstelsel van het paard zijn er verschillende medicamenteuze en chirurgische behandelingen beschreven. Het mogelijke therapeutische belang van het bekappen van hoeven en het aanbrengen van een aangepast hoefbeslag wordt echter nog vaak onderschat. Gezien het verband tussen de uitwendige vorm van het hoefkapsel en de functionele belasting van inwendige structuren, is het de bedoeling om met het bekappen en het eventuele aanbrengen van hoefbeslag de functie van de hoef en de belasting op anatomische structuren te optimaliseren. Dit kan bijdragen tot de preventie van letsels op bepaalde predilectieplaatsen, maar kan ook nuttig zijn in de behandeling van een reeds bestaande pathologie.

Gedurende eeuwen was hoefsmederij een ambacht gebaseerd op tradities, persoonlijke ervaring en empirische gegevens (Eliashar, 2007). De laatste jaren wordt er echter meer en meer onderzoek uitgevoerd

omtrent de biomechanica van de hoef en de beweging van het paard en geleidelijk komt er wetenschappelijk onderbouwde informatie over specifieke technieken voor het bekappen of beslaan van hoeven ter beschikking. Er kan dan ook verondersteld worden dat de technologische vooruitgang uiteindelijk de paardendierenarts en hoefsmid zal kunnen voorzien van objectieve en kwantitatieve meetinstrumenten die routinematig gebruikt kunnen worden om de beweging van het paard en technieken uit de hoefsmederij te beoordelen (Roepstorff, 2012). In dit opzicht biedt bijvoorbeeld een drukplaat met een hoge dichtheid aan sensoren en een hoge meetfrequentie unieke perspectieven om de symmetrie van de belasting van de ledematen te beoordelen, het contactoppervlak van de hoef met de bodem te beoordelen, de drukverdeling onder de hoef te bestuderen en om de teen-heel en mediolaterale hoefbalans van de verticale kracht te analyseren, zelfs op een zandbodem (Oosterlinck et al., 2010; 2011; 2012; 2013; 2014; Oomen et al., 2012). Dit biedt mogelijkheden om subtiele afwijkingen in hoefbalans op te sporen bij paarden met een abnormale hoefconformatie (Oosterlinck et al., 2015).

## BIOMECHANICA

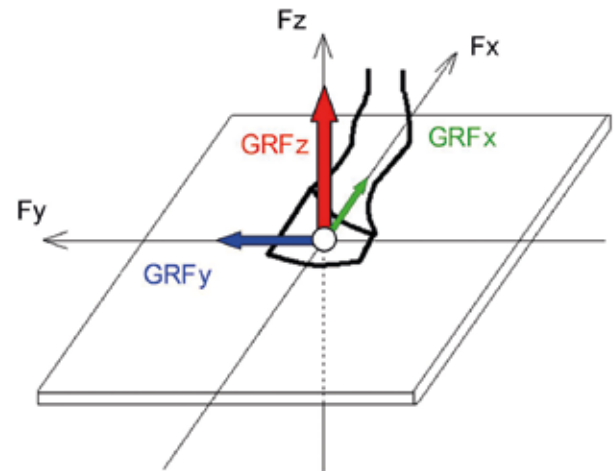
Inzicht in de belasting van de ledematen en de hoef-bodeminteractie is van fundamenteel belang om een gefundeerde keuze te maken tussen de verschillende technieken qua bekappen van hoeven en hoefbeslag. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de biomechanische aspecten van hoefbelasting. De kracht die een hoef op de bodem uitoefent gedurende de steunfase, kan onderverdeeld worden in drie componenten: in verticale richting ( $F_z$ ), in craniocaudale richting ( $F_y$ ) en in mediolaterale richting ( $F_x$ ) (Oosterlinck et al., 2007) (Figuur 1). De totale duur van de steunfase is ongeveer 700-800 ms in stap en 300-400 ms in draf. De verticale kracht heeft de grootste amplitude. Ter hoogte van het voorbeen bedraagt ze ongeveer 60% van het lichaamsgewicht in stap, 90% van het lichaamsgewicht in draf aan lage snelheid en zelfs meer wanneer de snelheid toeneemt of bijvoorbeeld tijdens het springen of landen. In stap vertoont de verticale kracht meestal een bifasisch verloop, waarbij ter hoogte van het voorbeen de tweede piek meestal een hogere amplitude vertoont dan de eerste piek en vice versa in het achterbeen (Figuur 2A). In draf wordt een eerste piek gezien na impact gevolgd door een geleidelijke stijging tot een maximum halverwege de steunfase en tenslotte een geleidelijke daling tot het einde van de steunfase (Figuur 2B). De craniocaudale kracht is initieel een remmende kracht, grafisch weergegeven door het gedeelte van de curve dat zich onder de horizontale as bevindt. In het tweede deel van de steunfase wordt deze kracht voortstuwend, geïllustreerd door het gedeelte van de curve dat zich boven de horizontale as bevindt. De mediolaterale kracht heeft een zeer kleine amplitude en vertoont een vrij grote interindividuele variatie.

De steunfase kan onderverdeeld worden in verscheidene fasen met sterk verschillende biomechanische kenmerken (Thomason en Peterson, 2008; Back en Pille, 2013):

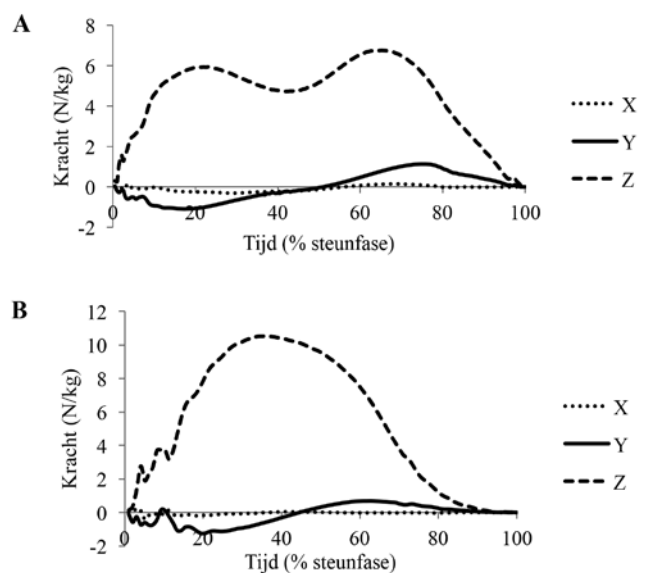
1. De impactfase vertegenwoordigt het initiële contact van de hoef met de bodem, gewoonlijk met de laterale hiel; dit valt niet met het blote oog waar te nemen. Deze eerste fase kan onderverdeeld worden in een primaire impactfase, waarmee het allereerste contact met de bodem bedoeld wordt. Dit wordt gekenmerkt door een enorme afremmende kracht in verticale richting (tot 400 g) (Gustas et al., 2006) en daaropvolgende uitgesproken vibraties maar lage krachten die inwerken op het lidmaat. Vervolgens wordt de secundaire impactfase onderscheiden, waarbij de verticale kracht toeneemt terwijl de hoef in horizontale richting afgeremd wordt (tot 200 g) (Gustas et al., 2006) totdat ze stevig op de bodem staat.

2. Gedurende het middelste deel van de steunfase bereikt de verticale kracht een maximum (tot 2,5 keer het lichaamsgewicht).

3. Uiteindelijk neemt de verticale kracht geleidelijk af. Wanneer de hiel de bodem verlaten, begint



**Figuur 1.** Krachten die door een hoef uitgeoefend worden op de bodem. De zogenaamde grondreactiekracht (“ground reaction force” (GRF)) wordt onderverdeeld in drie orthogonale componenten ( $F_x$ ,  $F_y$ ,  $F_z$ ) (Oosterlinck et al., 2007).

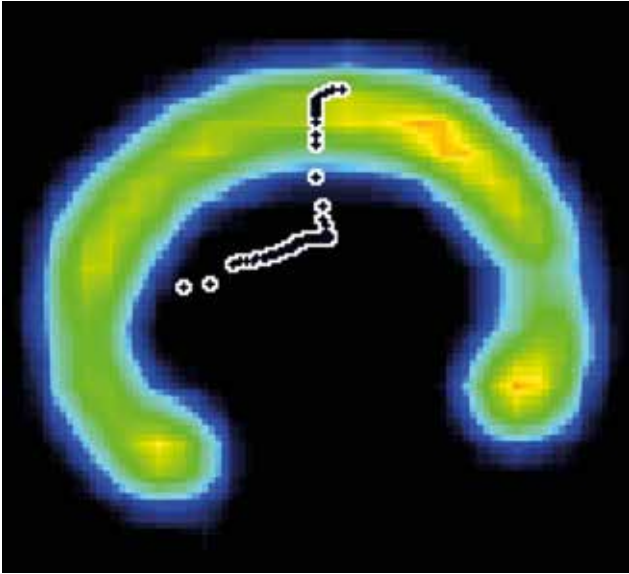


**Figuur 2.** De mediolaterale (X), craniocaudale (Y) en verticale (Z) componenten van de grondreactiekracht (GRF; N/kg) van het voorbeen in functie van de tijd (% steunfase) A. in stap en B. in draf.

de zogenaamde “breakover”-fase, resulterend in een voorwaartse rotatie van de hoef.

Door de verdeling van de lichaamsmassa over het lichaam van het paard zijn de uitgeoefende verticale krachten ter hoogte van de voorbenen groter dan ter hoogte van de achterbenen. Bovendien worden de voorbenen met een hogere verticale snelheid neergezet terwijl de achterbenen met een hogere horizontale snelheid bewegen; voorbenen vertonen een eerder ‘stuitende’ beweging terwijl achterbenen eerder ‘glijdend’ bewegen (Back et al., 1995).

Alle krachten die optreden tussen de hoef en de bodem kunnen samengevat worden in één enkele



**Figuur 3.** Linkervoorhoef van een pony in stap op een 2m-drukplaat (RSscan International, Paal, België). De uitgeoefende druk wordt weergegeven volgens een kleurcode (blauw: lage druk, rood: hoge druk) en het verloop van het drukcentrum (“center of pressure”) wordt weergegeven door de zwarte kruisjes.

vector. Het aangrijpingspunt van deze vector is het zogenaamde drukcentrum (“center of pressure”). Dit drukcentrum bevindt zich initieel ter hoogte van het eerste contact tussen de hoef en de bodem, maar beweegt vervolgens snel naar het centrum van de hoef, waar het gedurende het grootste deel van de steunfase blijft, alvorens finaal in de richting van de teen op te schuiven (Figuur 3).

