

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

MAART - APRIL 2017

VOL. 86 - NR 2

VERSCHIJNT TWEEMAANDELIJKS

PUBLISHED BIMONTHLY

ISSN 0303 9021

WWW.VDT.UGENT.BE

GENT X

Afgiftekantoor 9099 Gent X

v.u. Luc Peelman

Salisburylaan 133 - B-9820 Merelbeke



O Inspanningstesten bij paarden

O Gastrale helicobacters bij honden en katten

O Serumproteïne-concentraties bij honden met IE

O Tracheaal adenocarcinoma bij een kat

O Post-grooming furunculose bij een hond

O Feochromocytoom en aneurysma bij een hond

O Aangeboren afwijkingen van de wervels bij de hond

OMDAT EEN MUILKORF GEEN OPTIE IS

WEDEROM EEN
INNOVATIEF
PRODUCT VAN MERIAL



Merilym3



Het eerste en enige
Lyme-borreliosevaccin ter
bescherming tegen de 3 relevante
Borrelia-stammen in Europa.



B. afzelii



B. garinii



B. burgdorferi
sensu stricto

MERILYM³ suspensie voor injectie voor honden. **Samenstelling** van één dosis (1 ml): Geïnactiveerde *Borrelia burgdorferi sensu lato*: *B. garinii* RP $\geq 1^*$; *B. afzelii* RP $\geq 1^*$; *B. burgdorferi sensu stricto* RP $\geq 1^*$ (*RP = Relatieve potentie (ELISA test)); Aluminium (als hydroxide) 2 mg; Formaldehyde max. 0,5 mg/ml. **Doelsoorten:** Honden. **Indicaties:** Voor de actieve immunisatie van honden vanaf een leeftijd van 12 weken ter inductie van een anti-OspA respons tegen *Borrelia* spp. (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* en *B. afzelii*). Reductie van *Borrelia* transmissie is alleen onderzocht onder laboratoriumomstandigheden, na een challenge met veld-teken (verzameld in een gebied waarvan bekend is dat *Borrelia* voorkomt). Onder deze omstandigheden werd aangetoond dat geen *Borrelia* geïsoleerd kon worden uit de huid van gevaccineerde honden, terwijl wel *Borrelia* werd geïsoleerd uit de huid van niet-gevacineerde honden. Reductie van transmissie van *Borrelia* van de teek naar de gastheer is niet gekwantificeerd en er is geen correlatie vastgesteld tussen een bepaald niveau van antilichamen en vermindering van *Borrelia* transmissie. De werkzaamheid van het vaccin tegen een infectie die leidt tot de ontwikkeling van klinische symptomen is niet bestudeerd. Aanvang van de immuniteit: één maand na de basisvaccinatie. Duur van de immuniteit: één jaar na de basisvaccinatie. **Contra-indicaties:** Niet gebruiken bij algemene, met koorts gepaard gaande ziekten, bij zieke dieren met een bijkomende ziekte, met een zware parasitaire infestatie en/of in een slechte algemene conditie, bij vermoedelijke of bevestigde klinische Lyme-borreliose, bij overgevoelghed voor de werkzame bestanddelen, voor het adjuvans of voor één van de hulpstoffen. **Bijwerkingen:** tijdelijke verhoging van de lichaamstemperatuur (tot 1,5°C). Zeldzaam een tijdelijke zwelling met een diameter tot 7 cm op de injectieplaats gedurende maximaal 5 dagen. Zeer zeldzaam zwellingen met een grotere diameter (tot 15 cm). Zeer zeldzaam een overgevoelghedsreactie, welke een geschikte symptomatische behandeling kan vereisen. **Gebruik tijdens dracht of lactatie:** veiligheid is niet bewezen. **Dosering en toedieningsweg:** 1 ml vanaf een leeftijd van 12 weken. Subcutaan. De flacon goed schudden vóór gebruik. Basisvaccinatie: Dien twee doses toe, gescheiden door een interval van 3 weken. Hervaccinatie: Jaarlijkse hervaccinatie met een enkele dosis wordt aanbevolen om immuniteit te behouden, hoewel dit schema niet is onderzocht. Vaccinatie dient te gebeuren voorafgaand aan periodes met een verhoogde tekenactiviteit, waarbij er voldoende tijd moet zijn voor een volledige ontwikkeling van de immunrespons op de vaccinatie, vóór de verwachte blootstelling aan teken. BE-V434244 - REG NL 112602. Op diergeneseskunng voorschrift (LDD). Verdere informatie beschikbaar bij Merial Belgium NV, Arianelaan 16, 1200 Brussel (MERIAL_BE@merial.com) of Merial B.V., Kleermakerstraat 10, 1991 JL Vetserbreek (info.nl@merial.com), fs200614, MattArt 18080_1/03/17.

MERIAL

Merial maakt nu deel uit van Boehringer Ingelheim

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

2017, vol. 86, nr. 2

INHOUD

Overzichtsartikel

Review

- 63 L. DE MARE, B. BOSCHUIZEN, L. PLANCKE, C. DE MEEUS, M. DE BRUIJN, C. DELESALLE
Inspanningstesten bij paarden: stand van zaken en toekomstperspectieven

L. DE MARE, B. BOSCHUIZEN, L. PLANCKE, C. DE MEEUS, M. DE BRUIJN, C. DELESALLE
Standardized exercise tests in horses: current situation and future perspectives

Originele artikelen

Original articles

- 73 H. BERLAMONT, M. JOOSTEN, R. DUCATELLE, F. HAESBROUCK, A. SMET
Voorkomen van gastrale helicobacters in speeksel en feces van honden en katten
- 79 E. SEGERS, V. MARTLÉ, S. PIEPERS, L. VAN HAM, S.F.M. BHATTI
C-reactief proteïneconcentraties in het serum van honden met idiopathische epilepsie

H. BERLAMONT, M. JOOSTEN, R. DUCATELLE, F. HAESBROUCK, A. SMET
Presence of gastric *Helicobacter spp.* in feces and saliva from dogs and cats

E. SEGERS, V. MARTLÉ, S. PIEPERS, L. VAN HAM, S.F.M. BHATTI
Serum C-reactive protein concentrations in dogs with idiopathic epilepsy

Casuïstieken

Case reports

- 84 M. DEFLANDRE, T. BOSMANS, N. DEVRIENDT, H. DE ROOSTER, A. VAN CAELENBERG, I. GIELEN, I. POLIS
Alfaxalone TIVA bij de chirurgische excisie van een tracheaal adenocarcinoma bij een kat
- 93 L. RUTTEN, P. SMETS, S. VANDENABEELE
Post-grooming furunculose bij een hond
- 99 B.Á. RODRIGUES, Q.G. GRANGEIRO, C. SCARANTO, G. KONRADT, M.V. BIANCHI, D. DRIEMEIER, J.L.R. RODRIGUES
Ongebruikelijk voorkomen van een feochromocytoom en niet-geruptureerd aneurysma van de abdominale aorta bij een yorkshireterriër

M. DEFLANDRE, T. BOSMANS, N. DEVRIENDT, H. DE ROOSTER, A. VAN CAELENBERG, I. GIELEN, I. POLIS
Alfaxalone TIVA during surgical excision of a tracheal adenocarcinoma in a cat

L. RUTTEN, P. SMETS, S. VANDENABEELE
Post-grooming furunculosis in a dog

B.Á. RODRIGUES, Q.G. GRANGEIRO, C. SCARANTO, G. KONRADT, M.V. BIANCHI, D. DRIEMEIER, J.L.R. RODRIGUES
An unusual case of pheochromocytoma and unruptured abdominal aortic aneurism in a Yorkshire terrier

Permanente vorming

Continuing education

- 105 L. DE RYCKE, J.H. SAUNDERS
Aangeboren afwijkingen van de wervels bij de hond

L. DE RYCKE, J.H. SAUNDERS
Congenital anomalies of the vertebrae in dogs

Vraag en antwoord

- 119 De invloed van glucocorticoïden op de bijnierfunctie van de hond
120 "Hemorrhagische bowel syndrome" bij koeien

Oproep

- 72, 83,
92, 118,
122

Uit het verleden

Cover foto: Constance de Meeus d'Argenteuil

In vergelijking met de mens zijn paarden atleten pur sang. Ze beschikken over tal van fysiologische trucjes om hun atletisch vermogen een boost te geven tijdens arbeid. Helaas gebeurt de training van paarden nog vaak op empirische wijze en is ze nog mijlenver verwijderd van de aanpak bij humane atleten die gebaseerd is op gedegen wetenschappelijk onderzoek en focust op een individuele approach. Op pagina 63 van dit VDT-nummer wordt een overzicht gegeven van alles wat er op dit moment bekend is over gestandaardiseerde inspanningstesten (SET-testen) die worden ingezet om de trainingsprogressie bij *sportpaarden* te monitoren.

Tekst: Catherine Delesalle

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

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

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

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

Beknopte 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 cijferaanwijzing 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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Standardized exercise tests in horses: current situation and future perspectives

*Inspanningstesten bij paarden:
stand van zaken en toekomstperspectieven*

L. de Mare, B. Boshuizen, L. Plancke, C. de Meeus, M. de Bruijn, C. Delesalle

Department of Comparative Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University,
Salisburylaan 133, Belgium

Catherine.Delesalle@Ugent.be

ABSTRACT

The purpose of this literature review is to clarify how exercise capacity can be measured in horses and which standardized exercise tests (SETs) exist. In this review, the measurement of the exercise capacity of horses is discussed and the standardized exercise tests (SET) are described. Two main types of SETs are used. Laboratory or treadmill tests are easy to standardize and provide more options to use all kinds of measuring devices, since the horse stays on the treadmill. On the other hand, field tests are conducted under the natural conditions associated with the specific sports discipline, and are easier to implement in the training schedule. However, field tests encompass interfering variables, such as weather conditions, ground surface conditions and the rider or jockey. Several variables are measured in order to calculate the fitness level which may be expressed by different parameters, such as V200 (speed at a heart rate of 200 beats per minute), Vla4 (speed at a blood lactic acid level of 4 mmol/L) and VO₂max (maximum oxygen uptake).

SAMENVATTING

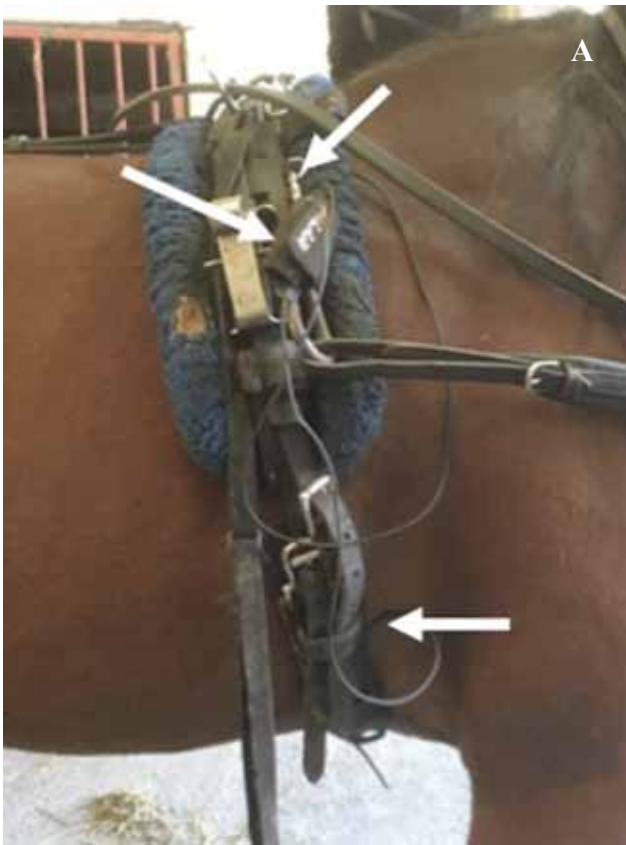
In dit overzichtsartikel wordt beschreven hoe inspanningscapaciteit bij het sportpaard kan worden gemeten en welke gestandaardiseerde inspanningstesten (SET) bestaan. Er worden twee types SETs gebruikt: de gemakkelijk standaardiseerbare, lopende bandtest en de veldtesten, waarbij de gebruikelijke omstandigheden beter nagebootst kunnen worden, maar waardoor meer variabiliteit in de metingen ontstaat. Er worden verschillende parameters gemeten, zoals de snelheid bij een hartslag van 200 slagen/min (V200), de snelheid waarbij de bloed-lactaatgehalten boven 4 mmol/L stijgen (Vla4) en de maximale zuurstofopname (VO₂max).

INTRODUCTION

The increasing professionalism of different equine sports disciplines entails that an increasing load of training and competition is imposed upon sport horses, both at international competition level and at the level of a growing group of semi-professional, recreative riders. However, in great contrast with human sports training physiology, the training of sport horses is still predominantly performed based upon 'gut feeling'. Indeed, science about training of horses in different sports disciplines is still in its infancy compared to the techniques that are routinely applied in the training of elite human athletes. Fitness level evaluation of elite human athletes is performed during controlled, standardized exercise tests that are adapted for specific sports disciplines and during which physiological parameters are monitored, such as heart rate (HR), blood

lactic acid, respiratory parameters, maximum power output, maximum oxygen uptake (VO₂max), and in some cases, the assessment of muscle biopsies. These tests can be applied either in laboratory conditions on either a treadmill or cycle ergometers, or outdoors in the field, for instance using a back pack equipped with a mobile VO₂max analyzer.

Professional equine trainers use GPS equipped heart rate monitors to continuously assess HR and velocity (Figures 1A and 1B) throughout training. The newest devices even indicate the grade of inclination of the terrain upon which the training is performed. At given time points, standardized exercise tests can be applied; however, knowledge about these diverse SET tests is very scattered. An important issue is which type of SET applies best for which type of sports discipline. A standardbred used for trotting requires another type of performance capacity than



Figures 1A and 1B. GPS equipped heart rate monitors (the two sensors are indicated with the arrows). (Left panel) and GPS equipped watch that depicts heart rate and velocity in the horses throughout exercise.

a show jumper. Besides performance capacity, there is also the factor skills. Show jumping and dressage require the horse to be able to demonstrate a certain set of skills in order to perform optimal competition. When it comes to measuring physiological parameters throughout equine SETs, both HR and velocity monitoring are very feasible. Longitudinal follow-up of blood lactic acid levels throughout a SET is also quite feasible, since hand-held lactic acid analyzers are available for horses. However, when it comes to measuring maximal power output, it is impossible to put a horse on a Wattbike. In addition, measuring $VO_2\max$ is quite challenging: many efforts have been made by several research groups to achieve this; however, measuring $VO_2\max$ in horses under field conditions retrieves lower maximum values than under laboratory conditions (Van Erck et al., 2007). In all these equine studies, human $VO_2\max$ analyzers were used, which have been adapted for the use in horses. However, keeping in mind that a human athlete in full action displaces approximately 60L of air per minute versus a 500-kg horse approximately 1500L per minute, most probably renders sampling methods and frequencies applied in human analyzers, unsuitable and simply ineffective in horses (Figures 1A and 1B). However, more research is needed with that respect.

Consequently, two important issues should be addressed when it comes to performance capacity evalu-

ation of equine athletes: (1) the inability to objectively grade and measure important physiological parameters, such as maximum power output and $VO_2\max$, and (2) the diversity of SETs that are currently being applied. Often, there is a lack of scientific evidence with respect to their validation, repeatability and suitability for the specific sports discipline, in which the horse needs to perform.