Willemen et al. (1999) toonden aan dat een standaard, vlak hoefbeslag resulteert in 14% hogere krachten ter hoogte van het straalbeen dan onbeslagen hoeven. Het louter aanbrengen van een standaard beslag impliceert dus reeds een belangrijke biomechanische verandering die weloverwogen dient te gebeuren.

Wilson et al. (1998) hebben aangetoond dat het gebruik van een wigje onder een hoef voor een verschuiving van het drukcentrum in de richting van de ophoging zorgt. Op gelijkaardige wijze werd aangetoond dat bij toepassing van een “egg-bar”-ijzer het drukcentrum naar de palmaire zijde van de hoef verschuift (Rogers en Back, 2007). Bovendien beïnvloeden hoefwiggen en egg-bar-ijzers de hoeken ter hoogte van de gewrichten van het distale deel van het lidmaat (Degueurce et al., 2001; Chateau et al., 2004, 2006a, 2006b). Daarnaast is er ook een effect op de krachten die inwerken op de buigpees: een verhoging ter hoogte van de hielen zorgt voor een daling van de spanning in de diepe buigpees, terwijl een verhoging ter hoogte van de teen (of een verlaging van de hielhoogte) een stijging in de spanning van de diepe buigpees bewerkstelligt; omgekeerde effecten worden waargenomen in de oppervlakkige buigpees en de m. interosseus medius (Lawson et al., 2007).

Het is belangrijk om te beseffen dat het drukcentrum een dynamisch concept is en dat de evaluatie van eender welke manier van bekappen of beslag niet beperkt mag worden tot een statische beoordeling. Een tweede belangrijke opmerking is dat vele wetenschappelijke studies beperkt zijn tot het evalueren van hoefbeslag op een harde bodem, in tegenstelling tot de zachte, veerkrachtige, vervormbare bodem waar



**Figuur 4A.** Figuur van het distale deel van het lidmaat (zijdelings bekeken) met een onbeslagen hoef. **B.** Een standaard hoefbeslag induceert geen veranderingen in de spanning van de m. interosseus medius, diepe buigpees en oppervlakkige buigpees. **C.** Bij een verhoging van de hielen of het verhinderen van het wegzakken van de hielen ten opzichte van de teen door middel van een egg-bar wordt een hogere spanning in de oppervlakkige buigpees en m. interosseus medius waargenomen (rood), terwijl de spanning op de diepe buigpees daalt (groen). **D.** Bij een verhoging ter hoogte van de teen of het verhinderen van het wegzakken van de teen ten opzichte van de hielen door middel van een bredere teen en smallere takken wordt echter een hogere spanning in de diepe buigpees gezien (rood), terwijl de m. interosseus medius en de oppervlakkige buigpees minder te verwerken krijgen (groen). (Beeldmateriaal uit Hoofexplorer.com met toestemming van Effigos AG, Deutscher Platz 4, 04103 Leipzig, Duitsland).



**Figuur 5.** Zijaanzicht van hoeven met ondergeschoven verzenen, een lange teen en een uitgesproken achterwaarts gebroken hoefkootas.

paarden meestal op gebruikt worden. Het gebruik van een vervormbare bodem heeft belangrijke consequenties (Hagen et al., 2016; Hüppler et al., 2016; Hagen et al., 2017). Zo kunnen egg-bar-ijzers bijvoorbeeld het wegzakken van de hielen in een zandbodem beperken (Chateau et al., 2006a) en aldus het biomechanisch effect nabootsen dat een hielwig op een harde bodem zou hebben. Een belangrijk nadeel van een hielwig is dat dit op lange termijn resulteert in progressieve vervorming van de hielen, wat men probeert te vermijden met een kunststoffen zooltje en opvulling van de ruimte tussen de hoef en het zooltje met siliconen. Een hoefijzer met een bredere teen en smallere takken kan op zijn beurt het wegzakken van de teen in een zachte bodem beperken of aldus het biomechanisch effect nabootsen dat een verlaging van de hielhoogte zou veroorzaken (Figuur 4).

De beoordeling van de hoefbalans is essentieel tijdens het kreupelheidsonderzoek. Het begrip hoefbalans omvat niet alleen de statische, structurele geometrie van de hoef, maar ook de dynamische interactie tussen de hoef en de bodem (Parks, 2003; Johnston en Back, 2006). Hoefbalans en hoefconformatie zijn geen synoniemen maar zijn wel nauw met elkaar verbonden, aangezien een slechte hoefconformatie kan leiden tot een gebrekkige hoefbalans en een slechte hoefbalans ervoor kan zorgen dat een paard een abnormale stand aanneemt, net alsof het een slechte conformatie heeft (Parks, 2011a). Conformatie kan strikt genomen niet meer veranderen zodra het skelet volgroeid is, maar de vorm van het hoefkapsel kan veranderen in functie van de belasting, waardoor finaal de hoefbalans gewijzigd wordt (Parks, 2003). De bespreking van de mogelijkheden tot correctie van conformatiegebreken die bij veulens aangetroffen worden, zoals valgus- en varusdeviaties (Martens et al., 2008), valt buiten het bestek van dit artikel.

De hoefbalans wordt traditioneel geëvalueerd door middel van een visuele beoordeling van de hoef in stilstand en in beweging, zowel in zijdelingse als in voor-achterwaartse richting. Zijdelingse hoefbalans

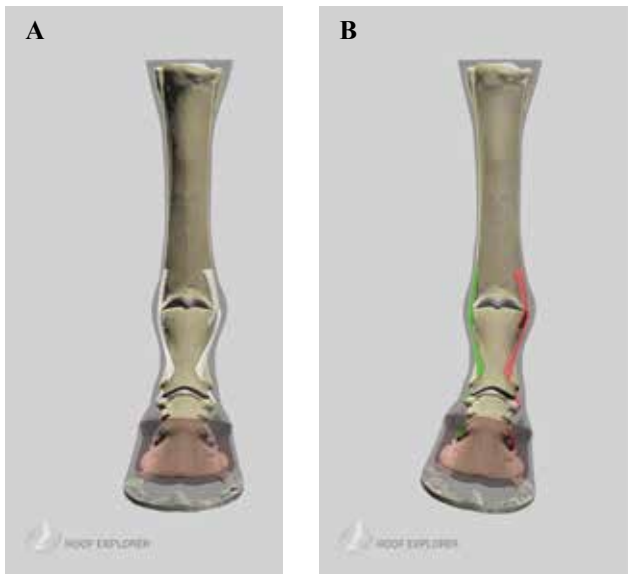


**Figuur 6.** Zijaanzicht van sterk asymmetrische voorhoeven met een voorwaarts gebroken hoefkootas en hoge hielen ter hoogte van de linkerhoef.

verwijst naar het verband tussen de mediale en laterale zijde van de hoef en naar het landings- en afrolpatroon van het mediale en laterale deel van de hoef. Voor-achterwaartse hoefbalans verwijst naar de hoek die de hoef maakt met de bodem, de verhouding tussen de teen- en de hielhoek en het landings- en afrolpatroon van de teen en hielregio. Een rechte hoefkootas veroorzaakt het minste stress voor de hoef en de inwendige structuren. Een achter- of voorwaarts gebroken hoefkoot-as heeft rechtstreekse gevolgen voor de weke delen (voornamelijk de buigpezen), maar kan ook het skelet, de gewrichten en zelfs het hoefkapsel beïnvloeden (Figuur 5 en 6).

Problemen met de zijdelingse hoefbalans veroorzaken compressie aan één kant van de interfalangeale gewrichten (Chateau et al., 2002), wat uiteindelijk kraakbeendegeneratie of beschadiging van het subchondrale bot in de hand kan werken. Daarnaast kan een afwijking van de mediolaterale hoefbalans resulteren in een progressieve vervorming van het hoornkapsel, zoals bijvoorbeeld een opgeschoven kroonrand of zogenaamde “sheared heels”, en zelfs hoornscheuren. Wanneer een hoef visueel lijkt te landen op de laterale zijde, is het van groot belang om de hoogte van het mediale en laterale deel van de hoefwand te beoordelen. In dergelijke gevallen wordt meestal verkortdient te worden om een visueel vlakke landing te verkrijgen (Stashak et al., 2002). Met betrekking tot de voor-achterwaartse hoefbalans werd aangetoond dat een periode van acht weken tussen twee bekapsessies bij normale paarden resulteert in een significante stijging van het krachtmoment ter hoogte van het hoefgewricht (Moleman et al., 2006).

Het bekappen heeft als doel de hefboomwerking te verminderen en de zijdelingse en voor-achterwaartse hoefbalans te optimaliseren. In het geval van valgus- of varusdeformaties is het mogelijk om naast het correctief bekappen ook respectievelijk mediale of laterale extensies aan te brengen, maar overdreven aanpassingen moeten vermeden worden. Grote afwij-



**Figuur 7A.** Distale deel van het lidmaat in voor-achterwaartse richting bekeken. **B.** Door het wegzakken van één zijde van de hoof te bevorderen door middel van een smallere tak van het hoefijzer, kan compressie ter hoogte van beschadigd kraakbeen of subchondraal bot aan die zijde verminderd worden. Tegelijkertijd kan het beperken van het wegzakken van de andere zijde van de hoof door middel van een bredere tak van het hoefijzer aangewezen zijn om spanning op ligamenten aan die zijde te beperken. (Beeldmateriaal uit Hoofexplorer.com met toestemming van Effigis AG, Deutscher Platz 4, 04103 Leipzig, Duitsland).

kingen in de hoefbalans worden het beste geleidelijk gecorrigeerd. Het correctief bekappen is van fundamenteel belang vooraleer eender welk type hoefijzer geplaatst wordt; het aanbrengen van hoefbeslag zonder voldoende aandacht te geven aan het bekappen is een gemiste kans (Parks, 2011b). Het breedste deel van het zooloppervlak van de hoof benadert het rotatiecentrum van het hoefgewricht. Op basis van dergelijke uitwendige kenmerken werden richtlijnen beschreven voor het bekappen en aanbrengen van hoefbeslag (O'Grady, 2009).

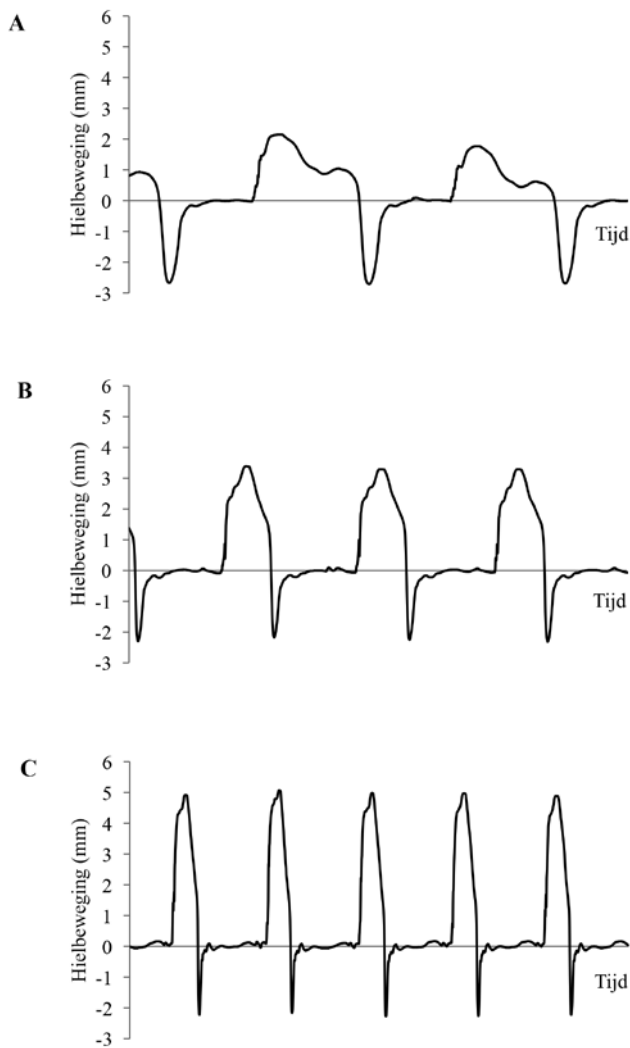
De hoefbalans heeft een direct effect op de intra-articulare drukverdeling, waarbij een optimale hoefbalans resulteert in het grootste contactoppervlak tussen de gewrichtsvlakken in het hoefgewricht en bijgevolg ook in de laagste druk in dit gewricht (Viitanen et al., 2003). Op basis van grondig klinisch onderzoek en beeldvormingstechnieken, zoals echografie en MRI, "contrast-enhanced computed tomography" (CT), kan in sommige gevallen de exacte locatie aangetoond worden waar zich de kraakbeenletsels, de pathologie ter hoogte van het subchondrale bot of de wekedenletsels bevinden. In het geval van een eenzijdig gecollabeerde gewrichtsinterlinie, bijvoorbeeld het mediale deel van het hoefgewricht, kan geprobeerd worden om de compressie aan de aangetaste zijde van het gewricht te verminderen door deze zijde verder te laten wegzakken in een zachte bodem. Dit kan ge-

beuren door de tak van het hoefijzer aan de aangetaste zijde smaller te maken en aan de andere zijde de tak te verbreden. In geval van letsels ter hoogte van een collateraalband kan een breder oppervlak onder de aangetaste zijde gebruikt worden om de tractie op het aangetaste ligament te verminderen, althans op een zachte bodem (Parks, 2011b) (Figuur 7A en B). Empirisch wordt in de behandeling van osteoartritis van het distale deel van de sprong ("spat") en van intermitterende fixatie van de patella soms gebruik gemaakt van een hoefijzer met een bredere, laterale tak of zelfs van een laterale hielwig, in combinatie met het afronden van het mediale deel van de teenregio.

Zoals eerder aangehaald, kunnen ook in een voor-achterwaartse richting aanpassingen uitgevoerd worden om de hielen minder diep of dieper te laten wegzakken in een zandbodem, bijvoorbeeld door gebruik te maken van respectievelijk een egg-bar-hoefijzer of een ijzer met een bredere teen en smallere takken (Chateau et al. 2006a; Oomen et al., 2012). Door het grotere contactoppervlak in respectievelijk de hiel- of teenregio zakt de hoof in dat gebied minder diep weg. Dit kan aangewezen zijn in het geval van tendinopathieën.

Een aangepaste drukverdeling kan ook overwogen worden in de behandeling van hoefbevangenheid, omdat een zool van geëxpandeerd polystyreen (piepschuim) het contactoppervlak vergroot, de druk verlaagt en in een achterwaartse verplaatsing van de drukverdeling resulteert (Schleining et al., 2011). Empirisch blijkt ook een "wooden shoe" met een sterke afronding gelijkaardige effecten te hebben, in combinatie met de verminderde stress bij breakover en de mogelijkheid om de hoek tussen het hoefbeen en de bodem aan te passen door het verhogen van de hielregio (O'Grady en Steward, 2009).

De traditionele visuele beoordeling van de dynamische hoefbalans lijdt onder de inherente beperkingen van het menselijke oog. Zelfs voor een ervaren clinicus kunnen subtiele afwijkingen onopgemerkt blijven, zeker bij gangen die sneller zijn dan de stap. Radiografisch onderzoek kan uitgevoerd worden om beslissingen te nemen tijdens het bekappen of aanbrengen van hoefbeslag, maar dit omhelst enkel een statische beoordeling en geeft bijgevolg geen informatie over de hoefbalans tijdens beweging. Voor het menselijke oog (10-15 beelden/seconde) lijkt een normale hoof initieel gelijktijdig contact te maken met de bodem met de mediale en laterale hiel en landen de hielen meestal vlak voor of simultaan met de teenregio. Kwantitatieve analyse heeft echter aangetoond dat laterale hiellanding zeer vaak voorkomt (Van Heel et al., 2004; Parks, 2011a). Recent onderzoek gebruikmakend van drukplaatanalyse heeft objectief en dynamisch inzicht verschaft in de teen-heel- en mediolaterale hoefbalans van normale, gezonde sportpaarden in stap en in draf op een harde bodem en van normale, gezonde pony's in stap en in draf op een zandbodem (Oosterlinck et al., 2013, 2014). In tegenstelling tot



**Figuur 8. Hielbeweging A. in stap, B. draf en C. galop bij een onbeslagen paard. Positieve waarden wijzen op hielexpansie, negatieve waarden op hielcontractie.**

wat vaak verondersteld wordt, is aangetoond dat de belasting bij normale hoeven die visueel vlak/symmetrisch lijken te landen, niet gelijk verdeeld is en de laterale zijde zwaarder belast wordt (Oosterlinck et al., 2013). De verdere ontwikkeling van deze toepassing van biomechanische analyse van de hoefbalans kan in de toekomst leiden tot objectief en kwantitatief advies met betrekking tot het bekappen van hoeven en het aanbrengen van specifiek hoefbeslag, net zoals heden ten dage met sportschoenen en inlegzolen bij de mens gebeurt.

Het hoornkapsel van de hoef verschaft goede schokdemping, wat ervoor zorgt dat er weinig tot geen vibraties worden doorgegeven tot boven het kogelgewricht. Hoefbeslag vermindert het schokdempend vermogen van de hoef. Het effect is echter verschillend naargelang het materiaal waaruit het hoefijzer is gemaakt: het schokdempend vermogen van staal is kleiner dan dat van aluminium, dat op zijn beurt kleiner is dan dat van kunststoffen hoefijzers, terwijl visco-elastische zooltjes met of zonder opvulling tus-

sen de hoef en het zooltje dit effect verder kunnen versterken (Back et al., 2006; Back en Pille, 2013). Dit aspect kan bijvoorbeeld nuttig zijn in de behandeling van letsels ter hoogte van subchondraal bot of andere vormen van osteoartritis.

Het is belangrijk om te beseffen dat het glijden van de hoef een normaal fenomeen is gedurende de secundaire impactfase. De mate van doorglijden is sterk afhankelijk van het type bodem, de snelheid en vele andere factoren. De beperkte mate van beweging in horizontale richting gedurende het afremmen laat dissipatie van energie toe en vermindert dus de grootte van de belasting en de snelheid waarmee ze opgebouwd wordt. Er is uiteraard slechts een beperkte marge: te veel doorglijden resulteert in instabiliteit en risico op valpartijen; te weinig glijden en energie-dissipatie zorgen voor een enorme opstapeling van energie in het skelet en de weke delen, en vergroten de kans op breuken en andere letsels. Indien extra grip vereist is voor sportieve prestaties kunnen in de plaats van het gebruik van kalkoenen andere, meer subtiele maatregelen genomen worden om grip te verhogen, zoals widiapunten, hoefijzers met een rits over de hele lengte, het concaaf maken van de onderzijde van het hoefijzer, etc.

Er zijn verschillende methoden die van oudsher empirisch toegepast worden om breakover te bevorderen, wat nuttig kan zijn in geval van osteoartritis, problemen in het hoefkatrolgebied, hoefbevangenheid en bij verschillende wekedelenletsels. Een hoefijzer met een hielwig vermindert de duur van de breakover-fase in vergelijking met een normaal, vlak ijzer en in vergelijking met een egg-bar-hoefijzer (Rogers en Back, 2007). Daarenboven reduceert hoefbeslag met hielwig de maximale kracht die uitgeoefend wordt op het straalbeen met 24% (Willemen et al., 1999). De keuze tussen een ijzer met vierkante teen, een ijzer dat extra teruggestapt wordt, een omgekeerd ijzer, een afgeronde teen (“rolling toe”), een “rocker-toe”, een “natural balance” teen, etc. of een combinatie van deze principes is vooral afhankelijk van de individuele voorkeur van de behandelende dierenarts. Er zijn verschillende meningen omtrent het principe van de afgeronde teen (Johnston en Back, 2006). Algemeen worden hoefijzers met de hierboven vermelde aanpassingen gebruikt om de momentarm van de verticale kracht ter hoogte van het hoefgewricht te verkorten (Eliashar et al., 2002). Het effect ervan speelt echter enkel mee nadat de hielen de bodem hebben verlaten en wanneer dus de verticale kracht reeds substantieel verminderd is. Aangezien het maximale krachtmoment ter hoogte van het hoefgewricht reeds bereikt wordt vooraleer de hielen de bodem verlaten, zouden dergelijke aanpassingen geen effect hebben op de maximale belasting van de diepe buigpees (Eliashar et al., 2002; Buchner, 2005). Niettegenstaande werd aangetoond dat het afrolpatroon van de hoef geleidelijker verloopt en dat er op een harde bodem minder piekbelasting en stress op het distale deel van het lidmaat uitgeoefend

worden (van Heel et al., 2006; Spaak et al., 2013). Zoals reeds eerder vermeld, ondervindt een onbeslagen paard 14% minder belasting ter hoogte van het straalbeen dan een paard met een normaal, vlak beslag, wat op zich al therapeutisch interessant kan zijn (Willemen et al., 1999).