There are two main types of exercise tests to assess the aerobic and anaerobic capacity of horses: laboratory exercise tests (treadmill tests) and field exercise tests. Three criteria should be taken into account when setting up an exercise test. Validity means that the protocol simulates the work required for the specific sports discipline. Achieving a reasonable validity is easier for SETs in the field than on a treadmill because field tests better approach the real situation, in which the horse needs to compete (Franklin et al., 2014; Allen et al., 2016). The second criterium is repeatability, meaning that a specific SET should reveal similar results when executed within the short-time interval of a few days. Standardization of a treadmill test is easier to achieve. However, despite the influence of factors such as the driver, track condition and weather conditions (Franklin et al., 2014; Allen et al., 2016), several studies have shown acceptable repeatability for field SETs as well (Courouce, 1999; Dubreucq et al., 1995). Finally, the SETs needs to show sufficient sensitivity, which means that the protocol should be able

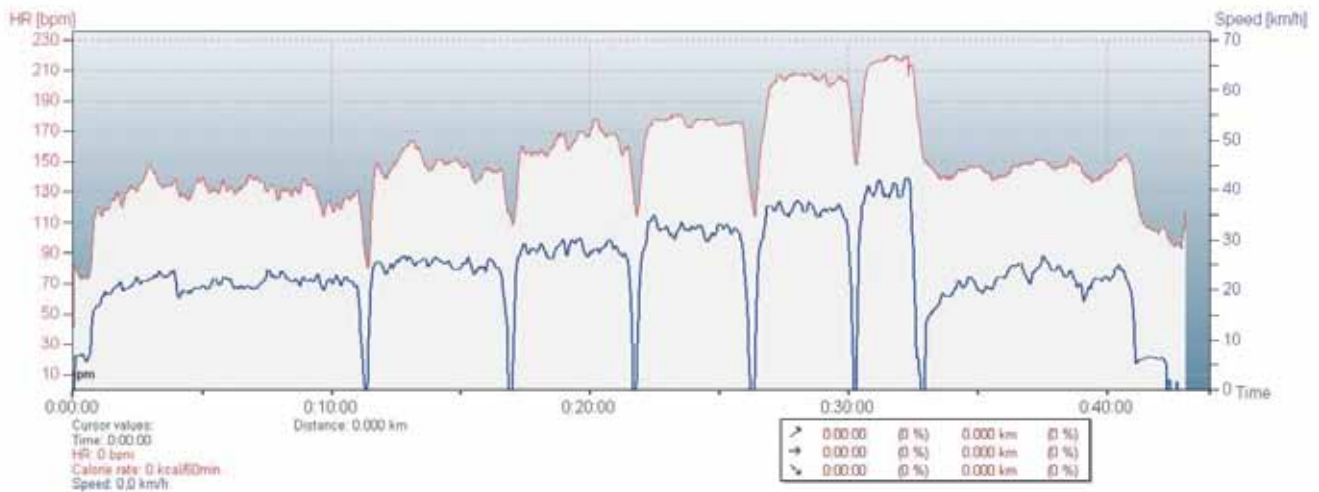


Figure 2. HR (red) and velocity (blue) during incremental SET. Each episode represents an exercise bout (interval).

to detect small but significant changes in performance capacity throughout time (Franklin et al., 2014; Allen et al., 2016).

Apart from the aforementioned criteria, field tests are also more easily introduced into the training schedule than treadmill tests, which require transportation of the horse to a designated facility. Additionally, it often takes a few days to get an unacquainted horse familiar with running on a high-speed treadmill.

The exercise capacity of a horse is deduced from the maximum amount of physical effort a horse can sustain during a certain time interval. Exercise tests can be used to compare horses, but also to follow-up training progress of a horse over time. The exercise capacity of a horse is currently assessed by means of measuring series of specific physiological parameters, such as heart rate, blood lactic acid levels and velocity during SETs. The most commonly used parameters are VLa4, i.e. the speed at which the blood lactate concentration reaches 4 mmol/L, the 'artificially determined' anaerobic threshold and V200, i.e. the speed at which the heart rate reaches 200 beats per minute. VLa4 and V200 are theoretically almost equal in healthy, well-trained horses, although V200 is less trainable and heart rate fluctuates more easily than lactate because of for example mental status or physical discomfort. In a poorly performing horse for example, where V200 is significantly lower than VLa4, a (subclinical) musculoskeletal injury may be suspected. A decrease in VLa4 on the other hand is more often associated with respiratory disease. When designing an exercise testing protocol, several important features should be kept in mind (Hodgson et al., 2014; Franklin et al., 2014; Courouce, 1999; Allen et al., 2016): 1. Velocity and distances have to be controlled and should be as constant as possible, including track- and weather conditions. 2. Each step of an (incremental) exercise test should persist long enough to obtain steady state of the physiological parameters (HR, Lactate): on average 3-5 minutes. 3. Due to lac-

tate efflux from muscles to blood, the lactate concentration in blood varies according to the moment of sampling. Therefore, it is important to obtain samples at fixed moments. 4. The number of steps and the degree of increment should be standardized. 5. To allow for correct comparison of data between horses, it is necessary to take into account the breed, age, fitness level and training history of the horses. Studies with French standardbreds showed an increase of VLa2, VLa4 and V200 according to increases in age or the training status of the horses (Leleu et al., 2005; Courouce et al., 2002).

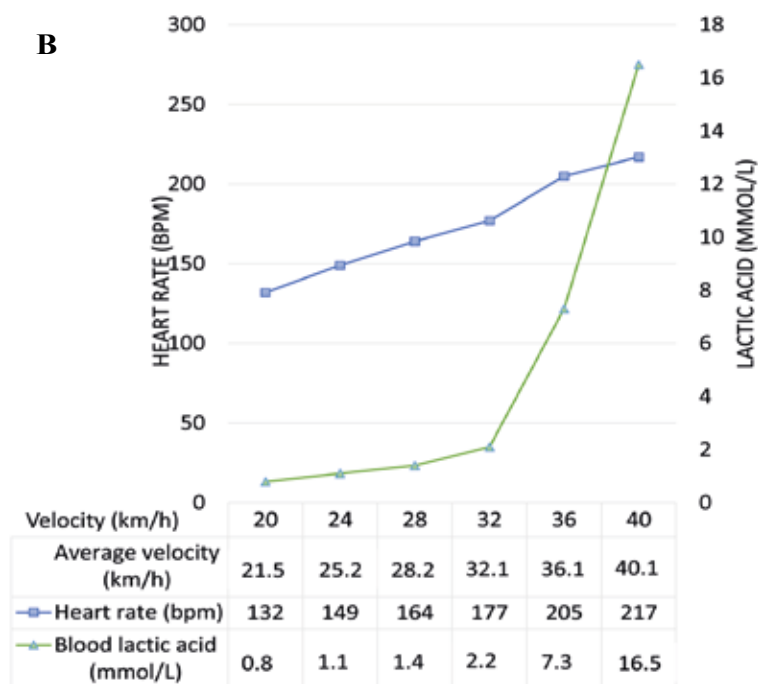
The preferable testing protocol should be suitable to test the performance capacity that is needed to compete successfully in a certain sports discipline. It is obvious that a quarter horse that competes at barrel races, needs more anaerobic capacity than an endurance horse (Franklin et al., 2014). The different protocols can be divided in incremental protocols, which consist of multiple steps of increasing intensity (velocity) and in single-step protocols.

Incremental exercise test

The incremental exercise test is advised to obtain a first insight into the performance capacity of a horse. By performing the sequential incremental steps, the horse is evaluated throughout a wide range of speeds. Before starting with the exercise, a warming-up consisting of trotting or slow cantering is required to prevent injuries (Franklin et al., 2014). During the incremental exercise test, every step ('heat') needs to be maintained for three to five minutes, in order to obtain a steady state in heart rate (Figure 2). Submaximal exercise is continued until the horse reaches a pre-set HR or blood lactate concentration to determine e.g. V200 and VLa4. To determine maximal exercise capacity, the speed is slowly increased until the horse can't maintain the speed anymore. Maximum HR and blood lactic acid levels are



Figure 3A. Handheld lactic acid measuring device. 3B. The relation between HR (blue curve) and lactic acid concentration in blood (green line) during increasing speeds (X-axis).



then determined, and give valuable information about exercise capacity of the horse. Follow-up of recuperation after the execution of an incremental SET reveals essential information. Indeed, the time interval for HR to return to values below 80 bpm and blood lactic acid values below 4 mmol/l delivers important information. In Figure 3, a lactic acid analyzer is shown as well as the evolution of lactic acid in blood with increasing speeds.

The intensity of a SET protocol can be increased by performing the SET on a treadmill with inclination, without increasing speed or distance. For example, a treadmill incline of 10% is often used during exercise testing of thoroughbred racehorses (Eto et al., 2006; Seeherman et al., 1990). Non-thoroughbred race horses (standardbreds) require lower speeds and a lower treadmill incline (0-6%) (Allen et al., 2016), because trotting requires a higher energy cost than galloping at the same high speeds (Courouze et al., 2000). Table 1 depicts widely used protocols. For non-racehorses, even lunging tests (LT: 5m or 7m radius circle lunge) or indoor ridden (RT) tests can be undertaken in an incremental way as a high correlation between HR and speed has been reported (Harris et al., 2007). In one study, V140 was higher during a RT than during a LT. Hence, lunging tests without a rider were more challenging than ridden exercises at the same speed (Harris et al., 2007).

Incremental exercise tests may be used in the field but it is difficult to maintain a constant speed throughout a fixed period and at the end of each incremental step, a short break is needed to take samples from the jugular vein to measure the blood lactic acid concentration. A study by Kobayashi et al. (1999) showed that it was possible to generate an excellent HR-velocity relationship in the field with an incre-

mental exercise test in thoroughbred horses without the use of protocols with strict adherence to steps of a constant speed. Commercial HR monitors and a stopwatch every 200m to measure the velocity were used. Trainers will adopt this technique more easily, because it is easier to implement this test in their training schedules (Kobayashi et al., 1999). The parameters derived from submaximal incremental exercise tests (VL₄, V₂₀₀) are correlated with racing performance in both thoroughbreds and standardbreds (see below).

Single step (high-speed) exercise test

A single step (high-speed) exercise test is used in horses of which there is already a view on exercise capacity. The intended speed depends on the track length, track conditions and the training level of the tested horses (Evans, 2000). In this way, the performance parameters VO₂max and HR_{max} (Allen et al., 2016) can be calculated and the differences between poor and superior performers can be verified. An average speed of 41.4-45 km/h is suitable for testing Standardbred racehorses and a speed of 48-54 km/h for Thoroughbreds. Evans et al. (1993) showed a correlation over 0.6 between blood lactic acid concentration and racing performance of Thoroughbreds 2 minutes after a treadmill exercise at 36 km/h. The measured blood lactic acid concentrations decreased gradually during training with a concomitant increase of VL₄. This type of exercise tests avoids necessity for multiple sampling and the associated breaks that are required in incremental exercise tests in the field.

The development of a high-speed single step test (Hodgson et al., 2014) can replace the incremental exercise test, which does not represent racing condi-

tions (Allen et al., 2016). Horses are subjected to an exercise test at near maximal speeds/intensities. It is an ideal test to determine the anaerobic capacity of horses. However, several studies failed to demonstrate a significant correlation between these anaerobic indices and racing performance, in contrast to the information obtained in an incremental exercise test, e.g. VLa4 (Evans, 2000; Hodgson et al., 2014).

OVERVIEW OF SETS FOR DIFFERENT SPORTS DISCIPLINES

There are important differences in exercise capacity between horse breeds. However, it is important to realize that each sports discipline requires its specific set of capacities and its own stamina level. In Table 2, an overview of the different SET protocols used in different equestrian disciplines are shown.

Thoroughbred racehorses

The racing performance of thoroughbred racehorses depends on both their aerobic and anaerobic capacities. Additionally, thoroughbreds have higher V200 values than other breeds (Vermeulen et al., 2006; Wolter et al., 1996). During incremental exercise tests, a reproducible HR-speed relationship may be determined (Munsters et al., 2014). The derived indices of exercise capacity, like V200, VLa4, VHRmax and Vmax, provide a view on exercise capacity (Vermeulen et al., 2006; Kobayashi et al., 1999). VO2max and VHRmax are correlated with the racing performance in thoroughbreds (Harkins et al., 1993; Wolter et al., 1996). Incremental SETs are less suitable for thoroughbred horses, because of the difficulty to make them run at constant speeds and to control track conditions (Courouce et al., 2013). Therefore, a single-bout exercise test seems more suitable to assess performance capacity in thoroughbreds. Single-step exercise tests that take into account the variability



Figure 4. Harness trotting during training.

of speed and that are based on the calculation of differences between measured and predicted lactate concentration (track specific lines of best fit), have potential for fitness evaluation during field exercise tests (Wolter et al., 1996). Superior English thoroughbreds had lower blood lactic acid concentrations after a single-bout exercise (Evans, 2000). Some studies state that lactic acid indices are a superior predictor of racing ability in thoroughbred racehorses (Evans, 2000). VLa4 is very important for thoroughbreds since anaerobic metabolism is of major importance in thoroughbred racing.

Standardbreds: trotters and pacers

Standardbreds in France run trotting races of 2000-4000m, while American standardbred racehorses run races of 1 mile (1600m) (Leleu et al., 2005). In a study in which the aerobic capacity between two groups of standardbred horses was compared, the fastest group showed a higher VO2max and completed a higher number of workloads before fatigue than the slowest group, indicating that racing performance is mainly dependent on the aerobic capacity of standardbreds (Evans, 2007).

Table 1. Incremental exercise tests (from Franklin and Allen, 2014).

Exercise test	Incline	Time/speed
*Incremental exercise test for Thoroughbred National Hunt and flat horses > 1 mile	10%	1 minute at 6, 8 and 10 m/s , followed by 1 m/s increases at 1 minute intervals until fatigue
*High-speed test for Thoroughbred flat, sprint horses	10%	Rapidly increase to 11-12 m/s, stay at this speed until fatigue
¹ High-speed test for Thoroughbred flat horses and Standardbreds	0-4%	Rapidly increase to 11-14,5 m/s, stay at this speed until fatigue
² Incremental exercise test for Standardbreds	0-4%	Three steps of 2-3 minutes each performed at speeds of 7, 9 and 10,5 or 11 m/s. Between each step horses recover for 1-2 minutes at walk (1,8 m/s) or trot (4,5 m/s)

*Typical exercise tests performed at the University of Bristol Equine Sports Medicine centre.

¹Data from Parente et al. 1996 ; Durando et al., 2002 and Strand et al., 2012.

²Data from Richard et al. 2010 and Courouce-Malblanc et al., 2000.

Table 2. Overview of different SET protocols per discipline.

Discipline/breed (n) (Track/Treadmill/ Riding arena)	Protocol	Reference
Racing Thoroughbreds (112) (Track)	Incremental 1000m trotting at 250m/min, then galloping at 400, 460, 550, 660 m/min for 600-800m	Kobayashi et al., 1999
Racing Thoroughbreds (9) (Track)	2-step 600m/min and 80-90% max. speed for 1038m	Von Wittke et al., 1994
Racing Thoroughbreds (46) (Track)	Single step 1000m warm-up (slow trot), 780-960m/min (gallop, speed used in training) for 800m	Davie and Evans, 2000
Racing Thoroughbreds (8) (Track)	Incremental warm up, 3 x 3min: canter, gallop, faster gallop + recovery periods in between	Wolter et al., 1996
Racing Thoroughbreds (Track)	Warm-up trot + fast gallops in the field at velocities of 900-960m/min	Gramkow and Evans, 2006
Racing Thoroughbreds (12) (Track)	A fast exercise training session with max. speeds between 16.7 and 19.4 m/s.	Vermeulen and Evans, 2006
Racing Thoroughbreds (14-26) (Treadmill: 14, Track: 26)	Single step - 600m/min on a 5° inclined treadmill. - 800 m on the track	Evans et al., 1993
Racing Thoroughbreds (5) (Treadmill)	Incremental, run to fatigue 450, 540, 660, 780, 870 m/min at incline 5,2%	Guthrie et al., 1996
Trotting Standardbreds (159, 194*,/) (Track)	Incremental Warm-up (10 min – 300m/min) 3 x 3min with 1 min rest in between 440 to 500 m/min (step 1) + 40 to 80 m/min. each step (age-dependent) *followed over 6 years: 1105 SETs	Courouc�e et al., 1997, 1999, 2002
Trotting Standardbreds (223) (Track)	Incremental Warm-up (10 min – 350m/min) 3 x 3min + 1min rest in between 500 m/min (step 1) + 60 to 90 m/min. each step (age-dependent)	Leleu et al., 2005
Trotting Standardbreds (19) (Track)	Incremental Warm-up (10-15 min walk, slow trot) 4 or more 5 min steps (varying from 360-660m/min) + 3min rest in-between	Lindner, 2009
Trotting Standardbreds (10) (Track)	Incremental 3x3min (last step chosen so HR is slightly above 200 bpm)	Hamlin et al., 2002
Trotting Standardbreds (48) (Track)	Incremental 500, 583, 700 m/min over 1500m with 500m in-between	Van Erck et al., 2006
Trotting Standardbreds (15) (Treadmill)	Incremental no acclimatization - 10min warm up 4x3min at 90-240-420-540 m/min with a 3% slope. 2 min rest in-between	Wolter et al., 1991
Eventing Thoroughbreds (9) (Track)	Incremental warm up, 400, 500, 600 m/min for 1000m + 5 min walking in between	Muñoz et al., 1998
Eventing horses (17) (Track)	Incremental 250, 350, 450 , 600 m/min over 450m + brief periods of walking in between	Serrano et al., 2002
Endurance and riding school horses (12) (Track)	Incremental 1100m at HR of 140,150,160,170 bpm and HRmax. 8min recovery at walk after each step	Sloet.Van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al., 1987
Mixed breeds (12) (Riding arena)	Incremental - Ridden test (60x40m arena): 400m walk, 600m trot, 600m medium canter, 800m fast canter (all on right rein) - Lunging test (circle: 5 or 7m radius): 2 minutes on both left and right rein in walk, trot and canter	Harris et al., 2007
11 Andalusian horses, 9 Arabian horses, 4 Anglo-Arabian horses (Track)	Incremental 250, 333, 420, 500m/min	Riber et al., 1994
Eventing/Showjumping/ Dressage Warmbloods (n=29) (Treadmill – 6% incline)	Incremental Warm-up (30min walk, trot, brief canter), 2 steps at trot (210 m/min for 120s–240 m/min for 90s) 3-5 steps at gallop (360 m/min and increasing with 60m/min each step)	Bitschnau et al., 2010
Endurance horses (17,38) (Track & Treadmill)	Incremental -Track: warm up at walk/trot , canter 27km at 360m/min, 1500m at 450 and 530 m/min + 700m slow trot in-between -Tread mill: warm up (5min walk-5min trot), slope 4%: 3x3min canter: 450-490-540 m/min + 2 min walk in-between	Fraipont et al.,2011 & 2012
Friesian horses (9) (Track)	-SET A: continuous cantering: warm up at walk ,4 minutes of trot at 210m/min followed by 4 minutes of canter at 300m/min -SET B: episodes of cantering : 2 minutes of trot at210m/min, 1 min of canter 300m/min, 1 min trot at 210m/min followed by 1 min of canter at 300m/min. 1 min of walk, 2 minutes of trot at210m/min, 1 min of canter 300m/min, 1 min trot at 210m/min followed by 1 min of canter at 300m/min	Houterman et al., 2015

Table 3. Overview of ideal HR to measure velocity parameters per discipline/breed.

Discipline/ breed	Ideal HR to measure velocity at
Thoroughbred racing	V200
Standardbreds trotting / pacing	V200
Eventing	V140, V170, V200
Show jumping horses	V170
Dressage horses	V140

Standardbreds with superior exercise capacity have a higher V_{la4} or V_{la2} . These are valid parameters to assess the fitness level of standardbreds and their response to training (Wolter et al., 1991; Greppi et al., 1996; Courouce, 1999; Courouce et al., 2002). A negative correlation between V_{la4} and racing time has been found (Lindner, 2009; Greppi et al., 1996), but a similar correlation could not be found for V200 (Lindner, 2009), which is probably due to the fact that heart rate is more easily influenced by for example mental state and physical discomfort and is less trainable than lactate production (Roneus et al., 1999). However, other authors found that both V_{la4} and V200 are correlated with racing performance (Leleu et al., 2005). HR and blood lactic acid responses to submaximal exercise reliably reflect the muscle, cardiovascular and metabolic capacities (Mediane et al., 1997) (Figure 4).

Eventing horses

During eventing, horses run distances up to 6270 m with average speeds of 34.2 km/h and up to 40 obstacles (Serrano et al., 2002; Muñoz et al., 1999). During cross country, horses show heart rates between 170-210 bpm and maximal blood lactic acid concentrations between 8.5 and 38.5 mmol/L (Munsters et al., 2014). These horses are often thoroughbreds or thoroughbred-crossbreeds. Mostly, a 3-to-4-step incremental exercise test protocol is used. An example of a commonly used protocol is: 5-10 minutes warming-up at slow trot and 3-4 times 3 minutes steps at speeds between 21-36 km/h (Hodgson et al., 2014). The most valuable indices of exercise capacity for eventing horses are V140, V170, V200, V_{la4} and heart rate reserve (HRR), which is the difference between HR_{max} and HR at rest after a submaximal SET (Bitschnau et al., 2010; Munsters et al., 2013).

Show jumpers

Show jumping horses gallop aerobically at speeds of 18-27 km/h between each jump with an average HR of 150-190 bpm (Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al., 2006). However, anaerobic pathways provide energy for the jumps, because blood lactic acid concentrations of 9 mmol/l can be achieved (Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al., 2006). Mostly, a similar testing exercise protocol is described for show

jumping horses as for eventing horses (Hodgson et al., 2014). However, show jumping horses don't perform exercise of the same length or intensity as eventers, which often lead to a step duration reduction of three to two minutes, which might lead to not achieving a steady state in HR during the steps. A SET that takes into account several jumps to evaluate technical skills would be even more suitable (Munsters et al., 2014). As mentioned before, V170 is a more appropriate index of performance capacity than V200 as heart rates of 200 bpm have been rarely recorded in jumping horses (Hodgson et al., 2014). V_{la4} has not been correlated to show jumping results and the importance of V_{la4} in show jumpers appears to be less than for instance in standardbred race horses.

Dressage/ riding horses

Dressage requires 4-8 minutes of technically demanding exercises with HRs rarely exceeding 150 bpm, which suggests the energy supply is partly aerobic during submaximal exercises, although individual muscle groups intensely contract during specific dressage movements (Williams et al., 2009). Therefore, dressage horses also need both strength and stamina. There is no specific exercise test to analyze the fitness level of dressage horses.

Submaximal exercises at low canter speed are recommended (Munsters et al., 2014). These can range from incremental exercise tests on the track (Harris et al., 2007), over indoor riding tests (Munsters et al., 2013) to lunging tests. Lunging tests do not require a galloping track nor an experienced rider, and can be easily implemented in a daily training program (Harris et al., 2007). Fitness indices like V140 correspond well and there is a clear correlation between HR and speed (Harris et al., 2007). Future SETs with the incorporation of the technical skills would be even more representative (Munsters et al., 2014). V_{la4} is of less importance in horses in dressage sport than in other disciplines, since these horses use almost no anaerobic metabolism throughout dressage and training (Tables 2 and 3).

DISCUSSION

Proper assessment of the exercise capacity and training response of sport horses is of major impor-

tance for animal welfare. It is well known that when sport horses compete at levels above their exercise capacity, sports injuries are very likely to occur. Each discipline entails that the horse needs to master a specific set of skills and needs to harbor a certain degree of aerobic and/or anaerobic exercise capacity.

In addition to the fact that each sports discipline has its own set of prerequisite performance factors, there is also growing evidence that both horse breed and age have an important impact on these parameters. Therefore, most probably, sports discipline specific SETs that can be adapted for both breed and age will need to be developed.

As illustrated in Table 2, many researchers have been extrapolating results from studies focusing on standardbreds and thoroughbreds to develop possible protocols. However, more and more studies show that this is not a good approach. Show jumping, eventing and dressage are highly important equestrian disciplines, but up till now, very little is known about the energy metabolism of horses performing these disciplines. As mentioned previously, HR and blood lactic acid monitoring in show jumping and dressage horses has revealed that these horses show much lower heart rates and blood lactic acid levels during competition than endurance horses or standardbreds used for trotting. They perform predominantly in the aerobic window, with bouts of acceleration and jumping, covered in the anaerobic window. It is quite challenging to develop SETs that cover all these aspects: checking of skills level versus optimal exercise capacity under the necessary conditions.

In the early days, exercise performance studies were solely executed on treadmills that ensure controlled conditions and thus a high reliability. However, treadmill studies have several disadvantages: horses need to be transported to a facility with a high-speed treadmill, they need to be habituated to the treadmill in order to avoid a bias, e.g. higher HR or blood lactic acid concentrations due to stress-induced adrenaline-release, and extrapolation to the horses' discipline-specific requirements is difficult. Moreover, horses tend to walk differently on a treadmill, which affects energy expenditure during treadmill exercise. Additionally, horses have a different head-neck position on a treadmill, which may influence air flow in the upper airways and thus in the air supply to the lungs. Several studies have shown that caution is warranted when extrapolating results obtained through treadmill exercise to field conditions (Fraipont et al., 2012; Sloet et al., 1988; Valette et al., 1992).

With the coming of more portable measuring devices, performing an exercise capacity study in the field has become quite feasible. More and more studies are being performed in field conditions. The advantage is that the horse performs under realistic, natural conditions, including being ridden or being mounted in the sulky. The disadvantage is that there are many uncontrollable factors, such as different riders/drivers and track differences between yards, but also changes

in weather and track conditions in the same yard over time.

Additionally, several new monitoring devices can be used during SETs, either per telemetric or continuous measurement: telemetric body core temperature monitoring (Green et al., 2005) and continuous glucose or L-glutamate monitoring (Wiedmeyer et al. 2003, Kaimori et al., 2006; Niwa et al., 1998). Their usefulness is still to be examined. Dynamic endoscopic imaging, telemetric electrocardiography, bronchoalveolar lavage and blood analysis before and after exercise are often performed on horses showing poor performance. However, at this moment, exercise tests in horses are mostly limited to the monitoring of velocity, heart rate and lactic acid concentration. For racehorses, field tests on the track seem to be suitable as the goal of their training is to enhance speed and the distance, over which this speed can be maintained. Despite the fact that submaximal, incremental exercise tests seem less valid for sprinters, the parameters derived from these tests (VL4 and to a lesser extent V200) may be correlated with racing performance. Single-step exercise tests with one bout seem more natural, but the results of these tests may not be correlated with racing performance. For other disciplines, such as show jumping or dressage, a simple heart rate-velocity or heart rate-lactate relationship is not sufficient. These disciplines require other skills (coordination, jumping technique) than solely a high aerobic/anaerobic capacity, which is also illustrated by the rather low heart rate recorded during training and competition.

In conclusion, because of the lacking validity of track tests and the high variability between sport disciplines, standardized tests adapted to the specific discipline, including assessment of the horses' technical skills, are to be developed in the future.

REFERENCES

- Allen K., Franklin S. (2016). Exercise testing in the equine athlete. *Equine Veterinary Education* 28, 89-98.
- Bitschnau C., Wiestner T., Trachsel D., Auer J., Weishaupt M. (2010). Performance parameters and post exercise heart rate recovery in Warmblood sports horses of different performance levels. *Equine Veterinary Journal* 42, 17-22.
- Courouce A., (1999). Field exercise testing for assessing fitness in French standardbred Trotters. *Veterinary Journal* 157, 112-122.
- Courouce A., Corde R., Valette J., Cassiat G., Hodgson D., Rose R. (2000). Comparison of some responses to exercise on the track and the treadmill in French trotters: determination of the optimal treadmill incline. *Veterinary Journal* 159, 57-63.
- Couroucé A., Chrétien M., Valette J. (2002). Physiological variables measured under field conditions according to age and state of training in French Trotters. *Equine Veterinary Journal* 34, 91-97.
- Couroucé-Malblanc A., van Erck-Westergren E. (2013).

- Exercise testing in the field. *Equine Sports Medicine and Surgery*. Second Edition, 25-42.
- Davie A., Evans D. (2000). Blood lactate responses to submaximal field exercise tests in thoroughbred horses. *Veterinary Journal* 159, 252-258.
- Dubreucq C., Chatardt J., Courouze A., Auvinet B. (1995). Reproducibility of a standardised exercise test for Standardbred trotters under field conditions. *Equine Veterinary Journal* 27, 108-112.
- Eto D., Yamano S., Hiraga A., Miyata H. (2006). Recruitment pattern of muscle fibre type during flat and sloped treadmill running in Thoroughbred horses. *Equine Veterinary Journal* 38, 349-353.
- Evans D., Harris R., Snow D. (1993). Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in Thoroughbred horses. *Equine Veterinary Journal* 25, 441-445.
- Evans D. (2000). Training and fitness in athletic horses. *Rural Industries Research and Development Corporation Rural Industries Research and Development Corporation Publications*. 00/1
- Evans D. (2007). Physiology of equine performance and associated tests of function. *Equine Veterinary Journal* 39, 373-383.
- Fraipont A., Van Erck E., Ramery E., Richard E., Denoix J. (2011). Subclinical diseases underlying poor performance in endurance horses: diagnostic methods and predictive tests. *Veterinary Record* 169, 154.
- Fraipont A., Van Erck E., Ramery E., Fortier G., Lekeux P., Art T. (2012). Assessing fitness in endurance horses. *Canadian Veterinary Journal* 53, 311-314.
- Franklin S., Allen K. (2014). Laboratory exercise testing. *Equine Sports Medicine and Surgery*. Second Edition, p 11-24.
- Gramkow H., Evans D. (2006). Correlation of race earnings with velocity at maximal heart rate during a field exercise test in Thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal* 36, 118-122.
- Green A., Gates R., Lawrence L. (2005). Measurement of horse core body temperature. *Journal of Thermal Biology* 30, 370-377.
- Greppi G., Casini L. (1996). Correlation racing performance with fitness parameters after exercise tests on treadmill and on track in Standardbred racehorses. *Pferdeheilkunde* 12, 466-469.
- Guthrie A., Lund R., Travers C. (1996). Characterization of a standard exercise to fatigue test in Thoroughbred horses. *Pferdeheilkunde* 12, 463-465.
- Hamlin M., Shearman J., Hopkins W. (2002). Changes in physiological parameters in overtrained Standardbred racehorses. *Equine Veterinary Journal* 34, 383-388.
- Harkins J., Beadle R., Kamerling S. (1993). The correlation of running ability and physiological variables in Thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal* 25, 53-60.
- Harris P., Marlin D., Davidson H., Rodgeron J., Gregory A., Harrison D. (2007). Practical assessment of heart rate response to exercise under field conditions. *Equine Comparative Exercise Physiology* 4, 15-21.
- Hodgson D., Couroucé-Malblanc A. (2014). Clinical exercise testing. *The Athletic Horse*. Second Edition, p 366-374.
- Houterman W. (2015). Monitoring blood lactate and heart rate during two different standardised exercise tests in young Friesian horses. *Masterthesis Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht*.
- Kaimori S., Kitamura T., Ichino M., et al., (2006). Structural development of a minimally invasive sensor chip for blood glucose monitoring. *Analytica chimica acta* 573, 104-109.
- Kobayashi M., Kuribara K., Amada A. (1999) Application of V200 values for evaluation of training effects in the young Thoroughbred under field conditions. *Equine Veterinary Journal* 30, 159-162.
- Leleu C., Cotrel C., Couroucé-Malblanc A. (2005). Relationships between physiological variables and race performance in French Standardbred trotters. *Veterinary Record* 156, 339-342.
- Lindner A. (2009). Relationships between racing times of Standardbreds and v4 and v 200. *Journal of Animal Science* 88, 950-954.
- Mediane V., Science A., Persson S. (1997). Heart rate and blood lactate responses to submaximal treadmill exercise in the normally performing standardbred trotter - age and sex variations and predictability from the total red blood cell volume. *Journal Veterinary Medicine* 44, 125-132.
- Muñoz A., Riber C., Santisteban R., Vivo R., Agüera S., Castejón F. (1998). Investigation of standardized exercise tests according to fitness level for three-day event horses. *Journal of Equine Science* 9, 1-7.
- Muñoz A., Riber C., Santisteban R., Agüera E., Rubio M. (1999). Cardiovascular and metabolic adaptations in horses competing in cross-country events. *Journal Veterinary Medicine Science* 61, 13-20.
- Munsters C., Van Den Broek J., Welling E., Van Weeren R., Van Oldruitenborgh-oosterbaan M. (2013). A prospective study on a cohort of horses and ponies selected for participation in the European Eventing Championship: reasons for withdrawal and predictive value of fitness tests. *BMC Veterinary Research* 9, 1-11.
- Munsters C., van Iwaarden A., van Weeren R., Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M. (2014). Exercise testing in Warmblood sport horses under field conditions. *Veterinary Journal* 202, 11-19.
- Niwa O., Horiuchi T., Kurita R., et al. (1998). Microfabricated on-line sensor for continuous monitoring of l-glutamate. *Analytical Sciences* 14, 947-953.
- Riber C., Castejon F., Rubio D., Tovar P., Vinuesa M. (1994). A comparative study of aerobic capacity and fitness in three different horse breeds (Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian). *Journal of Veterinary Medicine* 41, 645-652.
- Roneus N., Lindholm A., Essen-Gustavsson B., Persson S. (1999). Muscle characteristics and plasma lactate and ammonia response after racing in Standardbred trotters: relation to performance. *Equine Veterinary Journal* 31, 170-173.
- Seeherman H., Morris E. (1990). Methodology and repeatability of a standardised treadmill exercise test for clinical evaluation of fitness in horses. *Equine Veterinary Journal* 22, 20-25.
- Serrano M., Evans D., Hodgson J. (2002). Heart rate and blood lactate responses during exercise in preparation for eventing competition. *Equine Veterinary Journal Supplements* 34, 135-139.
- Sloet Van Oldruitenborg-Oosterbaan M, Wensing T., Breukink H. (1987). Standardized exercise test on a track to evaluate fitness and training of saddle horses. *ICEEP Conference*.
- Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M., van den Hoven R., Breukink H. (1988). The accuracy of three different

- heart rate meters used for studies in the exercising horse. *Journal Veterinary Medicine* 35, 665-672.
- Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan M., Spiereburg A., Van den Broek E. (2006). The workload of riding-school horses during jumping. *Equine Veterinary Journal* 38, 93-97.
- Valette J., Barrey E., Auvinet B., Galloux P., Wolter R. (1992). Comparison of track and treadmill exercise tests in saddle horses: a preliminary report. *Annales de Zootechnie* 41, 129-135.
- Van Erck E., Jakesova V., Lekeux P., Art T. (2006) Field evaluation of poor performance in Standardbred trotters. *Pferdeheilkunde* 22, 625-631.
- Van Erck E., Votion DM., Serteyn D., Art T. (2007). Evaluation of oxygen consumption during field exercise tests in Standardbred trotters *Equine and Comparative Exercise Physiology* 4, 43-49.
- Vermeulen A., Evans D. (2006). Measurements of fitness in Thoroughbred racehorses using field studies of heart rate and velocity with a global positioning system. *Equine Veterinary Journal* 36, 113-117.
- Von Wittke P., Deegen E., Lidner A., Ommer H. (1994). Effects of training on blood lactate-running in thoroughbred racehorses speed relationship. *Journal of Applied Physiology* 77, 298-302.
- Williams R., Chandler R., Marlin D. (2009). Heart rates of horses during competitive dressage. *Comparative Exercise Physiology* 6, 7-15.
- Wiedmeyer C., Johnson P., Cohn L., et al. (2003). Evaluation of a continuous glucose monitoring system for use in dogs, cats, and horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223.7, 987-992.
- Wolter R., Valette J., Barrey E. (1991). Multivariate analysis of exercise parameters measured during an incremental treadmill test. *Equine Exercise Physiology* 3, 337-342.
- Wolter R., Valette J., Heiles P. (1996). Multivariate analysis of exercise parameters measured during the training of Thoroughbred racehorses. *Pferdeheilkunde* 12, 470-473.