Een laatste belangrijk aspect van de biomechanica van de hoef is het zogenaamde hoefmechanisme. Dit is de deformatie die de hoef ondergaat tijdens de beweging van het paard. Deze deformatie wordt belangrijk geacht voor schokabsorptie, namelijk het dissiperen van energie die gecreëerd wordt tijdens impact (Pollit, 1992; Dyhre-Poulsen et al., 1994). Het hoefmechanisme zorgt verder voor het pompen van bloed in de hoef, wat de bloedcirculatie in de hoef, de hoorn groei en hoornkwaliteit positief beïnvloedt (Ratzlaff et al., 1985).

Het hoefmechanisme werd onder meer bestudeerd door middel van rekstrookjes (Dyhre-Poulsen et al., 1994; Thomason, 1998; Thomason et al., 2001, 2002; Roepstorff et al., 2001); foto-elastisch materiaal (Davies, 1996; Dejardin et al., 2001), optische systemen (Roepstorff et al. 2001), verplaatsingssensoren (Roepstorff et al. 2001; Yoshihara et al., 2010), doppler (Pietra et al., 2004), speciale hoefschoenen (Barrey, 1990), digitale fotografie (Hinterhofer et al., 2006) en wiskundige computermodellen ("finite element analysis") (Hinterhofer et al., 1997; 2000; 2001; Thomason et al., 2002). Ondanks het feit dat door de specifieke meetmethoden in deze studies verschillende aspecten van hoefdeformatie werden beschreven en hier en daar variaties en kleine tegenstrijdigheden gerapporteerd werden, is men het eens over de belangrijkste facetten van hoefdeformatie. Tijdens het steunen vertonen de zool en straal een neerwaartse beweging (Hinterhofer et al., 2000) en wijkt het proximale deel van de dorsale hoefwand achteruit (Thomason, 1998). De belangrijkste deformatie vindt plaats ter hoogte van de hielen, doordat de hielregio van de hoef het meest elastisch is en de mechanische belasting het grootst is in de caudale regio van de hoef (Barrey, 1990; Douglas et al., 1998). Onder invloed van de verticale grondreactiekracht in de caudale regio van de hoef en de druk ter hoogte van de straalregio wijken de hielen uit elkaar (Colles, 1989; Kai et al., 2000). In een andere theorie wordt gesteld dat deze hielexpansie plaatsvindt ten gevolge van het zakken en achteruit kantelen van het kroonbeen dat zo de hielen uit elkaar duwt (Dyhre-Poulsen et al., 1994). Roepstorff et al. (2001) ondersteunen beide theorieën en toonden verder aan dat hielexpansie enkel optreedt tijdens de eerste 70-80% van de steunfase. In een tweede fase, tijdens de breakover, werd in die studie een contractie van de hielen gezien. Een directe verklaring voor dit fenomeen is er niet maar moet gezocht worden in de driedimensionale vervorming van het hoornkapsel ten gevolge van de stijgende grondreactiekracht in de teenregio tijdens de breakover (Roepstorff et al., 2001). Yoshihara et al. (2010), die ditzelfde patroon

van hielbeweging hebben vastgesteld, suggereren dat hielcontractie tot stand wordt gebracht door de ligamenten en het bindweefsel die het hoefkraakbeen verbinden met het hoefbeen, kroonbeen en kootbeen. De voorwaartse rotatie van het kroonbeen zorgt via de ligamenten en het hoefkraakbeen voor de rotatie van de hoef, voor het opheffen en tenslotte de contractie van de hielen.

De mate van hielexpansie stijgt bij hogere snelheden, aangezien de verticale grondreactiekracht stijgt naargelang de snelheid van de beweging verhoogt. Hielcontractie daarentegen blijft vrijwel constant bij alle snelheden waarschijnlijk omdat de verticale grondreactiekracht ter hoogte van de teen tijdens de breakover nagenoeg dezelfde blijft ongeacht de snelheid (Yoshihara et al., 2010).

Door middel van een hoogfrequente verplaatsingssensor (800 Hz) (AE Sensors, Dordrecht, Nederland) werd door de onderzoeksgroep van de auteurs recentelijk eenzelfde patroon van hielexpansie en hielcontractie bij verschillende snelheden vastgesteld (Figuur 8).

De hielbeweging wordt beïnvloed door de geometrie van de hoef. Paarden met steile en nauwe hielen, uitgesproken steunsels en een smalle straal vertonen minder hielexpansie dan paarden met lage hielen, weinig ontwikkelde steunsels en een brede straal. Steilere hoeven zijn dus 'stijver' en vertonen minder schokabsorptie tijdens impact (Thomason et al., 1998).

Het aanbrengen van hoefbeslag limiteert de mediolaterale hielbeweging (Hinterhofer et al., 2001; Roepstorff et al., 2001). Het experimentele verhogen van druk ter hoogte van de zool en straal door middel van een opblaasbaar kussen, zorgde in een studie van Roepstorff et al. (2001) daarentegen voor een significante toename van hielexpansie. Echter, zelfs als de straal niet in contact kwam met de grond, trad er nog hielexpansie op (Roepstorff et al., 2001), wat suggereert dat ook andere mechanismen dan druk ter hoogte van de straal verantwoordelijk zijn voor het hoefmechanisme. Yoshihara et al. (2010) toonden aan dat het lijmen van hoefschoenen de hielexpansie niet limiteert ten opzichte van het nagelen van een ijzer ter hoogte van de voorhoeven maar wel ter hoogte van de achterhoeven. Hielcontractie daarentegen werd significant meer gelimiteerd door het lijmen van een ijzer op de hoef dan wanneer het werd genageld en dit zowel ter hoogte van de voor- als achterhoeven (Yoshihara et al., 2010). Recent werd door de onderzoeksgroep van de auteurs aangetoond dat een hoefijzer dat bestaat uit twee afzonderlijke delen, i.e. het moerman-hoefijzer, een vergelijkbare mate van hielbeweging toelaat als een onbeslagen hoef, terwijl een conventioneel hoefijzer het hoefmechanisme significant belemmert (Brunsting et al., 2016).

In sommige gevallen is het limiteren van het hoefmechanisme gewenst, zoals tijdens de behandeling van hoefbeenfracturen. Het typische hoefbeslag dat gebruikt wordt bij de behandeling van deze letsels,



namelijk een balkijzer met een teenlip en extra zijlippen die achter het derde nagelgat worden geplaatst, minimaliseert effectief het hoefmechanisme (Hinterhofer et al., 2001). Door sommigen wordt dit gecombineerd met een zooltje en silicone-opvulling om vernauwing van de hiel en te gaan en om ondersteuning te bieden aan het hoefbeen (O'Grady, 2011). Een alternatief voor het hoefijzer met extra zijlippen is het gebruik van een hoefijzer met een volledige rand die de draagrand omvat of het aanbrengen van een synthetisch gipsverband rechtsreeks op de hoornwand (O'Grady, 2011). Ook het vergroten van de hielhoek met 5° veroorzaakt significant minder hoefdeformatie (Hinterhofer et al., 2000).

## CONCLUSIE

Er is vrij veel biomechanische informatie beschikbaar die nuttige aanwijzingen kan verschaffen voor het "evidence-based" bekappen en/of aanbrengen van hoefbeslag. De laatste jaren gebeurt bovendien meer en meer onderzoek naar het biomechanische effect van de samenstelling en het onderhoud van de bodem waarop paarden presteren (Thomason en Peterson, 2008). Gecontroleerde studies van het bekappen en/of hoefbeslag voor specifieke oorzaken van kreupelheid zijn tot nog toe echter niet beschikbaar.

Elk advies met betrekking tot het bekappen of aanbrengen van hoefbeslag moet gebaseerd zijn op de grondige beoordeling van de statische en dynamische hoefbalans en op een volledig bewegings/kreupelheidsonderzoek van de individuele patiënt. Bovendien moet het advies geformuleerd worden in functie van de specifieke vereisten van de sportdiscipline waarvoor het paard gebruikt wordt. Op basis van de biomechanische aspecten van hoefbelasting kan bij aanpassingen qua bekappen of hoefbeslag in de behandeling van kreupelheid de nadruk gelegd worden op optimale hoefbalans, absorptie van schokken, gepaste mate van grip/afremmen versus glijden, optimale drukverdeling binnen de hoef, en het bevorderen van de breakover. Ook met de invloed van bijvoorbeeld het hoefbeslag op het hoefmechanisme moet rekening gehouden worden. Idealiter worden de meeste van deze principes gecombineerd in de preventie van letsels.

## REFERENTIES

Back W., Pille F. (2013). The role of the hoof and shoeing. In: Back W., Clayton H.M. (editors). *Equine Locomotion*. Tweede editie, W.B. Saunders, Elsevier, London, p. 147-174.

Back W., Schamhardt H.C., Hartman W., Barneveld A. (1995). Kinematic differences between the distal portions of the forelimbs and hindlimbs of horses at the trot. *American Journal of Veterinary Research* 56, 1522-1528.

Back W., Van Schie M.H.M., Pol J.N. (2006). Synthetic

shoes attenuate hoof impact in the trotting warmblood horse. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 3, 143-151.

Barrey E. (1990). Investigation of the vertical hoof force distribution in the equine forelimb with an instrumented horseboot. *Equine Veterinary Journal* 22 Supplement 9, 35-38.

Brunsting J., Dumoulin M., Haspeslagh M., Oosterlinck M., Pille F. (2016). Can the hoof be shod without limiting the hoof mechanism? *Veterinary Surgery* 45, E8.

Buchner H.H.F. (2005). Distal limb internal dynamics: joint moments, tendon forces, and lessons for orthopedic shoeing. In: *Proceedings 51<sup>st</sup> Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. Seattle, Washington, p. 134-140.

Chateau H., Degueurce C., Denoix J.M. (2004). Effects of 6° elevation of the heels on 3D kinematics of the distal portion of the forelimb in the walking horse. *Equine Veterinary Journal* 36, 649-654.

Chateau H., Degueurce C., Denoix J.M. (2006a). Effects of egg-bar shoes on the 3-dimensional kinematics of the distal forelimb in horses walking on a sand track. *Equine Veterinary Journal* 38 Supplement 36, 377-382.

Chateau H., Degueurce C., Denoix J.M. (2006b). Three-dimensional kinematics of the distal forelimb in horses trotting on a treadmill and effects of elevation of heel and toe. *Equine Veterinary Journal* 38, 164-169.

Chateau H., Degueurce C., Jerbi H., Crevier-Denoix N., Pourcelot P., Audigié F., Pasqui-Boutard V., Denoix J.M. (2002). Three-dimensional kinematics of the equine interphalangeal joints: articular impact of asymmetric bearing. *Veterinary Research* 33, 371-382.

Colles C.M. (1989). The relationship of frog pressure to heel expansion. *Equine Veterinary Journal* 21, 13-16.

Davies H.M.S. (1996). A technical report on redistribution of strain in the hoof wall of a standing horse before and after trimming. *Pferdeheilkunde* 12, 679-680.

Degueurce C., Chateau H., Jerbi H., Crevier-Denoix N., Pourcelot P., Audigié F., Pasqui-Boutard V., Geiger D., Denoix J.M. (2001). Three-dimensional kinematics of the proximal interphalangeal joint: effect of raising the heels or toe. *Equine Veterinary Journal* 33 Supplement 33, 79-83.

Dejardin L.M., Arnoczky S.P., Cloud G.L., Stick J.A. (2001). Photoelastic stress analysis of strain patterns in equine hooves after four-point trimming. *American Journal of Veterinary Research* 62, 467-473.

Douglas J.E., Biddick T.L., Thomason J.J., Jofriet J.C. (1998). Stress/strain behaviour of the equine laminar junction. *Journal of Experimental Biology* 201, 2287-2297.

Dyhre-Poulsen P., Smedegaard H.H., Roed J., Korsgaard E. (1994). Equine hoof function investigated by pressure transducers inside the hoof and accelerometers mounted on the first phalanx. *Equine Veterinary Journal* 26, 326-366.

Eliashar E. (2007). An evidence-based assessment of the biomechanical effects of the common shoeing and farriery techniques. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 23, 425-442.

Eliashar E., McGuigan M.P., Rogers K.A., Wilson A.M. (2002). A comparison of three horseshoeing styles on the kinetics of breakover in sound horses. *Equine Veterinary Journal* 34, 184-190.

Gustas P., Johnston C., Hedenström U., Roepstroff L., Dre-

- vemo S. (2006). A field study on hoof deceleration at impact in Standardbred trotters at various speeds. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 3, 161-168.
- Hagen J., Hüppler M., Häfner F., Geiger S., Mäder D. (2016). Modifying horseshoes in the mediolateral plane: Effects of side wedge, wide branch, and unilateral roller shoes on the phalangeal alignment, pressure forces, and the footing pattern. *Journal of Equine Veterinary Science* 37, 77-85.
- Hagen J., Hüppler M., Geiger S.M., Mäder D., Häfner F.S. (2017). Modifying the height of horseshoes: Effects of wedge shoes, studs, and rocker shoes on the phalangeal alignment, pressure distribution, and hoof-ground contact during motion. *Journal of Equine Veterinary Science* 53, 8-18.
- Hinterhofer C., Stanek C., Haider H. (1997). Simulation of pressure by means of a finite element computer model of the equine hoof capsule. *Pferdeheilkunde* 13, 319-328.
- Hinterhofer C., Stanek C., Haider H. (2000). The effect of flat horseshoes, raised heels and lowered heels on the biomechanics of the equine hoof assessed by finite element analysis (FEA). *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine* 47, 73-82.
- Hinterhofer C., Stanek C., Haider H. (2001). Finite element analysis (FEA) as a model to predict effects of farriery on the equine hoof. *Equine Veterinary Journal* 33 Supplement 33, 58-62.
- Hinterhofer C., Weißbacher N., Buchner H.H.F., Peham C., Stanek C. (2006). Motion analysis of hoof wall, sole and frog under cyclic load in vitro: deformation of the equine hoof shod with regular horse shoe, straight bar shoe and bare hoof. *Pferdeheilkunde* 22, 314-319.
- Hüppler M., Häfner F., Geiger S., Mäder D., Hagen J. (2016). Modifying the surface of horseshoes: Effects of eggbar, heartbar, open toe, and wide toe shoes on the phalangeal alignment, pressure distribution, and the footing pattern. *Journal of Equine Veterinary Science* 37, 86-97.
- Johnston C., Back W. (2006). Hoof ground interaction: when biomechanical stimuli challenge the tissues of the distal limb. *Equine Veterinary Journal* 38, 634-641.
- Kai M., Aoki O., Hiraga A., Oki H., Oki H., Tokuriki M. (2000). Use of an instrument sandwiched between the hoof and shoe to measure vertical ground reaction forces and three-dimensional acceleration at the walk, trot, and canter in horses. *American Journal of Veterinary Research* 61, 979-985.
- Lawson S.E.M., Chateau H., Pourcelot P., Denoix J.M., Crevier-Denoix N. (2007). Effect of toe and heel elevation on calculated tendon strains in the horse and the influence of the proximal interphalangeal joint. *Journal of Anatomy* 210, 583-591.
- Martens A., Levet T., Saunders J., Pille F. (2008). Beoordeling en behandeling van valgus- en varusdeviaties bij het veulen. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 78, 113-118.
- Moleman M., Van Heel M.C.V., Van Weeren P.R., Back W. (2006). Hoof growth between two shoeing sessions leads to a substantial increase of the moment about the distal, but not the proximal, interphalangeal joint. *Equine Veterinary Journal* 38, 170-174.
- O'Grady S.E. (2009). Guidelines for trimming the equine foot: a review. In: *Proceedings 55<sup>th</sup> Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. Las Vegas, Nevada, p. 218-225.
- O'Grady S.E., Steward M. (2009). The wooden shoe as an option for treating chronic laminitis? *Equine Veterinary Education* 8, 272-276.
- O'Grady S.E. (2011). Farriery for common hoof problems. In: Baxter, G.M. (editor). *Adams and Stashak's Lameness in Horses*. Zesde editie, Wiley Blackwell, West Sussex, p. 1199-1210.
- Oomen A.M., Oosterlinck M., Pille F., Sonneveld D.C., Gasthuys F., Back W. (2012). Use of a pressure plate to analyse the toe-heel load redistribution underneath a shoe with a normal toe and a shoe with a wide toe in sound warmblood horses at the walk and trot. *Research in Veterinary Science* 93, 1026-1031.
- Oosterlinck M., Hardeman L.C., van der Meij B.R., Veraa S., van der Kolk J.H., Wijnberg I.D., Pille F., Back W. (2013). Pressure plate analysis of toe-heel and medio-lateral hoof balance at the walk and trot in sound sport horses. *The Veterinary Journal* 198, Supplement 1, e9-e13.
- Oosterlinck M., Pille F., Back W., Dewulf J., Gasthuys F. (2010). Use of a stand-alone pressure plate for the objective evaluation of forelimb symmetry in sound ponies at walk and trot. *The Veterinary Journal* 183, 305-309.
- Oosterlinck M., Pille F., Back W., Dewulf J., Gasthuys F. (2011). A pressure plate study on fore and hindlimb loading and the association with hoof contact area in sound ponies at the walk and trot. *The Veterinary Journal* 190, 71-76.
- Oosterlinck M., Pille F., Dumoulin M., Gasthuys F. (2007). Moderne technieken voor kreupelheidsonderzoek bij het paard: beter dan de klinische blik? *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 76, 91-102.
- Oosterlinck M., Royaux E., Back W., Pille F. (2014). A preliminary study on pressure plate evaluation of forelimb toe-heel and medio-lateral hoof balance on a hard versus a soft surface in sound ponies at the walk and trot. *Equine Veterinary Journal* 46, 751-755.
- Oosterlinck M., Van der Aa R., Van de Water E., Pille F. (2015). Preliminary evaluation of toe-heel and mediolateral hoof balance at the walk in sound horses with toed-in hoof conformation. *Journal of Equine Veterinary Science* 35, 606-610.
- Parks A.H. (2003). Form and function of the equine digit. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 19, 285-307.
- Parks A.H. (2011a). The foot and shoeing. In: Ross M.W., Dyson S.J. (editors). *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. Tweede editie, Saunders, St Louis, Missouri, p. 282-309.
- Parks A. (2011b). Therapeutic trimming and shoeing. In: Baxter, G.M. (editor). *Adams and Stashak's Lameness in Horses*. Zesde editie, Wiley Blackwell, West Sussex, p. 986-995.
- Pietra M., Guglielmini C., Nardi S., Gandini G., Cipone M. (2004). Influence of weight bearing and hoof position on Doppler evaluation of lateral palmar digital arteries in healthy horses. *American Journal of Veterinary Research* 65, 211-215.
- Pollitt, C.C. (1992). Clinical anatomy and physiology of the normal equine foot. *Equine Veterinary Education* 4, 219-224.
- Ratzlaff M.H., Shindell R.M., Debowes R.M. (1985). Changes in digital venous pressures of horses moving at the walk and trot. *American Journal of Veterinary Research* 46, 1545-1549.
- Rogers C.W., Back W. (2007). The effect of plain, eggbar and 6°-wedge shoes on the distribution of pressure un-