Uit het verleden

B3 ADVERTENTIE Zuid-Vlaanderen. Editie 3
3 juni 1976. VIIIe jg. nr. 23, blz. 5

Na een leven vol trouwe dienstbaarheid

+

't PEERD VAN KETELS

Geboren te Heule op 26 mei 1904 en roemrijk gesneuveld in de tromfante-
lijke Fruitstet te Kortrijk op 23 mei 1976 te 16.30 u. in de Pilselsestraat. alle
hulp en bijstand van de omstaanders mocht niet baten.



Dit meiden u met tedere gela-
tenheid Noel en Bertha en
schikken zich vol overgave in dit
pijnlijk verlies.
Alle vrienden en kennissen
worden uitgenodigd tot de
plechtige uitvaart op zaterdag 5
juni te 17 u.

Uitdeling van gratis fruit bij de offegang

Het lijk zal verast worden onmiddellijk na de plechtigheid op de binnen-
koeren van de Globe. Veemarkt te Kortrijk

Dit bericht geldt als erige kennisgeving
Noch bloemen noch kransen.

Voorkomen van gastrale helicobacters in speeksel en feces van honden en katten

Presence of gastric Helicobacter spp. in feces and saliva from dogs and cats

H. Berlamont, M. Joosten, R. Ducatelle, *F. Haesebrouck, *A. Smet

Vakgroep Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Helena.Berlamont@UGent.be
Annemieke.Smet@UAntwerpen.be
* shared senior authorship

SAMENVATTING

In de maag van meer dan de helft van de honden en katten worden *Helicobacter*-bacteriën aangetroffen, zowel bij dieren zonder klinische tekens als bij dieren met chronische maagproblemen. Deze bacteriën kunnen tevens ernstige maagpathologieën veroorzaken bij de mens. Hoe gastrale helicobacters overgedragen worden tussen dieren en van dieren naar mensen is nog niet volledig opgehelderd, maar er wordt gesuggereerd dat direct contact een rol kan spelen. Om na te gaan of speeksel en feces zouden kunnen fungeren als bron van transmissie, werd de aanwezigheid nagegaan van gastrale *Helicobacter*-species in orale swabs en feces van honden en katten.

In deze studie werden 155 speekselstalen en 141 fecesstalen verzameld van 106 honden en 58 katten. Van 22 honden werd bovendien een maagbiopt verzameld om na te gaan of de *Helicobacter*-species aanwezig in het speeksel en/of de feces ook terug te vinden zijn in de maag van deze dieren. Alle stalen werden onderzocht op het voorkomen van *Helicobacter*-DNA via species-specifieke qPCRs en sequentieanalysebepalingen van de bekomen amplicons.

Bij 43% van de honden en 41% van de katten werden één of meer positieve stalen gevonden. *Helicobacter*-species werden gedetecteerd in 29% van de speekselstalen, 37% van de fecesstalen en 41% van de maagbiopten. Bovendien bleek dat honden en katten met meer dan één *Helicobacter*-species tegelijkertijd geïnfecteerd konden zijn. Er kon echter geen duidelijke correlatie aangetoond worden tussen de aanwezigheid van een bepaalde *Helicobacter*-species in de maag van honden en de detectie ervan in hun speeksel en feces. De hier gebruikte testen lieten evenmin toe om na te gaan of het gedetecteerde DNA afkomstig was van leefbare *Helicobacter*-kiemen. Bijkomende studies zijn bijgevolg noodzakelijk om het belang van speeksel en feces als besmettingsbron voor andere dieren en mensen met gastrale *Helicobacter*-species te bevestigen.

ABSTRACT

Gastric *Helicobacter* species are present in the stomach of more than 50% of dogs and cats. These bacteria have also been associated with severe gastric pathologies in humans. The route of transmission between pets and from pets to humans remains unclear, but it has been suggested that direct contact might play a role. In order to determine whether transfer might occur through contact with saliva and feces, the presence of *Helicobacter* DNA was determined in oral swabs and feces of dogs and cats.

In this study, 155 saliva samples and 141 fecal samples were collected from 106 dogs and 58 cats. From 22 dogs, a gastric biopsy sample was also collected, aiming to investigate whether the same *Helicobacter* species found in saliva and/or feces could also be detected in the stomach of these animals. All samples were screened for the presence of DNA from gastric *Helicobacter* species associated with dogs and cats, using species-specific qPCRs and amplicon sequencing.

In 43% of the dogs and 41% of the cats, one or more positive samples were found. *Helicobacter* DNA was detected in 29% of the saliva samples, 37% of the fecal samples and 41% of the gastric biopsies. Several dogs and cats were infected with more than one *Helicobacter* species. No clear correlation between the presence of a *Helicobacter* species in the stomach of dogs and the detection of this species in their saliva and/or feces was shown. Moreover, the present study did not allow to determine whether the detected *Helicobacter* DNA originated from viable *Helicobacter* bacteria, highlighting the need of additional studies in order to determine the importance of saliva and feces in transfer of these gastric *Helicobacter* species between animals and from animals to humans.

INLEIDING

Helicobacter spp. zijn gramnegatieve, microaërofiële bacteriën die het gastro-intestinale stelsel van zowel zoogdieren als vogels kunnen koloniseren. Sommige van deze bacteriën zijn gastheerspecifiek, terwijl andere er een brede waaier van reservoirs op nahouden (Whary en Fox, 2004). Gastrale *Helicobacter*-species kunnen de maag van mens en dier koloniseren (Haesebrouck et al., 2011). *H. pylori* is de meest bekende gastrale *Helicobacter*-species die van nature de maag van de mens koloniseert en geassocieerd wordt met gastritis, maagulcera, adenocarcinoma en mucosageassocieerde, lymfoïd weefsel (MALT) lymfomen (Haesebrouck et al., 2009). Naast *H. pylori* zijn er ook andere gastrale *Helicobacter*-species die ziekte bij de mens kunnen veroorzaken. Deze diergerelateerde, niet-*H. pylori*-helicobacters (NHPH) zijn lange, spiraalvormige bacteriën, terwijl *H. pylori* meestal de vorm heeft van een licht gebogen staafje. NHPH worden bij de mens geassocieerd met gastritis, maagulcera en MALT-lymfomen van de maag (McNulty et al., 1989; Haesebrouck et al., 2009, 2011). Vroeger werden ze aangeduid als *H. heilmannii* type 1 en 2 op basis van verschillen in de nucleotidesequentie van de *16S* en *23S rRNA*-genen (Solnick et al., 1993; Haesebrouck et al., 2009). *H. heilmannii*-type 1 is evenwel identiek aan *H. suis*. Dit zoönotisch agens komt voornamelijk voor bij varkens en apen (De Grootte et al., 1999; Haesebrouck et al., 2009; Bosschem et al., 2016). Het vroegere *H. heilmannii*-type 2 omvat een groep van verschillende bacteriële species die de maag van honden en katten kan koloniseren. Een overzicht wordt gegeven in Tabel 1. Voor het aanduiden van gastrale NHPH wordt soms de term *H. heilmannii* sensu lato gebruikt, terwijl *H. heilmannii* sensu stricto (s.s.) betrekking heeft op de in 2011 beschreven species *H. heilmannii* (Haesebrouck et al., 2011). Verder in dit artikel wordt de taxonomisch correcte naam *H. heilmannii* enkel gebruikt om de species *H. heilmannii* s.s. aan te duiden. Van de in Tabel 1 vermelde gastrale NHPH werden tot op heden enkel *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis* en *H. heilmannii* aangetoond bij de mens.

De analyse van het *16S rRNA*-gen wordt frequent gebruikt voor de detectie van gastrale helicobacters. De sequentie van dit gen laat echter niet toe om on-

derscheid te maken tussen de *Helicobacter*-species van honden en katten. Bijgevolg worden deze microorganismen meestal van elkaar onderscheiden op basis van verschillen in de nucleotidesequentie van de *ureAB*-genen (Haesebrouck et al., 2011). Het is opmerkelijk dat de recent beschreven species, *H. ailurogastricus*, niet kan gedifferentieerd worden van zijn nauwste verwant, *H. heilmannii*, op basis van de *ureAB*-genesequenties. Joosten et al. (2015) differentieerden deze species aan de hand van de vergelijking van volledige genoomsequenties. Voor differentiatie tussen deze twee species kunnen onder andere de sequenties van het *iceA*- en *lpsA*-gen gebruikt worden.

NHPH komen zeer frequent voor (> 50%) bij honden en katten, zowel bij dieren zonder ziekte tekens als bij dieren met chronische maagdarmklachten (Neiger en Simpson, 2000; Amorim et al., 2014). Vaak gaat het hier om menginfecties met verschillende *Helicobacter*-species (Van den Bulck et al., 2005; Haesebrouck et al., 2009). De meest voorkomende helicobacters bij honden zijn *H. bizzozeronii*, *H. felis* en *H. salomonis*. Bij katten treft men vooral *H. felis* en *H. heilmannii* aan (Haesebrouck et al., 2009). De prevalentie van *H. cynogastricus*, *H. baculiformis* en *H. ailurogastricus* bij deze dieren is momenteel niet bekend. Over de pathogene betekenis van gastrale helicobacters bij honden en katten is er nog veel onduidelijkheid en niet alle *Helicobacter*-species zijn even virulent. Zo werd bijvoorbeeld aangetoond dat *H. heilmannii* pathogener is dan *H. ailurogastricus* (Joosten et al., 2015). Allicht kan er ook variatie in virulentie optreden tussen verschillende stammen die behoren tot eenzelfde *Helicobacter*-species (Haesebrouck et al., 2009).

NHPH worden aangetoond in maagbiopsieën van 0,2-6% van mensen met maagklachten (Baele et al., 2009; Bento-Miranda en Figueiredo, 2014). Dit is allicht een onderschatting. De diagnose van deze infecties is namelijk niet eenvoudig, onder andere omdat ze, in tegenstelling tot *H. pylori*, de maag van de mens zeer focaal koloniseren. Bij het nemen van een biopsie is de kans dan ook reëel dat het staal genomen wordt op een plaats waar de kiem zich niet bevindt (Heilmann en Borchard, 1991; Haesebrouck et al., 2009; Bento-Miranda en Figueiredo, 2014; Blaecher et al., 2016).

Er zijn duidelijke aanwijzingen dat gezelschapsdieren kunnen fungeren als bron voor maaginfecties

Tabel 1. Gastrale *Helicobacter*-species bij hond en kat (Haesebrouck et al., 2009; 2011; Joosten et al., 2013; 2015).

Species	Natuurlijke gastheer	Zoönotisch potentieel
<i>H. felis</i>	Hond en kat	Ja
<i>H. heilmannii</i>	Hond en kat	Ja
<i>H. ailurogastricus</i>	Hond en kat	Onbekend
<i>H. bizzozeronii</i>	Hond en kat	Ja
<i>H. salomonis</i>	Hond en kat	Ja
<i>H. baculiformis</i>	Kat	Onbekend
<i>H. cynogastricus</i>	Hond	Onbekend

met deze bacteriën bij de mens. Hoe de NHPH van hond en kat in de maag van de mens kunnen terechtkomen, is nog niet volledig opgehelderd, maar er wordt gesuggereerd dat de overdracht door direct contact, zoals via het speeksel en/of de feces kan gebeuren (Haesebrouck et al., 2009; Recordati et al., 2007).

In de huidige studie werd nagegaan in welke mate DNA van zoönotische NHPH van hond en kat (*H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. heilmannii*) terug te vinden is in het speeksel en de feces van deze dieren. Hoewel voor *H. ailurogastricus* nog geen zoönotisch potentieel kon worden aangetoond, werd ook de aanwezigheid van deze species in speeksel en feces onderzocht en dit om een idee te krijgen van de prevalentie bij deze dieren. Daarnaast werd er ook nagegaan of er een verband is tussen de aanwezigheid van NHPH in de maag van deze dieren en de aanwezigheid van deze species in hun speeksel en feces.

MATERIAAL EN METHODEN

Staalname

Speeksel- en fecesstalen werden verzameld van 106 honden en 58 katten. De speekselstalen werden bekomen door gebruik te maken van droge swabs. De feces werd telkens vers genomen na spontane defecatie. De leeftijd van deze dieren varieerde tussen 2 maanden en 16 jaar (gemiddeld 6 jaar). De dieren waren afkomstig uit België, Nederland, Duitsland en Frankrijk. De eigenaars van de betreffende honden stemden in het onderzoek toe. De 106 honden konden onderverdeeld worden in 23 proefhonden (beagles van de Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Merelbeke, België) en 83 gezelschapshonden. Eén van de proefhonden en 37 gezelschapshonden vertoonden gastro-intestinale stoornissen. Bij 22 gezelschapshonden met maagproblemen werd er naast

een speeksel- en/of fecesstaal ook een maagbiopt genomen via gastroscopie. Deze dieren worden verder ‘gastroscopiehonden’ genoemd. De biopten werden genomen ter hoogte van het corpus of de fundus van de maag aangezien *Helicobacter* spp. bij de hond predilectie vertonen voor de pariëtale cellen van de fundus en corpus van de maag (Happonen et al., 1996; Lanzoni et al., 2011). Tijdens het verloop van dit onderzoek was er bij geen enkele kat een diagnostische gastroscopie nodig, waardoor geen maagbipten van katten verkregen werden. De 58 katten die deelnamen aan dit onderzoek waren zowel strikte binnenhuis-katten (20) als katten die regelmatig buiten kwamen (38). Achttien katten vertoonden op het ogenblik van de staalname symptomen die gerelateerd kunnen zijn met gastritis, maagulcera en/of maagneoplasië

Alle stalen werden bewaard bij -20°C in afwachting van verdere analyse.

DNA-extractie en *Helicobacter*-species-specifieke kwantitatieve PCRs (qPCRs)

Voor DNA-extractie uit de verzamelde stalen werd er gebruik gemaakt van verschillende commerciële extractiekits volgens de richtlijnen van de producent. Voor speekselstalen was dit PrepMan® Ultra lysebuffer (Applied Biosystems, Woolston Warrington, UK), voor fecesstalen QIAamp® DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Venlo, Nederland) en voor de maagbipten ISOLATE II Genomic DNA Kit (Bioline, Luchentalde, Duitsland).

Vervolgens werd het DNA geanalyseerd met behulp van *Helicobacter*-species-specifieke qPCR's. Een overzicht van de gebruikte primers en de gedetecteerde genen wordt gegeven in Tabel 2. Per staal werd 1 µl DNA-template toegevoegd aan de PCR-mix tot een eindvolume van 10 µl. Alle stalen werden in het dubbel getest en per *Helicobacter*-species werd er een standaardreeks, gaande van 10¹⁰ kopieën/µl tot

Tabel 2. Primers gebruikt voor realtime PCR.