- der the hoof of horses at the walk. *New Zealand Veterinary Journal* 55, 120-124.
- Roepstorff L., Johnston C., Drevemo S. (2001). In vivo and in vitro heel expansion in relation to shoeing and frog pressure. *Equine Veterinary Journal* 33 Supplement 33, 54-57.
- Roepstorff L. (2012). The development of clinical tools based on biomechanical research. *The Veterinary Journal* 192, 129-130.
- Schleining J.A., McClure, S.R., Derrick T.R., Wang C. (2011). Effects of industrial polystyrene foam insulation pads on the center of pressure and load distribution in the forefeet of clinically normal horses. *American Journal of Veterinary Research* 72, 628-633.
- Spaak B., Van Heel M.C.V., Back W. (2013). Toe modifications in hind feet shoes optimise hoof-unrollment in sound Warmblood horses at trot. *Equine Veterinary Journal* 45, 485-489.
- Stashak T.S., Hill C., Klimesh R., Ovnicek G. (2002). Trimming and shoeing for balance and soundness. In: Stashak T.S. (editor). *Adams' Lameness in Horses*. Vijfde editie, Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia, p. 1081-1144.
- Thomason J.J. (1998). Variation in surface strain on the equine hoofwall at the midstep with shoeing, gait, substrate, direction of travel, and hoof angle. *Equine Veterinary Journal* 30 Supplement 26, 86-95.
- Thomason J.J., Bignell W.W., Sears W. (2001). Components of variation of surface hoof strain with time. *Equine Veterinary Journal* 33 Supplement 33, 63-66.
- Thomason J.J., McClinchey H.L., Jofriet J.C. (2002). Analysis of strain and stress in the equine hoof capsule using finite element methods: comparison with principal strains recorded in vivo. *Equine Veterinary Journal* 34, 719-725.
- Thomason J.T., Peterson M.L. (2008). Biomechanical and mechanical investigations of the hoof-track interface in racing horses. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 24, 53-77.
- Van Heel M.C.V., Barneveld A., Van Weeren P.R., Back W. (2004). Dynamic pressure measurements for the detailed study of hoof balance: the effect of trimming. *Equine Veterinary Journal* 36, 778-782.
- Van Heel M.C.V., Van Weeren P.R., Back W. (2006). Shoeing sound Warmblood horses with a rolled toe optimizes hoof-unrollment and lowers peak loading during breakover. *Equine Veterinary Journal* 38, 258-262.
- Viitanen M.J., Wilson A.M., McGuigan H.P., Rogers K.D., May S.A. (2003). Effect of foot balance on the intra-articular pressure in the distal interphalangeal joint in vitro. *Equine Veterinary Journal* 35, 184-189.
- Willemen M.A., Savelberg H.H.C.M., Barneveld A. (1999). The effect of orthopaedic shoeing on the force exerted by the deep digital flexor tendon on the navicular bone in horses. *Equine Veterinary Journal* 31, 25-30.
- Wilson A.M., Seelig T.J., Shield R.A., Silverman B.W. (1998). The effect of foot imbalance on point of force application in the horse. *Equine Veterinary Journal* 30, 540-545.
- Yoshihara E., Takahashi T., Otsuka N., Isayama T., Hiraga A., Wada S. (2010). Heel movement in horses: comparison between glued and nailed horse shoes at different speeds. *Equine Veterinary Journal* 42 Supplement 38, 431-435.

---

**BEHANDELING VAN MASTITIS MET PENICILLINEN EN CEFALOSPORINEN**


---

**VRAAG**

**“Er zijn erg veel verschillende penicillinen en cefalosporinen op de markt om mastitis te voorkomen en te behandelen, maar het is niet altijd even duidelijk wat de verschillen tussen deze antibiotica zijn qua werkingsspectrum. Een klinisch relevante samenvatting hieromtrent zou handig zijn.”**

**ANTWOORD**

De bètalactam-antibiotica, waaronder zowel de penicillinen als de cefalosporinen vallen, zijn de meest gebruikte antibiotica om de uiergezondheid te bewaren. Deze tijdsafhankelijke, bactericide antibiotica hebben een vrij lage toxiciteit, hoewel er aanwijzingen zijn dat allergie tegen bètalactam-antibiotica ook bij runderen kan voorkomen. Alle mycoplasmen zijn van nature resistent tegen bètalactam-antibiotica. Methicilline-resistente stafylokokken kunnen nooit met een veterinair geregistreerd penicilline of cefalosporine behandeld worden omwille van veranderingen ter hoogte van hun penicilline-bindend proteïne.

De ‘oorspronkelijke’ of ‘natuurlijke’ penicilline alsook zijn lipofiele prodrug penethamaat en de eerstegeneratiecefalosporinen, zoals cefazoline, cefalexine, cefalonium en cefapirine, hebben voornamelijk een grampositief spectrum. Dit wil zeggen dat de MIC-waarden van deze stoffen wat betreft mastitispathogenen vooral voor stafylokokken en streptokokken laag zijn. Zij zijn echter ook actief tegen verschillende anaerobe kiemen en *Pasteurellaceae*. De eerstegeneratiecefalosporinen vertonen een vergelijkbare activiteit als penicilline, met bijkomend matige activiteit tegen *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* en *Proteus mirabilis*, maar geen goede activiteit tegen onder andere *Listeria*. Onder meer enterokokken, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Citrobacter* en *Enterobacter*-species zijn van nature in vivo weinig gevoelig voor zowel penicilline, penethamaat als eerstegeneratiecefalosporinen. Penicilline en penethamaat zijn gevoelig voor de bètalactamasen (penicillinasen) van stafylokokken en verliezen bijgevolg hun werkzaamheid wanneer dit resistentiemechanisme aanwezig is. Bètalactamasen komen zeer weinig tot nooit voor bij streptokokken. De eerstegeneratiecefalosporinen zijn ongevoelig voor stafylokokken-penicillinasen. Parenterale toediening van penethamaat geeft aanleiding tot hogere penicillineconcentraties in de melk en het uierweefsel dan de parenterale toediening van penicilline, omwille van het lipofiele karakter van penethamaat en wegens het fenomeen van “ion trapping” in de melk.

Ampicilline is een breedspectrumpenicilline (aminopenicilline, zoals ook amoxicilline). Dit wil zeggen dat dit antibioticum beter werkzaam is tegen verschil-

lende gramnegatieve kiemen, zoals *E. coli*, dan penicilline. *Klebsiella* is echter van nature resistent tegen ampicilline. De in-vivowerkzaamheid van ampicilline tegen enterokokken is bovendien beter dan die van penicilline. De concentraties in de melk na parenterale toediening zijn vergelijkbaar met die van penicilline na parenterale toediening. De aminopenicillinen zijn gevoelig voor de bètalactamasen van stafylokokken en *Enterobacteriaceae* (bijvoorbeeld van nature aanwezig in *Klebsiella* of verworven in sommige stammen van *E. coli*) en verliezen bijgevolg hun werkzaamheid wanneer dit resistentiemechanisme aanwezig is. In de aanwezigheid van bètalactamasen kan de werking van aminopenicillinen herwonnen worden door toevoeging van een bètalactamase-inhibitor, zoals clavulaanzuur.

Cloxacilline en nafcilline, alsook oxacilline en methicilline, zijn penicillinase-resistente penicillinen met een grampositief werkingsspectrum, wat voor mastitis-geassocieerde kiemen grotendeels overeenkomt met stafylokokken en streptokokken. Penicillinaseresistentie wil concreet zeggen dat deze antibiotica resistent zijn tegen de werking van bètalactamasen van stafylokokken. De in-vivo-activiteit tegen streptokokken is vergelijkbaar met die van penicilline, maar de activiteit tegen *Pasteurellaceae*, anaeroben en enterokokken is erg laag. Er zijn aanwijzingen van verworven resistentie bij sommige isolaten van streptokokken specifiek tegen penicillinase-resistente penicillinen.

Ceftiofur/cefoperazone enerzijds en cefquinome anderzijds zijn respectievelijk derde- en vierdegeneratiecefalosporinen. Deze antibiotica hebben een klinisch goede werking tegenover grampositieve bacteriën (ongeveer vergelijkbaar met deze van eerstegeneratiecefalosporinen), maar hebben daarnaast ook een goede werking tegen *Enterobacteriaceae*, zoals *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, ook wanneer zij een penicillinase ter expressie brengen. Deze cefalosporinen zijn ook ongevoelig voor stafylokokken-penicillinasen. Cefoperazone en cefquinome hebben beide een goede werking tegen *Pseudomonas*. De derde- en vierdegeneratiecefalosporinen kunnen echter niet gebruikt worden om een infectie met methicilline-resistente stafylokokken of breedspectrum-bètalactamase, bijvoorbeeld ESBL- of AmpC-positieve *Enterobacteriaceae* te behandelen. Zoals ook vermeld bij de eerstegeneratiecefalosporinen zijn enterokokken en *Listeria* van nature weinig gevoelig. Vermits derde- en vierdegeneratiecefalosporinen kritisch belangrijke antibiotica zijn, wordt het gebruik ervan bij voedselproducerende dieren via het Koninklijk Besluit van 21/07/2016 gereguleerd. Dit besluit is echter niet van toepassing voor geneesmiddelen die kritisch belangrijke antibiotica bevatten en die uitsluitend geregistreerd zijn voor intramammaire toediening.

## BRONNEN

<http://www.cbip-vet.be/>

Koninklijk Besluit betreffende de voorwaarden voor het gebruik van geneesmiddelen door de dierenartsen en door de verantwoordelijken van de dieren Publicatie: 2016-07-29 Numac : 2016024152

S. Giguère, J. F. Prescott, P. M. Dowling (2013). *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*.

S. Giguère, J. F. Prescott, P. M. Dowling (editors). Fifth edition, ISBN: 9780470963029; DoI: 10.1002/9781118675014) 21 juli 2016.

Dr. F. Boyen  
Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten,  
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,  
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

---

 INTERPRETATIE VAN TOTAAL T4-GEHALTE BIJ EEN ACUUT ZIEKE HOND
 

---

## VRAAG

*“Afgelopen jaar werd ik tijdens weekendvervangings tweemaal in spoed geraadpleegd voor een bijna identiek geval waar ik op het eerste zicht weinig info over vond. Dit waren mijn bevindingen: het betrof een vrouwelijke, intacte dobermann van negen jaar en een vrouwelijke, intacte dobermann van acht jaar oud. Beide vertoonden symptomen van hypothyreoïdie waarnaar voorheen geen verder onderzoek werd gedaan. Beide honden werden in spoed binnengebracht met plotse zwakte, onderkoeling, snelle en onregelmatige pols (geen ruis, geen galopritme), suf zijn, snelle ademhaling, bleke mucosae, CVT +/- OK. Op bloedanalyse vertoonden beide honden een onmeetbaar laag totaal T4-gehalte. Voor beide honden had ik een ondersteunende therapie IV opgestart maar geen van beide hebben het gehaald.*

*Om dit beter te begrijpen, wil ik volgende vragen stellen. Als beide honden symptomen van hypothyreoïdie vertoonden alsook het ziekteverloop aan de hand van het verhaal van de eigenaars in die richting wees en bovendien bij geen van beide honden T4 gemeten werd, welk belang dient hieraan gegeven te worden; en indien hun toestand inderdaad het gevolg was van vergevorderde hypothyreoïdie, die niet onderkend werd, wat is de beste behandeling die kan gegeven worden tijdens de spoedbehandeling?”*

## ANTWOORD

In uw vraagstelling wordt er vermeld dat beide honden symptomen van hypothyreoïdie vertoonden. Symptomen van hypothyreoïdie kunnen vaag en aspecifiek zijn met een zeer chronisch verloop, waardoor rekening moet gehouden worden met andere mogelijke differentiaaldiagnosen. In een acute of levensbedreigende situatie zal hypothyreoïdie zelden of nooit de enige oorzaak zijn van deze acute presenta-

tie. Daarenboven is een correcte interpretatie van de schildkliertesten in deze acute situatie zeer moeilijk.

Een veel voorkomend probleem bij de interpretatie van het T4-gehalte is inderdaad het voorkomen van “sick euthyroid syndrome”. In deze situatie is er een gedaald T4-gehalte aanwezig omwille van een andere onderliggende aandoening. In dat geval is de interpretatie van het T4-gehalte bij patiënten in een onstabiele toestand, zoals bij de honden in de huidige situatie (een van beide honden vertoonde ook erge azotemie), onbetrouwbaar. Het beste dient er gewacht te worden tot de algemene toestand verbeterd is alvorens het T4-gehalte te laten bepalen.

Een ander belangrijk punt is dat een laag T4-gehalte op zich onvoldoende is om een definitieve diagnose van hypothyreoïdie te stellen. Bij ongeveer 75% van de honden met hypothyreoïdie bevestigt een stijging van TSH de diagnose. Aangewezen onderzoeken in twijfelgevallen zijn een bijkomende bepaling van vrij T4 (na evenwichtsdiagnose), scintigrafie of de TSH-stimulatietest.

De inspanningsklachten en/of lethargie die bij beide patiënten geobserveerd werden, zouden, gezien het signalement, i. e. dobermann, middelbare leeftijd, ook gerelateerd kunnen geweest zijn aan dilatorische cardiomyopathie (DCM). Deze aandoening kan immers ook acute klachten van decompensatie geven, die vrij gelijkend kunnen zijn op de beschreven symptomen (cardiogene shock, aanwezigheid aritmie) en kent vaak een slechte prognose. De afwezigheid van een bijgeruis sluit dilatorische cardiomyopathie niet uit. Een mogelijk verband tussen schildklierhormonen en cardiomyopathie werd reeds aangetoond (Phillips en Harkin, 2003). De rol van hypothyreoïdie in het ontstaan van of de progressie van DCM kon echter niet bevestigd worden in een recente prospectieve studie bij 175 dobermannpinchers met hypothyreoïdie en/of DCM (Beier et al., 2015).

Een extreem zeldzame complicatie van hypothyreoïdie is myxoedeemcoma. Deze aandoening werd eerder beschreven bij honden met hypothyreoïdie (al dan niet behandeld) en kan getriggerd worden door een andere ziekte (infectie, neoplasie, inflammatie). De complicatie wordt gekenmerkt door acute klach-

ten van mentale depressie, zwakte, bradycardie, hypothermie met afwezigheid van pilo-erectiereflex en niet-indrukbaar oedeem in het aangezicht. Deze complicatie kent tevens een slechte prognose en vereist een parenterale supplementatie van schildklierhormonen naast een ondersteunende behandeling (passieve opwarming, vloeistoftherapie, eventueel mechanische ventilatie).

Ter besluit willen we benadrukken dat hypothyreoïdie bijna altijd een chronische ziekte is die zelden levensbedreigend of acuut is (tenzij myxoedeemcoma ontstaat). Gezien de onstabiele toestand waarin beide honden op het moment van de consultatie verkeerden en het signalement, dienen andere onderliggende ziekten overwogen te worden. Tot slot is de interpretatie van het T4-gehalte bij patiënten in een dergelijke onstabiele toestand zeer moeilijk.

## REFERENTIES

Beier P., Reese S., Holler P.J., Simak J., Tater G., Wess G. (2015). The role of hypothyroidism in the etiology and progression of dilated cardiomyopathy in Dobermann Pinschers. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29, 141-149.

Philips D.E., Harkin K.R. (2003). Hypothyroidism and myocardial failure in two Great Danes. *Journal of the American Animal Hospital Association* 39, 133-137.

Drs. S. Marynissen, specialist interne geneeskunde  
Dr. P. Smets, specialist cardiologie  
Prof. dr. S. Daminet, specialist interne geneeskunde  
Vakgroep Kleine Huisdieren,  
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,  
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

## Dieren in de Salische wet

(opgeschreven vanaf de zevende eeuw)

De 'Salische wet' of de bepalingen van straf- en erfrecht onder de Salische Franken, de volksstammen waartoe Clovis (Chlodowech, Ludovicus, Ludwig of Louis) behoorde, kennen we vrijwel uitsluitend omwille van al dan niet verkeerd geïnterpreteerd erfrecht in koningshuizen en van sommige gronden (lenen) in adellijke families.

Het doet wel wat bevreemdend aan te vernemen dat de eerste twintig! bepalingen handelen over het doden of stelen van varkens, de volgende dertien over runderen, daarna vier over schapen en evenveel over geiten, vier over honden, zeven over bijenzwermen en ook zeven voor vogels (tot en met tortels). Die grote aantallen strafbepalingen worden mede verklaard door de variatie in de straffen toegepast naargelang het feit of de wandaad gebeurde bij dieren op stal of vrijlopend, naargelang geslacht en leeftijd; bijvoorbeeld één- of tweemaal of meermaals geworpen, enz.

De strafmaten vertellen heel wat over de waarde die men hechtte aan dieren en ... mensen. Voor de meeste misdrijven moest er betaald worden in zilveren solidi (schellingen, afgekort sol.). Dat waren aanzienlijke sommen. Men kan de straffen voor dieren vergelijken met die voor mensen. Zo stond op het doden van een Frank een boete van 200 sol, voor een Galloromein 100 sol., terwijl een slaaf slechts 30 sol. waard was. Maar een paard, gedood of gestolen, werd even zwaar beboet, een trekpaard of een trekos zelfs meer (45 sol., plus de waarde van het dier). Straffen voor honden waren ook niet van de poes: 45 voor de leider van een meute, 15 voor een jacht- of een waakhond.

*Men kan deze bepalingen momenteel nog het gemakkelijkst vinden op de Franse site La Loi salique (Traduction et annotation de J. P. A. Peyré)*

Luc Devriese



Vorige zomer organiseerde de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Wenen het wereldcongres van de *World Association for the History of Veterinary Medicine* ([www.wahvm.org](http://www.wahvm.org)), in samenwerking met het congres voor Veterinaire Anatomie. Het volgende congres van deze zeer actieve internationale vereniging zal plaats vinden in 2018 in Noorwegen. Alle details zijn terug te vinden op hoger vermelde webstek. Dichter bij huis houdt het Nederlandse *Veterinair Historisch Genootschap* reeds vele jaren 2 vergaderingen per jaar waarbij telkens een nummer van het zeer verzorgde wetenschappelijk tijdschrift 'Argos' verschijnt. Alle informatie omtrent deze nationale vereniging zijn te vinden op [www.veterinaryhistory.nl](http://www.veterinaryhistory.nl).

In Vlaanderen tenslotte is reeds vele jaren de 'Museum-commissie' actief in de schoot van de Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent te Merelbeke, opgericht door wijlen Prof. Hoorens en ondertussen belichaamd én getrokken door Dr. Luc Devriese. Hij wordt hierin bijgestaan door een 'lichtjes wisselend maar steeds zeer beperkt' dozijn collega's dierenartsen die de geschiedenis van hun beroep een warm hart toedragen. In tijden waarin diverse universiteiten en faculteiten leerstoelen 'wetenschapsgeschiedenis' in het leven roepen blijkt het zeer moeilijk om dierenartsen te enthousiasmeren voor de studie van specifieke of minder specifieke aspecten uit het (verre) veterinaire verleden. Tegelijkertijd bestaat echter de hoop dat een aantal collega's wel degelijk deze interesse koestert maar dat het bij gebrek aan een forum moeilijk is om er uiting aan te geven. Interesse in oude boeken, prenten, instrumenten en verhalen deel je nu eenmaal minder vlot via Facebook ...

Daarom lanceert de *Museumcommissie* een **oproep** aan het veterinaire beroep in Vlaanderen waarmee ze op zoek gaat naar collega's dierenartsen en andere geïnteresseerden die, bij voorkeur op een actieve wijze, willen bijdragen aan de studie van de geschiedenis van het veterinaire beroep in Vlaanderen en (ver) daarbuiten. Op dat vlak vergt het weinig moeite om het Veterinair Historisch Genootschap als mooi voorbeeld te nemen.

In een poging het 'Vlaams Veterinair Historisch Besef' aan te wakkeren hebben we dan ook besloten in samenwerking met het Veterinair Historisch Genootschap en gesteund door een enorm grote bereidheid van zijn bestuur een eerste gezamenlijk symposium te organiseren in het prachtige historische kader van het Klooster van de Grauwzusters op de stadscampus van de Universiteit Antwerpen.

Daarom deze oproep aan alle collega's en andere geïnteresseerden in de geschiedenis van het veterinaire beroep om zich alvast kenbaar te maken én zo mogelijk ook onderstaande datum te blokkeren in hun agenda om deze eerste gezamenlijke meeting bij te wonen. Alle details omtrent de inschrijving, locatie en het programma zijn te vinden elders in dit VDT-nummer.

**8 november 2017**  
**symposium in samenwerking met het**  
**Veterinair Historisch Genootschap (NL)**  
**Klooster van de Grauwzusters, Stadscampus Universiteit Antwerpen**





Het Nederlandse **Veterinair Historisch Genootschap** en de **Universiteit Antwerpen** hebben het genoegen u uit te nodigen op een gezamenlijk symposium van het



## *Veterinair Historisch Genootschap*

op 8 november 2017

Klooster van de Grauwzusters, Stadscampus Universiteit Antwerpen  
Lange Sint-Annastraat 7, 2000 Antwerpen

### Programma:

- |             |   |
|-------------|---|
| 10.30-11.00 | Ontvangst met koffie  |
| 11.00-11.15 | Welkomstwoord – Universiteit Antwerpen (Prof. dr. P. Bols) en Veterinair Historisch Genootschap (Dr. Hein Schrama, voorzitter)              |
| 11.15-12.00 | Ledenvergadering VHG  |
| 12.00-12.45 | 'Aderlatingen en etterdrachten verdrijven het <i> kwaad </i> uit het lichaam.'<br>Dr. Luc Devriese (Museumcommissie, Universiteit Gent)     |
| 12.45-13.30 | Broodjeslunch   |
| 13.30-14.15 | 'Belgische <i> kwekelingen </i> op 's Rijksveeartsenijschool in Utrecht (1821-1830)'.<br>Prof. dr. Peter Koolmees (Universiteit Utrecht)    |
| 14.15-15.00 | 'Dierenarts – cavaleriecommandant, nog een spanningsveld in de Grande Armée van Napoleon'.<br>Prof. dr. Peter Bols (Universiteit Antwerpen) |
| 15.00-15.15 | Afsluitend woord van de Voorzitter VHG, Dr. Hein Schrama  |
| 15.15-16.15 | Borrel  |

Bijkomende informatie: [www.veterinaryhistory.nl](http://www.veterinaryhistory.nl) of bij [peter.bols@uantwerpen.be](mailto:peter.bols@uantwerpen.be)

Vooraf inschrijven verplicht door overmaken van **39,50 euro voor 20 oktober 2017** op rekeningnummer IBAN: NL38 INGB 0000 5810 45 ter attentie van VHG met vermelding van NAAM + 'symposium'





# EXPOVET 2017

DE GROOTSTE VAKBEURS VOOR DE DIERENARTS

- 2417 dierenartsen verbroederen op 1 plaats...
- 250 studenten slaan de handen in elkaar op 1 plaats...
- 81 gerelateerde bedrijven netwerken op 1 plaats...