<i>Helicobacter</i> -species	Primers (fw = forward, rv = reverse) (5'-3')	Gedetecteerd gen en lengte van het geamplificeerde fragment (baseparen)
<i>H. heilmannii</i>	fw: GTT TCC AAC CAA AAG ACT CA rv: ATT GCC TAG AGG TTG TGT TG	<i>iceA</i> -gen 135 bp
<i>H. ailurogastricus</i>	fw: CTT GAG TAC GGC GAT GTC AAT rv: GGG GAA AAA TGT GCT TGA AGT	<i>lpsA</i> -gen 136 bp
<i>H. felis</i>	fw: gCT ggT ggC ATC gAT ACg CAT rv: TTT TTA gAT Tag CgC gTC Cgg gA	deel van de <i>ureAB</i> - gencluster 154 bp
<i>H. bizzozeronii</i>	fw: CCA ACA AAT CCC CAC AgC ATT TgC Cag rv: AgT CCC ATC AgC Wgg WCC TgT TCC CCC	deel van de <i>ureAB</i> - gencluster 76 bp
<i>H. salomonis</i>	fw: CTC TTA TgA gTT ggA CTT ggT gCT CAC CAA rv: TTT gCC ATC TTT ATT TCC AAT gTC ggC	deel van de <i>ureAB</i> - gencluster 91 bp

Tabel 3. Primers gebruikt ter bereiding van de standaardreeks.

<i>Helicobacter</i> - species	Primers (fw = forward, rv = reverse) (5'-3')	Geamplificeerde genfragment + lengte (baseparen)
<i>H. heilmannii</i> s.s.	fw: GTG AGC AGC GAA TTT AAA GGG CAG TAT G rv: GTT TGG CTG TAA GTC TAA GTC CAC TTG	<i>iceA</i> -gen 551 bp
<i>H. ailurogastricus</i>	fw: CGA TCA AAG ATC GGG TGA AT rv: CCA TTA AGG GGT GCT TGA AA	<i>lpsA</i> -gen 405 bp
<i>H. felis</i>	fw: GCK GAW TTG ATC CAA GAA GG rv: CTT CGT GRA TTT TAA RRC CAA T	deel van <i>ureAB</i> - gencluster 1228 bp
<i>H. bizzozeronii</i>	fw: GCK GAW TTG ATG CAA GAA GG rv: CTT CGT GRA TTT TAA RRC CAA T	deel van <i>ureAB</i> - gencluster 1230 bp
<i>H. salomonis</i>	fw: GCK GAW TTG ATG CAA GAA GG rv: CTT CGT GRA TTT TAA RRC CAA T	deel van <i>ureAB</i> - gencluster 1224 bp

en met 10^0 kopieën/ μ l, meegenomen om het aantal kopieën in de onbekende stalen te bepalen. De genfragmenten die gebruikt werden voor het maken van de standaardreeks alsook de primers voor amplificatie van deze genfragmenten worden weergegeven in Tabel 3. Het totale reactiemengsel werd vervolgens in de realtime thermocycler (CFX96™ Real-Time cyler, Bio-Rad) geplaatst. Tenslotte werden de bekomen data verwerkt met behulp van de Bio-Rad CFX Manager (versie 1.1.308.1111) software en weergegeven in een curve als fluorescentie (RFU) ten opzichte van het aantal cycli om zo het kiemaantal in de speekselstalen, fecesstalen en maagbiopten te bepalen. Ter bevestiging werden de positieve qPCR-amplicons ook onderworpen aan “sanger sequencing”.

RESULTATEN

Detectie van *Helicobacter* spp. in het speeksel, de feces en de maag van honden en katten

In totaal werd er bij 70 dieren, waarvan 46 van de 106 honden (43%) (7 proefhonden, 28 gezelschapshonden en 11 gastroscopiehonden) en 24 van de 58 katten (41%), DNA van één of meerdere *Helicobacter*-species aangetroffen in het speeksel en/of de feces en/of het maagbiopt. In 29% van de speekselstalen, 37% van de fecesstalen en 41% van de maagbiopten konden één of meerdere *Helicobacter*-species gevonden worden. *H. salomonis*, gevolgd door *H. felis* en *H. ailurogastricus* waren zowel bij de honden als bij de katten de drie meest gedetecteerde *Helicobacter*-species. Daarnaast werd bij de honden ook nog *H. bizzozeronii* gedetecteerd en bij de katten *H. heilmannii*. Deze laatstgenoemde *Helicobacter*-species kon slechts één keer bij de hond aangetoond worden, en dit enkel in het speeksel. In totaal werd bij 8% (9/106) van de honden en 10% (6/58) van de katten DNA van meer dan één *Helicobacter*-species gevonden.

Wanneer gekeken werd naar honden en/of katten die samenleefden in één huishouden, kon geen hoger procent positieve dieren vastgesteld worden dan bij honden of katten die als enig huisdier gehouden werden (data niet getoond). In 6 van de 30 huishoudens met meerdere honden/katten kon bij twee dieren dezelfde *Helicobacter*-species gedetecteerd worden.

Correlatie tussen de aanwezigheid van *Helicobacter*-species in de maag en in de feces en het speeksel

Uit de analyse van de DNA-stalen bleek er niet steeds een verband te zijn tussen de aanwezigheid van een *Helicobacter*-species in de maag en de detectie ervan in het speeksel en/of de feces van honden. De gedetecteerde aantallen *Helicobacter*-kiemen in speeksel (gemiddeld 3 kiemen/ μ l) en feces (gemiddeld 6 kiemen/mg) waren bovendien vaak zeer laag, zeker in vergelijking met de gedetecteerde aantallen in de maagbiopten (gemiddeld $5,60 \times 10^5$ kiemen/mg). Bij slechts 2 van de 11 honden werd dezelfde *Helicobacter*-species (*H. salomonis*) gevonden in zowel het speekselstaal, maagbiopt als het fecesstaal. Vier keer, en dit bij drie verschillende honden, werd dezelfde *Helicobacter*-species aangetoond in het speeksel en maagbiopt, maar niet in de feces: twee keer *H. salomonis*, één keer *H. ailurogastricus* en één keer *H. felis*. Bij één van deze laatste honden kon dezelfde *Helicobacter*-species (*H. salomonis*) in feces en maagbiopt gedetecteerd worden, maar dit species werd niet in het speeksel gevonden.

DISCUSSIE

In deze studie werd nagegaan in hoeverre *Helicobacter*-DNA kan gevonden worden in speeksel en feces van honden en katten om op die manier een beter inzicht te verwerven in mogelijke transmissiewegen tussen dieren onderling en tussen dieren en de mens.

Een groot deel van de honden en katten bleek draager te zijn van één of meerdere *Helicobacter*-species. Dit bevestigt dat deze kiemen frequent voorkomen bij deze dieren en dat het hier vaak menginfecties met verschillende species betreft (Van den Bulck et al., 2005).

Bij de 22 honden waarvan een maagbiopt beschikbaar was, werden de *Helicobacter* spp. die aangetoond werden in de maag niet altijd teruggevonden in hun secreta/excreta (speeksel/feces). Een van de mogelijke verklaringen hiervoor is een intermitterende excretie van deze helicobacters, waardoor deze micro-organismen bij een eenmalige staalname kunnen gemist worden. Dit werd bevestigd door de resultaten van een opvolgstudie bij katten, waarbij er van vier katten gedurende één week dagelijks speeksel- en fecesstalen verzameld werden en waarbij er inderdaad een intermitterende excretie kon aangetoond worden (niet-gepubliceerde data). Ook bij de mens werd een intermitterende excretie van *H. pylori* DNA in de feces beschreven (Watanabe et al., 1998). Het is ook mogelijk dat het DNA van de gastrale helicobacters reeds sterk gedegradeerd was in de feces, zoals eerder beschreven (Monteiro et al., 2001). Dit kan interfereren met de detectie ervan door middel van qPCR. Een derde mogelijke verklaring is de ongelijke distributie van helicobacters in het speeksel, de feces en de maag in combinatie met de kleine hoeveelheden staal die gebruikt worden voor DNA-extractie. Als het staal net genomen werd op de plaats waar er zich geen helicobacters bevonden, kan dit leiden tot een valsnegatief resultaat. De onregelmatige verspreiding van diergerelateerde *Helicobacter*-species in de maag werd reeds aangetoond, zowel bij mens als dier (Debongnie et al., 1995; Hilzenrat et al., 1995; Takemura et al., 2009).

Niet alle *Helicobacter*-species blijken even frequent voor te komen bij de hond en kat. Zo is het opvallend dat *H. heilmannii* in deze studie slechts één keer gedetecteerd werd bij de hond, en dit enkel in het speeksel en niet in de maag. Deze *Helicobacter*-species zou dus eerder katten dan honden prefereren als reservoir. In eerder PCR-gebaseerd onderzoek van maagbiopten werd beschreven dat *H. salomonis* slechts zelden voorkomt bij honden en katten en dat *H. bizzozeronii* de meest voorkomende *Helicobacter*-species is bij de hond, terwijl dit voor de kat *H. felis* en *H. heilmannii* zijn (Van den Bulck et al., 2005; Haesebrouck et al., 2009). In de huidige studie bleek *H. salomonis*, gevolgd door *H. felis* en *H. ailurogastricus* de meest voorkomende *Helicobacter*-species te zijn bij zowel de hond als de kat. *H. bizzozeronii* bleek in deze studie slechts de vierde meest voorkomende species te zijn bij de hond. Er moet echter rekening mee gehouden worden dat in deze studie de prevalentiecijfers gebaseerd zijn op de totale detectie in speeksel, maag en feces. Indien enkel de maagbiopten van de honden uit deze studie in rekening worden gebracht, blijken honden het vaakst geïnfecteerd met *H.*

salomonis, gevolgd door *H. ailurogastricus*, *H. bizzozeronii* en *H. felis*.

Het is belangrijk om te benadrukken dat in deze studie enkel *Helicobacter*-DNA werd aangetoond. De aanwezigheid van DNA geeft geen uitsluitel wat betreft de leefbaarheid van de aanwezige kiemen. Bovendien waren de gedetecteerde aantallen in speeksel en feces vaak zeer laag. Het is niet bekend hoeveel kiemen nodig zijn om de mens te infecteren. Bij rhesusapen werd aangetoond dat een infectiedosis van minstens 10^4 *H. pylori*-kiemen nodig is (Solnick et al., 2001). Dezelfde minimale infectiedosis werd ook vastgesteld bij muizen die geïnoculeerd werden met *H. suis* (Blaecher et al., 2016). Bijkomende studies zijn noodzakelijk om na te gaan of de gedetecteerde *Helicobacter*-kiemen in speeksel en feces wel leefbaar zijn. Om de leefbaarheid aan te tonen kan bijvoorbeeld een EMA- (ethidium monoazide) of PMA- (propidium monoazide) behandeling uitgevoerd worden, voorafgaand aan de qPCR. Dit laat toe om enkel levende kiemen te kwantificeren. Deze techniek werd reeds succesvol toegepast om leefbare *H. suis*-bacteriën in varkensvlees op te sporen (De Cooman et al., 2013).

Als besluit kan gesteld worden dat zowel in speeksel als feces van honden en katten frequent lage hoeveelheden DNA van gastrale *Helicobacter*-species kunnen worden aangetroffen. Verder onderzoek is nodig om de betekenis hiervan voor de volksgezondheid na te gaan.

REFERENTIES

- Amorim I., Freitas D.P., Magalhães A., Faria F., Lopes C., Faustino A.M., Smet A., Haesebrouck F., Reis C.A., Gärtner F. (2014). A comparison of *Helicobacter pylori* and non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* spp. Binding to canine gastric mucosa with defined gastric glycophenotype. *Helicobacter* 19, 249-259.
- Amorim I., Smet A., Alves O., Teixeira S., Saraiva A.L., Tulescu M., Reis C., Haesebrouck F., Gärtner F. (2015). Presence and significance of *Helicobacter* spp. in the gastric mucosa of Portuguese dogs. *Gut Pathogens* 7,12.
- Baele M., Pasmans F., Flahou B., Chiers K., Ducatelle R., Haesebrouck F. (2009). Non-*Helicobacter pylori* helicobacters detected in the stomach of humans comprise several naturally occurring *Helicobacter* species in animals. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 55, 306-313.
- Bento-Miranda M., Figueiredo C. (2014). *Helicobacter heilmannii* sensu lato: An overview of the infection in humans. *World Journal of Gastroenterology* 20, 17779-17787.
- Blaecher C., Bauwens E., Tay A., Peters F., Dobbs S., Dobbs J., Charlett A., Ducatelle R., Haesebrouck F., Smet A. (2016). A novel isolation protocol and probe-based RT-PCR for diagnosis of gastric infections with the zoonotic pathogen *Helicobacter suis*. *Helicobacter*. 2016;00:e12369. doi:10.1111/hel.12369.
- Bosschem I., Flahou B., Bakker J., Heuvelman E., Langer-

- mans J.A.M., De Bruybe E., Joosten M., Smet A., Ducatelle R., Haesebrouck F. (2016). Comparative virulence of *in vitro* cultures primate- and pig-associated *Helicobacter suis* strains in a BALB/c mouse and Mongolian gerbil model. *Helicobacter*, in press.
- Debonnie J.C., Donnay M., Mairesse J. (1995). *Gastrospirillum hominis* ("*Helicobacter heilmanni*"): a cause of gastritis, sometimes transients, better diagnosed by touch cytology? *The American Journal of Gastroenterology* 90, 411-416.
- De Cooman L., Flahou B., Houf K., Smet A., Ducatelle R., Pasmans F., Haesebrouck F. (2013). Survival of *Helicobacter suis* bacteria in retail pig meat. *International Journal of Food Microbiology* 166, 164-167.
- De Groote D., van Doorn L.-J., Ducatelle R., Verschuuren A., Haesebrouck F., Quint W.G.V., Jalava K., Vandamme P. (1999). '*Candidatus Helicobacter suis*', a gastric helicobacter from pigs, and its phylogenetic relatedness to other gastrospirilla. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49, 1769-1777.
- Gombač M., Švara T., Černe M., Pogačnik M. (2010). Histological changes in stomachs of apparently healthy dogs infected with *Helicobacter*. *Acta Veterinaria* 60, 173-182.
- Haesebrouck F., Pasmans F., Flahou B., Chiers K., Baele M., Meyns T., Decostere A., Ducatelle R. (2009). Gastric Helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. *Clinical Microbiology* 22, 202-223.
- Haesebrouck F., Pasmans F., Flahou B., Smet A., Vandamme P., Ducatelle R. (2011). Non-*Helicobacter pylori Helicobacter* species in the human gastric mucosa: a proposal to introduce the terms *H. heilmannii* sensu lato and sensu stricto. *Helicobacter* 16, 339-340.
- Happonen I., Saari S., Castren L., Tyni O., Hänninen M.-L., Westermarck E. (1996). Occurrence and topographical mapping of gastric *Helicobacter*-like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cats. *Zentralblatt für Veterinärmedizin* 43 (5), 305-315.
- Heilmann K.L., Borchard F. (1991). Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological, and ultrastructural findings. *Gut* 32, 137-140.
- Hilzenrat N., Lamoreux E., Weintrub I., Alpert E., Lichter M., Alpert L. (1995). *Helicobacter heilmannii*-like spiral bacteria in gastric mucosal biopsies. Prevalence and clinical significance. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 119, 1149-1153.
- Joosten M., Blaecher C., Flahou B., Ducatelle R., Haesebrouck F., Smet A. (2013). Diversity in bacterium-host interactions within the species *Helicobacter heilmannii* sensu stricto. *Veterinary Research* 44, 65.
- Joosten M., Lindén S., Rossi M., Chin Yen Tay A., Skoog Z., Padra M., Peters F., Perkins T., Vandamme P., Van Nieuwerburgh F., D'Herde K., Van den Broeck W., Flahou B., Deforce D., Ducatelle R., Marshall B., Haesebrouck F., Smet A. (2015). Divergence between the highly virulent zoonotic pathogen *Helicobacter heilmannii* and its closest relative, the low-virulence "*Helicobacter ailurogastricus*" sp. nov. *Infection and Immunity* 84, 293-306.
- Lanzoni A., Faustinelli I., Cristofori P., Luini M., Simpson K.W., Scanziani E., Recordati C. (2011). Localization of *Helicobacter* spp. in the fundic mucosa of laboratory Beagle dogs: an ultrastructural study. *Veterinary Research* 42, 42.
- Malik R., Love D.N. (1989). The isolation of *Campylobacter jejuni/coli* from pound dogs and canine patients in a veterinary hospital. *Australian Veterinary Practitioner* 19, 16-18.
- McNulty C.A.M., Dent J.C., Curry A., Uff J.S., Ford G.A., Gear M.W., Wilkinson S.P. (1989). *Journal of Clinical Pathology* 42, 585-591.
- Monteiro L., Gras N., Vidal R., Cabrita J., Mégraud F. (2001). Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human feces by PCR: DNA stability and removal of inhibitors. *Journal of Microbiological Methods* 45 (2), 89-94.
- Neiger R., Simpson K.W. (2000). *Helicobacter* infection in dogs and cats: facts and fiction. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14, 125-133.
- Recordati C., Gualdi V., Tosi S., Facchini R.V., Pengo G., Luini M., Simpson K.W., Scanziani E. (2007). Detection of *Helicobacter* spp. DNA in the oral cavity of dogs. *Veterinary Microbiology* 119, 346-351.
- Smet A., Pasmans F., Flahou B., D'herde K., Vandamme P., Cleenwerck I., Ducatelle R., Haesebrouck F. (2012). *Helicobacter heilmannii* sp. nov., isolated from feline gastric mucosa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62, 299-306.
- Solnick J.V., O'Rourke J., Lee A., Paster B.J., Dewhirst F.E., Tompkins L.S. (1993). An uncultured gastric spiral organism is a newly identified *Helicobacter* in humans. *Journal of Infectious Diseases* 168, 379-385.
- Solnick J.V., Hansen L.M., Canfield D.R., Parsonnet J. (2001). Determination of the infectious dose of *Helicobacter pylori* during primary and secondary infection in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Infection and Immunity* 69, 6887-6892.
- Tabrizi A.S., Jamshidi S., Oghalaei A., Salehi T.Z., Eshkaf-taki A.B., Mohammadi M. (2010). Identification of *Helicobacter* spp. in oral secretions vs. gastric mucosa of stray cats. *Veterinary Microbiology* 140, 142-146.
- Takemura L.S., Camargo P.L., Alfieri A.A., Bracarense A.P.F.R.L. (2009). *Helicobacter* spp. in cats: association between infecting species and epithelial proliferation within the gastric lamina propria. *Journal of Comparative Pathology* 141, 127-134.
- Van den Bulck K., Decostere A., Baele M., Driessen A., Debonnie J.-C., Burette A., Stolte M., Ducatelle R., Haesebrouck F. (2005). Identification of Non-*Helicobacter pylori* spiral organisms in gastric samples from humans, dogs, and cats. *Journal of Clinical Microbiology* 43 (5), 2256-2260.
- Watanabe T., Tomita S., Kudo M., Kurokawa M., Orino A., Todo A., Chiba T. (1998). Detection of *Helicobacter pylori* gene by means of immunomagnetic separation-based polymerase chain reaction in feces. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 33, 1140-1143.
- Whary M.T., Fox J.G. (2004). Natural and experimental *Helicobacter* infections. *Comparative Medicine* 54, 128-158.
- Yilmaz T., Bajin M.D., Günaydin R.Ö., Özer S., Sözen T. (2014). Laryngopharyngeal reflux and *Helicobacter pylori*. *World Journal of Gastroenterology* 20, 8964-8970.

Serum C-reactive protein concentrations in dogs with idiopathic epilepsy

C-reektief proteïneconcentraties in het serum van honden met idiopathische epilepsie

¹E. Segers, ¹V. Martlé, ²S. Piepers, ¹L. Van Ham, ¹S.F.M. Bhatti,

¹Small Animal Department,

²Department of Reproduction, Obstetrics and Herd Health,
Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

Sofie.Bhatti@UGent.be
eline.segers1992@gmail.com

SAMENVATTING

Inflammatory reactions in dogs are associated with systemic changes in serum, called the acute phase response; changes in the concentration of acute phase proteins in the serum take place. C-reactive protein (CRP) is a positive acute phase protein, which increases during inflammation. The role of inflammation in epilepsy remains unclear. In this study, the inflammatory response in dogs with idiopathic epilepsy (IE) was investigated. The aims of the study were: 1. to measure serum CRP concentrations in dogs with IE and in healthy dogs, 2. to measure serum CRP concentrations in dogs with acute cluster seizures and in dogs with isolated seizures and 3. to observe the evolution of serum CRP concentrations in time after the last seizure. This study showed no significant differences in serum CRP concentrations between dogs with IE (7.8 mg/l) and dogs of the control group (8.3 mg/l). Furthermore, the results showed higher mean serum CRP concentrations in dogs with IE exhibiting cluster seizures (11,8 mg/l) than in dogs with isolated seizures (5.7 mg/l). However, these results were not statistically significant ($P = 0,077$). Finally, no statistically significant decrease in serum CRP concentrations was seen with time after the last epileptic seizure in dogs with IE ($P = 0,077$).

ABSTRACT

Inflammatoire reacties bij honden zijn geassocieerd met systemische veranderingen in het serum, de acute fase respons genaamd. Deze gaat gepaard met veranderde concentraties acute fase-eiwitten in het serum. Het C-reektief proteïne (CRP) is een positief acute fase-eiwit en stijgt bijgevolg bij een ontsteking. Er bestaat veel onduidelijkheid over de relatie tussen epilepsie en ontsteking. Daarom werd in deze studie de rol van ontsteking onderzocht bij honden met idiopathische epilepsie (IE). Drie doelstellingen werden vooropgesteld: 1. het meten van serum-CRP-concentraties bij honden met IE en bij gezonde honden, 2. het meten van serum-CRP-concentraties bij honden met acute clusteraanvallen en bij honden met geïsoleerde aanvallen en 3. het opvolgen van de evolutie in serum-CRP-concentraties in de tijd na de laatste epilepsieaanval. In deze studie kon geen significant verschil in serum-CRP-concentratie tussen honden met IE en de honden van de controlegroep worden aangetoond. Verder waren de gemiddelde serum-CRP-concentraties hoger bij honden met clusteraanvallen (8,3 mg/l) dan bij honden met geïsoleerde aanvallen (7,8 mg/l). Deze resultaten waren echter statistisch niet significant ($P = 0,077$). Ten slotte werd een statistisch niet-significante daling in serum-CRP-concentraties gezien na de laatste epileptische aanval bij de honden met IE ($P = 0,077$).

INTRODUCTION

Inflammatory reactions are associated with systemic changes, also called the “acute phase response”, which leads to an increase of inflammatory cells in the blood, consequently resulting in raised serum cyto-

kines. These cytokines stimulate the synthesis of serum CRP, a positive acute phase protein, in hepatocytes (Kushner, 1993; Gabay and Kushner, 1999; Volanakis, 2001; Mantovani et al., 2008; Lech et al., 2013). Research has been performed on serum CRP changes in several human inflammatory diseases, but

little is known about the role of serum CRP in epilepsy (Alapirtti et al., 2012). Furthermore, there are still a lot of questions on the effect and role of inflammation in epilepsy. It is currently known that epileptic activity leads to inflammatory reactions in cerebrospinal fluid (CSF) and serum, both in humans and rodents. (Peltola et al., 1998; Vezzani et al., 2013). This results in an increase of interleukin-6 (IL-6) in both CSF and serum, and consequently, in a higher serum CRP concentration in humans (Lehtimäki et al., 2004). Epileptic seizures can also provoke systemical inflammatory reactions, which might cause structural cortical changes that can be responsible for propagation of the seizure. These changes, in particular an increased permeability for inflammatory cells through the brain-blood barrier, appear due to chronic stimulation of cytokines (Penkowa et al., 2001; Janigro, 2012).

Three hypotheses were investigated in this study. A higher serum CRP concentration was expected in dogs with IE than in healthy dogs of a control group, since in both the human and veterinary literature, it has been confirmed that epileptic activity leads to systemical inflammatory reactions (Peltola et al., 1998; Vezzani et al., 2013). In human medicine, serum CRP alterations were investigated in patients with epilepsy (Peltola et al., 2002; Alapirtti et al., 2012; Sutter et al., 2013; Ishikawa et al., 2015), whereas veterinary studies are much more limited (Nakamura et al., 2008; Holtman et al., 2013). Secondly, a higher serum CRP concentration was expected in dogs with cluster seizures (two or more seizures within 24 hours), than in dogs with isolated seizures (Lorenz et al., 2011). Probably, there is a more severe form of inflammation in cluster seizures, because of the high frequency of seizures during a short time-span. In only one study, serum CRP concentrations in humans with status epilepticus (SE), which is also an acute and severe seizure type, has been investigated. The results of this study showed no consistent association between serum CRP concentration and the outcome of status epilepticus (Sutter et al., 2013). So far, no other human or veterinary studies have already compared serum CRP concentrations in patients with cluster seizures/SE and patients with isolated seizures. Finally, a higher serum CRP concentration was expected when the sample was taken closest to the last seizure, because a decrease in systemical inflammation could have occurred in the period after seizure. This presumption has already been demonstrated in humans and rats, but not in dogs (Peltola et al., 2002; Alapirtti et al., 2012; Holtman et al., 2013).

MATERIALS AND METHODS

Patient selection

Serum samples were collected at the Small Animal Department of the Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University (2015-2016). Serum CRP mea-

surement was only performed in dogs with IE whose blood had to be taken for other purposes such as generalized blood work or serum concentration monitoring for standard follow-up of antiepileptic treatment. Inclusion criteria for dogs with IE were: 1. onset of seizures between six months and six years of age, 2. normal physical and neurological examination interictally (except for the neurological abnormalities due to the treatment with anti-epileptic drugs or due to seizure induced cerebral hypoxic/excitotoxic damage), 3. normal hematology, 4. normal biochemistry (Na, K, Cl, Ca, P, ALT, AST, AF, Gamma-GT, bile-acids (preprandial), NH₃, bilirubin, urea, creatinine, total protein, albumin, glucose, cholesterol, triglycerides, total T4 (if total T4 was low, TSH was measured, and if still doubtful, a TSH stimulation test was added) 5. no abnormal findings on magnetic resonance imaging of the brain and cerebrospinal fluid analysis (cell count and protein measurement), if available. The timing between blood sampling, the last seizure and the fact whether the dog had isolated or cluster seizures, was tracked. The dogs in the control group were all healthy Beagles (aged between five and seven years) having no neurological abnormalities. These serum samples had been collected for another study at the Small Animal Department, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University.

To complete the first and second part of the study, the sample closest to the seizure was used when more than one serum sample was available of the same dog. The evolution of serum CRP concentration in time after the last seizure was evaluated as a last part of this study. Serial samples, if available, were all included. The time after the seizure was described in four categories: 0-3 days, 4-14 days, 15 to 31 days, and more than 1 month after the last seizure.

Sample processing

Each sample was collected in a serum tube and centrifuged afterwards. A part of the serum was transferred into 2 ml tubes and preserved in a -80°C freezer awaiting further analysis. The CRP measurements were carried out at Idexx laboratories® using immunoturbidimetry. Normal values ranged between 0 and 10.7 mg/L.

Statistical analysis

The analytical program SPSS® was used to process the data. For the first and second part of the study, an unpaired student T-test was conducted. One mg/L was added to each CRP concentration and was followed by logarithmic transformation to obtain a value for each CRP concentration and to acquire a normal distribution. The mean CRP concentration (for the first part both in the IE and the control group, for the second part both in the group of dogs with cluster seizures and in the group of dogs with isolated seizures) and 95%-confidence intervals were calculated. After-

wards, every mean concentration was again converted to the actual CRP concentration and decreased by 1 mg/L. For the third part of this study, a linear mixed regression model was built in order to take into account clustering of repeated observations. In every test, $P < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

An overview of the number of dogs that was included in each part of this study is displayed in Table 1. In the first part of this study, in which serum CRP concentrations in dogs with and without IE were compared, a total amount of 66 samples were collected including 38 samples of dogs with IE and 28 samples of the dogs in the control group. In the second part of the study, 16 samples of dogs with cluster seizures and 22 samples of dogs with isolated seizures were included so that a total amount of 38 samples were used in this part of the study. For the group of dogs with cluster seizures, the time between the seizure and the blood sample ranged from samples taken during the seizure to 53 days after the last seizure (mean: 9 days). For the group of dogs with isolated seizures, time ranged from 15 minutes to 304 days (mean: 49 days). For the last part of the study, in total, 50 samples of 37 dogs were included. There were 27, 7 and 3 dogs that produced respectively 1, 2 and 3 samples. Each group contained respectively 13, 13, 12 and 12 dogs.

In each part of this study, there was a normal distribution of the data after logarithmic transformation. An overview of mean serum CRP concentrations is displayed in Table 1. The mean serum CRP concentration in dogs with IE [$7.8 \text{ mg/ml} \pm \text{standard error of the mean (SE)} 0.09$] was not different from the mean CRP concentration in the dogs of the control group ($8.3 \text{ mg/ml} \pm 0.08$) ($P = 0.8$). The results of the second part of this study showed higher mean serum CRP concentrations in the dogs with cluster seizures ($11.8 \text{ mg/ml} \pm 0.08$) than in the dogs with isolated seizures ($5.7 \text{ mg/ml} \pm 0.13$); however this was not

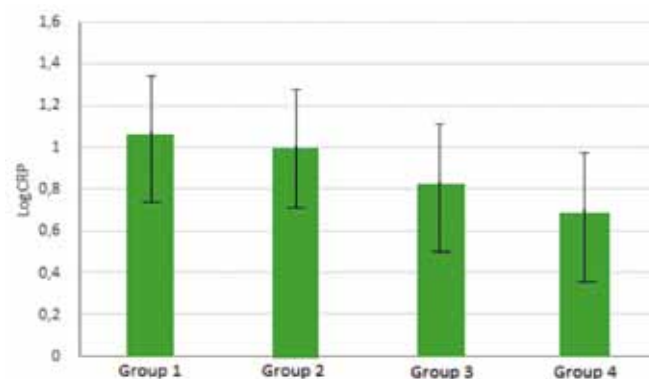


Figure 1. Mean logarithmical serum CRP concentrations of each group (group 1: 0-3 days after a seizure; group 2: 4-14 days after a seizure; group 3: 15-31 days after a seizure; group 4: >1 month after a seizure). The error bars are representing the range of the 95%-confidence interval.

statistically significant ($P = 0.077$). Finally, the serum CRP concentrations of four groups were compared, with the first group representing the shortest time and the fourth group the longest time after the last seizure. For the linear mixed regression model that was built, an overall P-value of 0.2 was obtained, which means that the time after the last seizure had no significant influence on the logarithmic serum CRP concentrations in this study. However, when comparing mean serum CRP concentrations of group 1 (i.e. blood sample taken 0 to 3 days after last seizure) and group 4 (i.e. blood sample taken more than one month after last seizure), a higher mean serum CRP concentration was present in group 1 (10.2 mg/l) than in group 4 (3.4 mg/l). However, this result was not statistically significant ($P = 0.077$) (Figure 1).

DISCUSSION

The hypothesis that dogs with IE have increased serum CRP concentrations could not be confirmed in this study. This is in contradiction with certain human

Table 1. Number of dogs and mean serum CRP concentration (in mg/l).

	Groups	Number of dogs	Mean CRP concentration (in mg/l)
IE vs. control	Total	66	
	IE group	38	7.8
	Control group	28	8.3
Isolated vs. cluster seizures	Total	38	
	Isolated seizures	22	5.7
	Cluster seizures	16	11.8
Time after seizure	Total	50	
	0 - 3 Days after seizure	13	10.2
	4 - 14 Days after seizure	13	9.2
	15 - 31 Days after seizure	12	5.4
	> 1 Month after seizure	12	3.4

studies where significantly higher serum CRP concentrations were found in patients with epilepsy (Alapirtti et al., 2012; Ishikawa et al., 2015). Moreover, these studies showed higher serum CRP concentrations in humans with generalized seizures than in humans with focal seizures. In the present study, these different types of seizures were not compared. However, higher serum CRP concentrations were expected, due to the high frequency of generalized seizures in dogs with IE (Schwartz-Porsche, 1994; Knowles, 1998). On the contrary, in some human studies, no significant differences in serum CRP concentrations in patients with or without epilepsy could be found (Peltola et al., 2002; Sutter et al., 2013). In one veterinary study, serum CRP concentrations between dogs with epilepsy and healthy dogs were compared, but no differences in serum CRP concentrations were detected (Nakamura et al., 2008). In that study, dogs with all types of epilepsy were included (Nakamura et al., 2008), whereas only dogs with IE were included in the present study, leading to a more homogenous population. It is possible that a significant difference in serum CRP concentrations in dogs with and without IE could not be found because the blood samples were not taken at the same time after seizure. The results suggest potentially lower serum CRP concentrations when samples were taken later after the last seizure. Since the majority of the samples were not taken soon after the last seizure, this might have influenced the results. The chance to detect a higher CRP concentration in dogs with IE than in the dogs of the control group, might have been higher when the serum sample would have been taken shortly after the last seizure. Another reason might be that the dogs of the control group might have had a higher serum CRP concentration due to presence of a subclinical inflammation, but as all dogs of the control group appeared clinically healthy, this hypothesis is less likely.

The results of the second part of this study suggest a potential difference in logarithmic transformed serum CRP concentrations between dogs with cluster seizures and dogs with isolated seizures, although the results are not significant. It may be assumed that dogs with cluster seizures show a more severe form of inflammation than dogs with isolated seizures, as seizures are more frequent over a short-term period and there is less time for the body to reduce the inflammation. So far, nothing has been described about serum CRP concentration in dogs with cluster seizures and dogs with isolated seizures. In a study by Sutter et al. (2013), a clear association between CRP levels and outcome in human patients with SE, another acute and severe seizure type, could not be demonstrated. Two other studies demonstrated higher serum CRP concentrations in humans with generalized versus focal seizures (Alapirtti et al., 2012; Ishikawa et al., 2015), but this was not investigated in the present study.