## Nieuw!

### → Debatten

zaterdag

AMCRA - Evolutie van het antibioticagebruik bij de kleine huisdieren

zondag

Toekomst en evolutie van de opleiding diergeneeskunde

### → Vetjob

Een stand waar werkgevende en werkzoekende dierenartsen elkaar ontmoeten

## In de kijker!

- Casussen en demonstraties, wegens succes verlengd
- Bijscholingen i.s.m. Instituut voor Permanente Vorming van de Universiteit Gent

## 28 & 29 OKTOBER

zaterdag van 13u tot 22u

zondag van 13u tot 20u

Flanders Expo – Hal 8

Maaltekouter 1, 9051 Gent

meer info: [www.expovet.be](http://www.expovet.be)



flanders expo



## KATTEN HEBBEN UITZONDERLIJKE TALENTEN. PUREVAX® OOK.

Dankzij innovatieve technologie is PUREVAX® het enige gamma kattenvaccins dat volledig vrij is van adjuvans. PUREVAX® combineert veiligheid en effectiviteit met flexibiliteit.

Met een breed aanbod aan valenties en combinaties wordt vaccinatie op maat mogelijk. Dit is nu nog gemakkelijker dankzij een immuniteitsduur van 3 jaar voor PUREVAX® RC en RCP<sup>1</sup>.



# PUREVAX®

Een goede ontwikkeling

1. De eerste herhalingsvaccinatie dient 1 jaar na de basisvaccinatie met alle componenten (RCP) te worden uitgevoerd.

**PUREVAX® RC-RCP-RCPCh-RCPFeLV\*-RCPChFeLV\*-FeLV-Rabies. Samenstelling:** afh. van presentatie o.a. levend verzwakt feliene rhinotracheïtis herpesvirus (stam FHV F2), geïnactiveerde feliene Calicivirus antigenen (stammen FCV 431 en G1), levend verzwakt *Chlamydomphila felis* (stam 905), levend verzwakt feliene panleucopenie virus (PLI IV), FeLV recombinant kanariepokkenvirus (vCP97) en Rabies recombinant kanariepokken virus (vCP97). **Doeldier:** Katten. **Indicaties:** Actieve immunisatie van katten van 8 weken (Rabies: 12 weken) en ouder tegen o.a. feliene virale rhinotracheïtis en *Chlamydomphila felis* ter vermindering van klinische symptomen, tegen infecties met het calicivirus ter vermindering van klinische symptomen, tegen feliene panleucopenie voor de preventie van sterfte en klinische symptomen, tegen feliene leukemie voor preventie van persisterende viremie en klinische symptomen, of ter voorkoming van sterfte door een rabies-infectie. Immuniteit na het basisvaccinatieschema vanaf 1 week tegen rhinotracheïtis, calicivirus, *Chlamydomphila felis* en panleucopenie componenten en vanaf 2 weken tegen feliene leukemie. De immuniteitsduur is 3 jaar na de laatste hervaccinatie voor rhinotracheïtis, calicivirus en panleucopenie componenten, en 1 jaar voor *Chlamydomphila felis* en feliene leukemie. Aanvang van immuniteit (Rabies): 4 weken na het basisvaccinatieschema. Immuniteitsduur na de basisvaccinatie 1 jaaren na de herhalingsvaccinatie: 3 jaar. **Dosering en toedieningsweg:** Subcutane injectie van één 1-ml dosis vaccin: Basisvaccinatieschema (R, C, P, CH en FeLV): 1e injectie vanaf een leeftijd van 8 weken, 2e injectie 3 tot 4 (3 tot 5 voor FeLV) weken later. Wanneer hoge titers van maternale antistoffen tegen de R, C, P of Ch componenten verwacht kunnen worden (bijvoorbeeld bij kittens met een leeftijd van 9-12 weken waarvan de moeders zijn gevaccineerd vóór de dracht en/of die zeker of vermoedelijk eerder zijn blootgesteld aan één of meer van de pathogenen) moet het schema voor de basisvaccinatie uitgesteld worden tot de leeftijd van 12 weken. Herhalingsvaccinatie: De eerste herhalingsvaccinatie 1 jaar na de basisvaccinatie met alle componenten, daarna elk jaar met de chlamydiosis en feliene leukemie componenten, en met intervallen van maximaal 3 jaar met de rhinotracheïtis, calicivirus en panleucopenie componenten. Basisvaccinatie (Rabies): 1 injectie vanaf een leeftijd van 12 weken. Herhalingsvaccinatie: 1 jaar na de basisvaccinatie, daarna met intervallen van 3 jaar. **Contra-indicaties:** Niet gebruiken bij drachtige dieren. Gebruik wordt afgeraden tijdens de lactatie. Geen voor Rabies. **Bijwerkingen:** Incidenteel een voorbijgaande apathie en anorexie alsook hyperthermie (gewoonlijk 1 of 2 dagen); ev. een lokale reactie (een lichte pijn bij palpatie, jeuk of beperkt oedeem, lichte zwelling, warmte op de injectieplaats en soms erytheem), hoogstens 1 of 2 (4 voor FeLV) weken; uitzonderlijk een overgevoeligheidsreactie (aangepaste symptomatische behandeling); zeer zeldzaam en voorbijgaand in volwassen katten hyperthermie en lethargie, soms met kreupelheid, gedurende 1 tot 3 weken na de herhalingsvaccinatie. **Voorzorgsmaatregelen:** aanbevolen is om vóór de vaccinatie met FeLV een test op FeLV antigenen uit te voeren (vaccinatie van FeLV positieve katten heeft geen voordeel). **Kanalisatie:** Op diergeneeskundig voorschrift - UDD. **Nummer van de vergunning:** EU/2/04/047-052/001 - EU/2/00/019/005 - EU/2/10/117/001-003 (REG NL 10319-10321-10322-9877-106780). **Verdere informatie** zie bijsluiter of beschikbaar bij (NL) Merial B.V., Kleermakerstraat 10, 1991 JL Velsersbroek (info@merial.com), of (BEL) Merial Belgium NV, Arianelaan 16, 1200 Brussel (MERIAL.BE@merial.com), hr240715. \*Alleen beschikbaar in België en Luxemburg. © Geregistreerd handelsmerk van Merial. © Merial 2017 - Alle rechten voorbehouden. MattArt 17804\_1/06/17

MERIAL MAAKT NU DEEL UIT VAN BOEHRINGER INGELHEIM



**Boehringer  
Ingelheim**



# SOEPEL\* EN BETROUWBAAR\*\* ONDER ALLE OMSTANDIGHEDEN!



**ORBESEAL®**, suspensie voor intramammaire toediening bij droogzetten - Bismuth subnitraat

**INDICATIES:** Preventie van nieuwe intramammaire infecties gedurende de gehele droogstandperiode. Bij koeien die beschouwd worden als zijnde vrij van subklinische mastitis kan OrbeSeal gebruikt worden voor droogzetmanagement en mastitiscontrole. De selectie van de te behandelen koeien dient gebaseerd te zijn op specifieke aanbevelingen van de dierenarts. Selectiecriteria kunnen gebaseerd zijn op het mastitis- en celgetal-verleden van de individuele koeien of erkende testen voor het aantonen van subklinische mastitis of op basis van bacteriologische monsternamen. **DOSERING EN TOEDIENINGSWEG:** Uitsluitend voor intramammaire toediening. Breng de inhoud van één injecteur OrbeSeal in elk uierkwartier in, direct na de laatste melkbeurt van de lactatieperiode (bij het droogzetten). Speen of uier na het inbrengen van het product niet masseren. Om het risico op mastitis na toediening te voorkómen, dient er voor gezorgd te worden dat er geen pathogenen ingebracht worden in de speen. Het is essentieel dat de speen grondig gereinigd en gedesinfecteerd wordt met medicinale alcohol of met een met alcohol geïmpregneerd tepeldoekje. De spenen dienen schoongemaakt te worden tot er op de tepeldoekjes geen zichtbaar vuil meer achterblijft. Daarna de spenen op laten drogen voordat het product ingebracht wordt. Breng aseptisch in en zorg ervoor dat de punt van de injecteur niet verontreinigd wordt. Aangeraden wordt om na het inbrengen een geschikte tepeldip of -spray te gebruiken. **CONTRA-INDICATIES:** Dracht: Daar het product na inbrengen niet geabsorbeerd wordt, kan OrbeSeal gebruikt worden bij drachtige dieren. Na het afkalven kan de seal door het kalf opgenomen worden. Opname van OrbeSeal door het kalf is veilig en heeft geen nadelige effecten. Lactatie: OrbeSeal is gecontraindiceerd tijdens de lactatie. Indien per ongeluk ingebracht bij een lacterende koe, kan er een kleine (tot tweevoudige) voorbijgaande verhoging van het somatische celgetal waargenomen worden. In dit geval dient de seal er handmatig uit gestript te worden en zijn er geen aanvullende maatregelen noodzakelijk. Niet alleen gebruiken bij koeien met subklinische mastitis op het moment van droogzetten. Niet gebruiken bij koeien met klinische mastitis op het moment van droogzetten. **BIJWERKINGEN:** Geen bekend.

\* OrbeSeal bevat Aerosil®, COLLOÏDALE WATERVRIJE SILICA (CAS). Deze component wordt als stabilisator in emulsies gebruikt en als verdikkingsmiddel en thixotroop bindmiddel in gels en halfvaste bereidingen.

\*\* OrbeSeal gedraagt zich als een plug in het tepelkanaal bij koeien die een droogstandperiode hebben tot 100 dagen

VOOR DIEREN. VOOR GEZONDHEID. VOOR U.

zoetis