Finally, the numerical differences in logarithmic serum CRP concentrations between group 1 (10.2 mg/l) and group 4 (3.4 mg/l), indicate that lower se-

rum CRP concentrations might be expected when the sample is taken longer after the last seizure. However, this result was statistically not significant. In the literature, an increase in serum CRP concentrations has been described in the first hours after an epileptic seizure both in humans and rats (Peltola et al., 2002; Alapirtti et al., 2012; Holtman et al., 2013). In the present study, not all CRP concentrations were measured this soon after a seizure. The cause of a decrease in serum CRP concentrations during the days after the seizure could be due to a reduction of the inflammatory response (Otabe et al., 2000). However, when CRP concentrations between all the groups were compared, no significant differences could be found, which may have multiple causes. 1. There is no difference in serum CRP concentration between dogs with and without IE. 2. The confidence intervals cover a wide range. When using a larger sample size, they may become more dense (Figure 1). 3. The amount of serial samples was not the same for all of the dogs. 4. It might take more time for the CRP concentrations to decrease, but previously published work shows that the CRP molecule has a fast elimination half-time, which makes this hypothesis less likely (Young et al., 1991; Shrive et al., 1996).

As the sample size in this study was limited, future research using a larger patient group is necessary to support the results of this study.

CONCLUSION

In conclusion, inflammatory reactions might play a role in dogs with IE. In this study, no significant differences in serum CRP concentrations in dogs with IE and dogs of the control group were shown. The results demonstrated lower mean CRP concentrations in dogs with cluster seizures than in dogs with isolated seizures and lower mean CRP concentrations in samples taken longer after the last seizure. However, this could not be demonstrated with statistical significance. Notwithstanding these findings, a larger sample size in each of the tested groups is required before final conclusions can be drawn.

REFERENCES

- Alapirtti T., Waris M., Fallah M., Soilu-Hänninen M., Mäkinen R., Kharazmi E., Peltola J. (2012). C-reactive protein and seizures in focal epilepsy: a video-electroencephalographic study. *Epilepsia* 53, 790-796.
- Gabay M.D., Kushner M.D. (1999). Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *The New England Journal of Medicine* 340, 448-454.
- Holtman L., van Vliet E.A., Aronica E., Wouters D., Wadman W.J., Gorter J.A. (2013). Blood plasma inflammation markers during epileptogenesis in post-status epilepticus rat model for temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 54, 589-595.
- Ishikawa N., Kobayashi Y., Fujii Y., Kobayashi M. (2015).

- Increased interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels in pediatric epilepsy patients with frequent, refractory generalized motor seizures. *Seizure* 25, 136-140.
- Janigro D. (2012). Are you in or out? Leukocyte, ion, and neurotransmitter permeability across the epileptic blood-brain barrier. *Epilepsia* 53, 26-34.
- Knowles K. (1998). Idiopathic epilepsy. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 13, 144-151.
- Kushner I. (1993). Regulation of the acute phase response by cytokines. *Perspectives in Biology and Medicine* 36, 611-622.
- Lech M., Rommele C., Anders H.J. (2013). Pentraxins in nephrology: C-reactive protein, serum amyloid P and pentraxin-3. *Nephrology Dialysis Transplantation* 28, 803-811.
- Lehtimäki K.A., Keränen T., Huhtala H., Hurme M., Ollikainen J., Honkaniemi J., Palmio J., Peltola J. (2004). Regulation of IL-6 system in cerebrospinal fluid and serum compartments by seizures: the effect of seizure type and duration. *Journal of Neuroimmunology* 152, 121-125.
- Lorenz M.D., Coates J.R., Kent M. (2011). Seizures, narcolepsy, and cataplexy. In: *Handbook of Veterinary Neurology*. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 384-416.
- Mantovani A., Garlanda C., Doni A., Bottazzi B. (2008). Pentraxins in innate immunity: from C-reactive protein to the long pentraxin PTX3. *Journal of Clinical Immunology* 28, 1-13.
- Nakamura M., Takahashi M., Ohno K., Koshino A., Nakashima K., Setogushi A., Fujino Y., Tsujimoto H. (2008). C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. *Journal of Veterinary Medical Science* 70, 127-131.
- Otobe K., Ito T., Sugimoto T., Yamamoto S. (2000). C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury. *Laboratory Animals* 34, 434-438.
- Penkowa M., Molinero A., Carrasco J., Hidalgo J. (2001). Interleukin-6 deficiency reduces the brain inflammatory response and increases oxidative stress and neurodegeneration after kainic acid-induced seizures. *Neuroscience* 102, 805-818.
- Peltola J., Hurme M., Miettinen A., Keränen T. (1998). Elevated levels of interleukin-6 may occur in cerebrospinal fluid from patients with recent epileptic seizures. *Epilepsy Research* 31, 129-133.
- Peltola J., Laaksonen J., Hurme M., Rainesalo S., Keränen T. (2002). Indicators of inflammation after recent tonic-clonic epileptic seizures correlate with plasma interleukin-6 levels. *Seizure* 11, 44-46.
- Schwartz-Porsche D. (1994). Seizures. In: *Clinical Syndromes in Veterinary Neurology*. St. Louis Mosby, 234-251.
- Sutter R., Grize L., Fuhr P., Rüegg S., Marsch S. (2013). Acute-phase proteins and mortality in status epilepticus: a 5-year observational cohort study. *Critical Care Medicine* 41, 1526-1533.
- Vezzani A., Aronica E., Mazarati A., Pittman Q.J. (2013). Epilepsy and brain inflammation. *Experimental Neurology* 244, 11-21.
- Volanakis J.E. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular Immunology* 38, 189-199.
- Young B., Gleeson M., Cripps A.W. (1991). C-reactive protein: a critical review. *Pathology* 23, 118-124.

Uit het verleden



VII-68 Foto: Paarden branden in de Crevestraat bij hoefsmid De Waele.

Alfaxalone TIVA bij de chirurgische excisie van een tracheaal adenocarcinoma bij een kat

Alfaxalone TIVA during surgical excision of a tracheal adenocarcinoma in a cat

M. Deflandre, T. Bosmans, N. Devriendt, H. de Rooster, A. Van Caelenberg, I. Gielen, I. Polis

Vakgroep Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Marie.Deflandre@ugent.be

SAMENVATTING

Een tien jaar oude, vrouwelijke, Europese korthaar werd aangeboden met klachten van progressief verergerende dyspnee, ademen met open muil en inspiratoire en expiratoire stridor. Met behulp van tracheoscopie met biopsname kon de histopathologische diagnose van een intraluminaal tracheaal adenocarcinoma gesteld worden. Computertomografie (CT) toonde aan dat er geen metastasen waren, waarna tijdens dezelfde anesthesie werd overgegaan tot excisie van de tumor. Omwille van de moeilijke hanteerbaarheid van de patiënt was intraveneuze premedicatie niet mogelijk en gebeurde de inductie van de anesthesie aan de hand van een intramusculaire injectie met alfaxalone. De anesthesie werd verder onderhouden met twee verschillende protocollen: initieel werd gebruik gemaakt van een inhalatieanesthesie-protocol, waarbij isofluraan via een laryngeaal masker werd verdampt in 100% zuurstof via een cirkelsysteem, waarna er werd overgeschakeld naar totale intraveneuze anesthesie (TIVA) met alfaxalone tijdens de eigenlijke excisie van de tumor. Door het verwijderen van zeven trachearingen kon de tumor volledig verwijderd worden.

ABSTRACT

A ten-year-old European Shorthair cat was presented with complaints of progressively worsening dyspnea with open-mouth breathing and inspiratory and expiratory stridor. Histopathological examination of a biopsy, collected during tracheoscopy, revealed that the mass was an intraluminal tracheal adenocarcinoma. Computed tomography (CT) revealed no metastases and the excision of the tumor was performed during the same anesthesia. Intravenous premedication was not possible due to the behavior of the patient and induction of anesthesia was provided using intramuscular injection of alfaxalone. The maintenance of anesthesia was initially provided by inhalation of isoflurane vaporized in oxygen using a laryngeal mask and a circle rebreathing system, followed by total intravenous anesthesia (TIVA) with alfaxalone during the actual excision of the tumor. By removal of seven tracheal rings, the tumor could be completely removed.

INLEIDING

Tumoren van de trachea komen zelden voor bij de kat (Roach en Krahwinkel, 2009). Dit stemt overeen met de situatie bij de mens, bij wie slechts 2% van de respiratoire tumoren afkomstig is van de trachea (Ahn et al., 2009). De gemiddelde leeftijd van katten met deze tumoren is 9,5 jaar, met een range van 2 tot 13 jaar. Er zijn geen geslachtsprevalentie (Brown en Rogers, 2003) en geen predilectieplaats bekend (Howard en Tolbert, 2015), waardoor tumoren zich kunnen bevinden van net caudaal van de larynx tot op het niveau van de carina (Clarke, 2014). Verschillende behandelingsopties zijn mogelijk,

gaande van medicamenteuze therapie en/of endoscopische “debulking” over tracheale “stenting” tot partiële trachearesectie (Howard en Tolbert, 2015). Bij een dergelijke ingreep zijn een passende aanvoer en opname van inhalatieanesthetica niet mogelijk. Deze situatie is dan ook uitermate geschikt voor het uitvoeren van totale intraveneuze anesthesie of ‘total intravenous anesthesia’ (TIVA) (Kennedy, 2016). Bij TIVA wordt de anesthesie enkel onderhouden door middel van intraveneuze (IV) agentia, waarbij een anestheticum dat hypnose, spierrelaxatie en immobiliteit tot effect heeft, kan gecombineerd worden met een opioïd, een alfa₂-agonist of een subanesthetische dosis ketamine (Kästner, 2007). Dit type anesthesie is

gebaseerd op het principe dat de plasmaconcentratie van het gekozen anestheticum snel moet bereikt worden en behouden blijven over de tijdspanne waarin anesthesie gewenst is. Een aanvangs- of ladingsdosis van het gekozen anestheticum is noodzakelijk om een voldoende hoge plasmaconcentratie te bereiken om verdere TIVA mogelijk te maken. Deze ladingsdosis wordt echter snel herverdeeld over de weefsels en geëlimineerd. Hierdoor dient een “constant rate infusion” (CRI) opgestart te worden om de gewenste plasmaconcentratie te behouden gedurende de anesthesieduur (Luisito, 2011). Als alternatief kunnen er intermitterende boli van het anestheticum toegediend worden, wat echter resulteert in een grotere variatie van de plasmaconcentratie dan bij een CRI. Een alternatieve optie voor een standaard CRI is een “target-controlled infusion” (TCI), waarbij de afgifte van een specifiek anestheticum wordt afgestemd op de vooraf berekende plasmaconcentratie waarvan bekend is dat deze een anesthetisch effect heeft (Kästner, 2007).

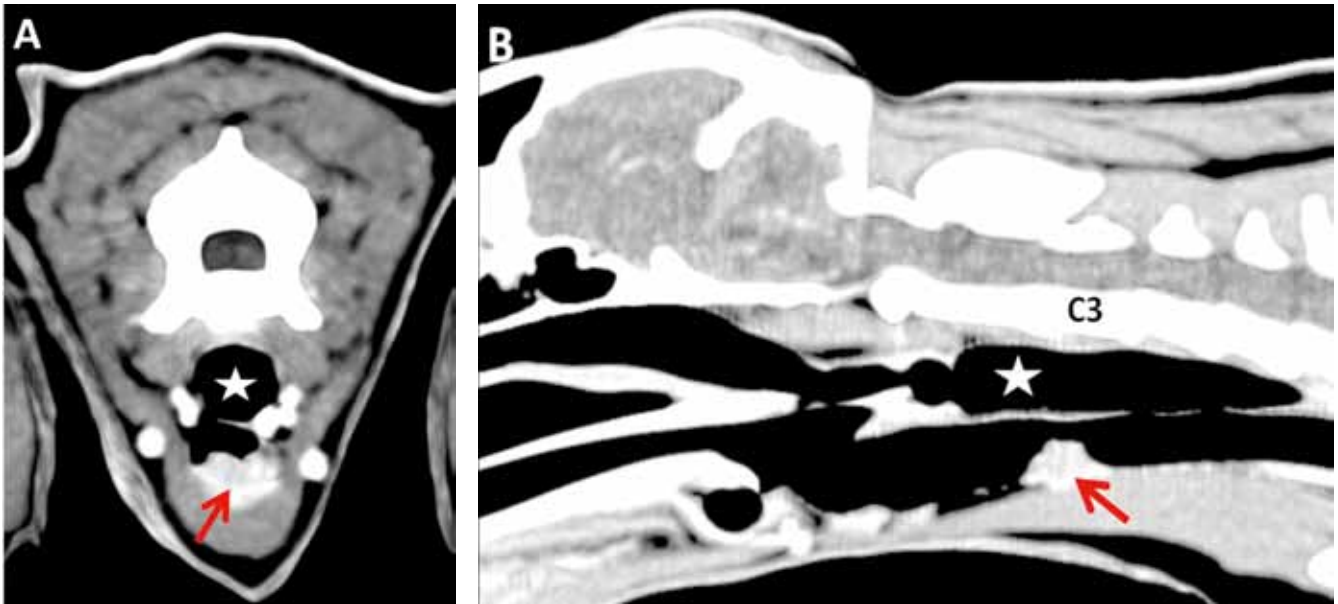
Propofol en alfaxalone zijn dankzij hun farmacokinetische eigenschappen uitermate geschikt voor toediening via CRI. Ze hebben een vergelijkbaar farmacokinetisch profiel met een snelle aanvangswerking, een korte werkingsduur, een snelle redistributie en een korte halfwaardetijd (Morgan en Legge, 1989; Whittam et al., 2008). Toch is het bekend dat propofol bij de kat over het algemeen minder goed gemetaboliseerd wordt dan bij de hond, wat kan leiden tot een verlengde recovery. Bovendien zijn de felie erythrocyten gevoeliger voor de oxidatieve effecten van propofol, met risico op “Heinz body-anemie”. Daarom is alfaxalone bij deze diersoort een welkom alternatief (Raisi en Musk, 2012). Bovendien heeft alfaxalone een beperktere invloed op het respiratoire systeem (Kennedy, 2016) en heeft het een grotere therapeutische breedte (Campagna et al., 2015).

CASUSBESCHRIJVING

Een tien jaar oude, vrouwelijke, gesteriliseerde Europese korthaar van 4,15 kg werd aangeboden met klachten van dyspnee en ademen met open muil. Reeds een jaar ademde de kat zwaarder, maar sinds een week waren de symptomen erger en werd er voor het eerst ook hoesten opgemerkt. Een initiële behandeling met diuretica, ontstekingsremmers en amoxicilline-clavulaanzuur door de doorverwijzende dierenarts had niet voor verbetering gezorgd. Enkele dagen na het instellen van de behandeling werd via een laterale thoraxradiografie, gevolgd door een tracheoscopie, door dezelfde dierenarts de diagnose van een tracheale massa gesteld en werd de patiënt doorverwezen. Bij presentatie op de Faculteit Diergeneeskunde waren er geen afwijkingen op het lichamelijk onderzoek, uitgezonderd een stridor die enkel bij manipulatie van de kat hoorbaar was en dit zowel bij inspiratie als bij expiratie. De tracheoscopie werd herhaald en er werd een intraluminale massa met een brede basis en een

wit spekkig aspect gevisualiseerd in de midcervicale, ventrale regio van de trachea. De massa strekte zich uit over het verloop van vier trachearingen. Het bleek na histopathologisch onderzoek van een biopst om een adenocarcinoma te gaan. Na de biopstname keerde de patiënt huiswaarts maar verergerden de tachypnee en dyspnee. De kat kreeg een eenmalige injectie met corticosteroiden van de eigen dierenarts en werd gehospitaliseerd in een zuurstofkooi.

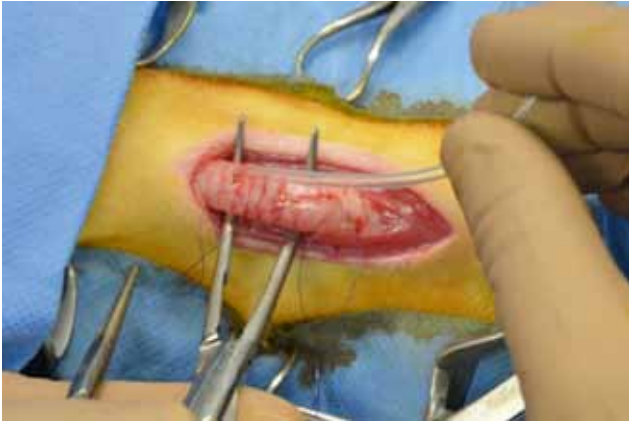
Vier dagen na de biopstname werd de kat opnieuw aangeboden, dit keer voor computertomografie (CT) van de cervicale regio en de thorax, met aansluitend chirurgische excisie van de tumor. De kat vertoonde nu een uitgesproken tachypnee met een frequentie van 92 ademhalingen per minuut en een stridor die continu hoorbaar was. Haar lichaamsgewicht was gedaald tot 3,95 kg. Het preanesthetisch, algemeen bloedonderzoek was normaal, maar aangezien geoordeeld werd dat de respiratoire aandoening een continue levensbedreiging vormde en de kat de stress van het gehanteerd worden niet moeiteloos kon ondergaan zonder dyspnee te vertonen, werd zij onderverdeeld in klasse IV van de “American Society of Anaesthesiologists” (ASA) (Posner, 2007). Voor de aanvang van de anesthesie werd de kat gepreoxigeneerd met 2 L zuurstof per minuut door middel van een gezichtsmasker en een “non-rebreathing bain”-systeem. Het dier bleek ondanks voorzichtige manipulatie echter zeer gestresseerd te zijn en de anesthesie werd geïnduceerd met een intramusculaire (IM) injectie alfaxalone (Alfaxan[®], Jurox plc, Worcestershire) in de m. quadriceps, na enkele minuten aangevuld met een tweede injectie tot het gewenste effect bereikt werd, hetgeen overeenstemde met een totale dosis van 5 mg/kg. Na het druppelen van 0,2 mL lidocaïne (Xylocaine[®] 2%, AstraZeneca, Brussel) op de larynx werd een laryngeaal masker (LM) (maat 1) geplaatst voor de toediening van zuurstof en isofluraan (Isoflo[®], Abbott, Queensborough). Intraveneuze toegang werd vervolgens verzekerd door het plaatsen van een 22 G-katheter in de rechter vena cephalica. Er werd via deze weg een ringerlactaat-kristalloïdeoplossing (Vetivex[®] Ringer Lactaat, Dechra, Staffordshire) toegediend aan 5 mL/kg/uur gedurende het verdere verloop van de anesthesie. Na het bereiken van een eindtidale concentratie isofluraan (ETiso%) van ongeveer 1,1% werd de patiënt overgebracht naar de afdeling medische beeldvorming voor een CT-onderzoek, tijdens dewelke de anesthesie werd onderhouden met isofluraan verdampt in 100% zuurstof en de patiënt klinisch stabiel bleef. Op de CT-beelden was midcervicaal ventraal links een omschreven wekedelenproces in de trachea aanwezig (afmetingen: lengte 8,8 mm, hoogte 4,6 mm en breedte 7,6 mm). Na IV contrastinjectie van 2 mg/kg iopromide (Ultravist[®] 300, Bayer Pharma AG, Berlijn) toonde de massa duidelijke contrastcaptatie. Bilateraal en ventraal in de thorax was er een verhoogde densiteit zichtbaar, passend bij een beeld van atelectase. Verder waren er geen tekenen van metastasen. Er was een veralgemeende en duidelijke



Figuur 1A. Dwars CT-beeld ter hoogte van C3. **1B.** Sagittale reconstructie van de hals in wekedelenvenster na het toedienen van IV contraststof. Ventraal in de trachea ter hoogte van C3 is een omschreven homogeen contrastcapterende massa aanwezig (rode pijlen). Dorsaal van de trachea is een gedilateerde slokdarm zichtbaar (ster) (megaesofagus).

mega-oesofagus aanwezig en de maag was gevuld met een groot volume gas, vermoedelijk ten gevolge van verlies van tidaal volume door het gebruik van een LM dat niet specifiek was aangepast aan de anatomie van de larynx van de kat (humaan pediatrisch laryngeaal masker) (Figuur 1). Tijdens de voorbereiding van de patiënt voor operatie ademde deze spontaan, bedroeg de perifere arteriële zuurstofsaturatie (SpO₂) 91 à 92% en bleef het eindtidale CO₂-gehalte (ETCO₂) stabiel rond 35 mmHg. Aangezien het openen van het lumen van de trachea, een niet-steriel orgaan, tijdens een electieve ingreep beschouwd wordt als het maken van een proper-gecontamineerde wonde (Fossum en Willard, 2007), was antimicrobiële profylaxie aangewezen onder de vorm van 20 mg/kg amoxicilline (Clamoxyl[®], Zoetis, Louvain-La-Neuve) IV. Omdat zowel alfaxalone als isofluraan geen analgetische eigenschappen bezit, werd net vóór de verplaatsing van de kat naar het operatiekwartier bovendien 0,2 mg/kg methadon (Comfortan[®], Eurovet Animal Health, Bladel) IV toegediend. Op de operatietafel werd de kattin op een warmwatermatras (Mul.T.Pad[®], Gaymar Industries, New York) in dorsale decubitus gepositioneerd en werd de operatiezone geschrubd met een hibitane-alcoholprotocol. De patiënt werd gemonitord via electrocardiografie, pulse-oximetrie, capnografie, analyse van de anesthesiegassen en een oesofagale thermometer (Anaesthetic Monitoring System A/S3[®], Datex-Ohmeda, General Electric, Chicago). De bloeddruk werd niet-invasief gemeten met een dopplertoestel (Model 811-B[®], Parks Medical Electronics, Aloha) via een aangepaste cuff proximaal van de tarsus. Kort na het maken van een incisie ter hoogte van de ventrale hals vanaf de larynx

tot 1 cm craniaal van het sternum werd een bolus van 2 µg/kg fentanyl (Fentadon[®], Eurovet Animal Health, Bladel) IV toegediend via een spuitpomp (Perfusor[®] Space, B/Braun, Melsungen), waarna een CRI van 5 µg/kg/u fentanyl werd opgestart om intraoperatieve analgesie te verzekeren. Na het vrijprepareren van de subcutis en het openen van de M. sternohyoïdeus en M. sternothyroïdeus in de middellijn, werd een duidelijk afwijkende trachea ter hoogte van de schildklieren gezien. De structuur werd vrijgeprepareerd en er werden twee steunhechtingen geplaatst op een afstand van twee trachearingen craniaal en twee trachearingen caudaal van de massa. Een tiental minuten na aanvang van de chirurgie steeg de ETCO₂ tot 63 mmHg in combinatie met een SpO₂ van 87% en werd besloten de patiënt mechanisch te ventileren (Cicero[®], Dräger, Lübeck). Dit gebeurde aan een frequentie van zes ademhalingen per minuut, een “peak inspiratory pressure” (PIP) van 10 cm H₂O, een “positive end expiratory pressure” (PEEP) van 1 cm H₂O en een tidaal volume (TV) van 25 mL/kg. Dit hoog TV was noodzakelijk ter compensatie van de verliezen via de niet-perfekte pasvorm van het laryngeale masker op de epiglottis. Desondanks bleef de ETCO₂ zeer hoog met een waarde tussen 71 en 79 mmHg, maar aangezien de SpO₂ tussen de 95% en 98% bleef, het TV reeds hoog was, verdere aanpassing van de ventilatie onmogelijk was (intubatie was geen optie) en de patiënt geen tekenen van cyanose vertoonde, werd deze waarde getolereerd. Een klein uur na de start van de chirurgie werd de trachea volgens de “split cartilage”-techniek doorgesneden. De toediening van het inhalatie-anestheticum via het laryngeale masker werd stopgezet en er werd overgeschakeld op TIVA met



Figuur 2. Intraoperatief beeld van de cervicale trachea na de eerste steekincisie tijdens plaatsing van de zuurstofsonde. Na het maken van een ventrale steekincisie werd een sonde in de distale trachea geplaatst om de continue toediening van zuurstof mogelijk te maken. Proximaal en distaal van de afwijkende trachea zijn steunhechtingen zichtbaar.

alfaxalone. Na een IV-bolus alfaxalone van 1,5 mg/kg werd door middel van een spuitpomp een CRI opgestart aan 0,2 mg/kg/min. De zuurstoftoediening via het LM werd nog voortgezet tot net voor het insnijden van de luchtpijp, waarna een zuurstofsonde in het distale deel van de trachea geplaatst werd, die met een passende koppeling (endotracheale tubeconnector voor een 3,5 mm interne diameter tracheotube) verbonden werd met het anesthesisch ademsysteem, zodat zuurstof toegediend kon worden via een vorm van “jet-ventilation” (Figuur 2). Hierbij werd een continue flow van 3 L zuurstof per minuut toegediend terwijl de patiënt zelfstandig ademde, aangevuld met snelle, manuele compressies van de ademballon. Dit gebeurde met een frequentie van ongeveer 120 compressies per minuut met een druk van maximaal 10 cm H₂O, waardoor het moeilijk was om het correcte TV weer te geven omwille van de hoge ademhalingsfrequentie. Deze intermitterende compressies werden uitgevoerd wanneer een daling in SpO₂ werd opgemerkt die te uitgesproken was of die zichzelf niet herstelde bij het spontaan ademen van de patiënt. Dit ingrijpen had een duidelijk gunstig effect op de perifere arteriële zuurstofsaturatie, waardoor de hypoxemische fases zowel in duur als in ernst tot een acceptabel minimum konden beperkt worden. De eigenlijke excisie van de tumor duurde ongeveer 30 minuten en tijdens deze periode schommelde de SpO₂ tussen 76 en 83%, hetgeen getolereerd werd. Het verwijderde weefsel, dat zeven trachearingen met een massa van 1,0 x 1,8 x 0,8 cm omvatte (Figuur 3) werd opgestuurd voor histopathologisch onderzoek. De luchtpijp werd enkelvoudig gehecht met poliglecaprone 4/0 (Monocryl®, Ethicon, Cornelia). De zuurstofsonde in de distale trachea werd verwijderd en meteen na het plaatsen van de laatste hechting werd de patiënt geïntubeerd met een 4 mm interne diameter

gecuffte, endotracheale tube (ET). Hierna kon het dier tot het einde van de ingreep mechanisch beademd worden met een TV van 100 ml, een PIP van 10 cm H₂O en een PEEP van 1 cm H₂O. Bij inspectie van de trachea werd een mooie appositie zonder overmatige tractie gezien. Kort voor het einde van de ingreep steeg de systolische, arteriële bloeddruk van de patiënt van 100 naar 150 mmHg hoewel deze tijdens de rest van de ingreep stabiel was gebleven rond 80 mmHg. Er werd vermoed dat deze stijging van de bloeddruk te wijten was aan een nociceptieve stimulus, waardoor besloten werd om een bolus fentanyl van 2 µg/kg IV toe te dienen, waarna de bloeddruk terug normaliseerde. De spieren en subcutis werden doorlopend gesloten met poliglecaprone 4/0 en de huid werd intradermaal gesloten met hetzelfde hechtmateriaal. De totale duur van de anesthesie bedroeg 2 uur en 50 minuten. De fentanyl CRI, de alfaxalone CRI en de mechanische beademing werden stopgezet en het hernemen van de spontane ademhaling werd visueel en aan de hand van capnografie opgevolgd. Het duurde een drietal minuten vooraleer de patiënt herstelde van apnee. Ondertussen werd de ademhaling een aantal keer manueel ondersteund via druk op de ademballon, waarna deze geleidelijk stabiliseerde op een frequentie van 17 ademhalingen per minuut. Om de postoperatieve analgesie te verzekeren werd



Figuur 3. Geresecceerde deel van de trachea met intraluminale massa. Het geresecceerde deel van de trachea omvatte zeven trachearingen, hetgeen overeenkomt met 16,2 tot 18,4% van de totale trachealengte bij de kat. Na het openen van het lumen was een duidelijk omschreven massa zichtbaar met afmetingen van 1,0 x 1,8 x 1,8 cm.

een injectie van 20 µg/kg buprenorfine (Vetergesic®, Ceva Santé Animale, Brussel) IV toegediend. De recovery verliep probleemloos met een vlotte extubatie zonder dyspnee of tachypnee. De verdere opvolging gebeurde in de intensievezorgafdeling aan de hand van een nauwgezette visuele controle van de patiënt. Aangezien de anastomose van de trachea zonder overmatige tractie was gebeurd, werden er geen mechanische voorzorgen genomen om overmatige extensie van de nek te vermijden. Infuustherapie met een ringerlactaatoplossing aan anderhalve keer onderhoud werd opgestart in het kader van de te verwachten verliezen door eventuele tachypnee. De ademhalingsfrequentie bevond zich postoperatief tussen 24 en 56 ademhalingen per minuut en zuurstoftoediening werd als overbodig beschouwd, aangezien er geen dyspnee aanwezig was en de perioden van normale en hoge ademhalingsfrequenties elkaar afwisselden, hetgeen deed vermoeden dat deze stress-gerelateerd waren. De analgesie werd verdergezet met 20 µg/kg buprenorfine IV om de 6 uur en amoxicilline werd nog tweemaal IV toegediend met een interval van 8 uur aan een dosis van 20 mg/kg. Aangezien de patiënt 48 uur vóór de ingreep een injectie met een ongekend cortisonepreparaat had toegediend gekregen door de doorverwijzende dierenarts, was de toediening van NSAID's zowel pre-, per- als postoperatief tegenaangewezen en kon deze klasse van agentia niet gebruikt worden in het kader van multimodale analgesie. Tijdens de tweede hospitalisatiedag werd de infuustherapie afgebouwd naar eenmaal onderhoud en werd de analgesie met buprenorfine aangehouden. De kat werd gestimuleerd om te eten maar vertoonde geen eetlust. Bovendien werd zij zichtbaar onrustiger, waardoor er eenmalig moest overgegaan worden tot de toediening van 0,02 mg/kg acepromazine (Placivet®, Kela laboratoria, Hoogstraten) IV. Er werd de volgende dag besloten om de patiënt naar huis te laten gaan met buprenorfine 20 µg/kg driemaal daags buccaal transmucosaal gedurende twee dagen en met twee weken hokrust. De diagnose van een adenocarcinoma met een lage graad van maligniteit uitgaande van de mucosale klieren van de trachea werd herbevestigd. Bovendien werd vermeld dat deze tussen de trachearingen infiltreerde maar het omgevende bindweefselkapsel niet penetreerde. De tumor bleek nipt volledig verwijderd met een proximale craniodorsale rand van 0,4 cm en een distale rand van 0,2 cm.

Op het controlebezoek twee weken later bleek dat de kat meteen na thuiskomst was beginnen eten en geen ademhalingsproblemen meer had vertoond. Haar lichaamsgewicht was met bijna 1 kg toegenomen. Op het lichamelijk onderzoek werd een milde tachypnee van 44 ademhalingen per minuut vastgesteld. De incisieplaats was droog en gesloten. Een controlebezoek na drie maanden en vervolgens levenslang om de zes maanden werden aangeraden voor de opvolging van metastasen. Negen maanden na de operatie had de kat geen ademhalings symptomen meer en op controle-

radiografieën van de thorax waren tot dan toe geen afwijkingen detecteerbaar.

DISCUSSIE

Bij het formuleren van een anesthetisch plan dient er steeds rekening gehouden te worden met de specifieke noden van de individuele patiënt. Het anesthesierisico wordt ingeschat op basis van de anamnese en het klinisch onderzoek en het type aandoening van de patiënt. De kat beschreven in deze casus vertoonde een snel verergerende dyspnee, waardoor zij een ASA-klasse IV-anesthesierisico toebedeeld kreeg (Posner, 2007). Er werd een efficiënt en veilig anesthesieprotocol uitgewerkt voor gebruik zowel tijdens de diagnosestelling als de chirurgische ingreep. Aangezien deze patiënt het gezichtsmasker goed verdroeg, kon een succesvolle preoxygenatie gedurende een vijftal minuten bekomen worden, een belangrijk onderdeel van het anesthetisch protocol bij dieren met een respiratoire aandoening. Om via een gezichtsmasker een voldoende grote zuurstofreserve te kunnen opbouwen in de longen, wordt een preoxygenatie duur van 3 tot 5 minuten met 100% zuurstof aangeraden (Milella en Gurney, 2016). Dit vermindert het risico op hemoglobine desaturatie en hypoxemie gedurende de inductie (Bednarski et al., 2011) en verhoogt op die manier de tolerantie ten opzichte van apnee (Sirian en Wills, 2009). Om de stress bij deze weinig coöperatieve patiënt te beperken, werd gekozen voor een IM-toediening van alfaxalone voor sedatie. Hierdoor kon vervolgens op een veilige manier een intraveneuze toegang verkregen worden en kon bovendien zelfs overgegaan worden tot plaatsing van het LM.

Bij de keuze van het verdere onderhoudsanesthesieprotocol werden de voor- en nadelen van inhalatie-anesthesie versus TIVA afgewogen. Bij inhalatie-anesthesie kan via een beveiligde luchtweg ook zuurstof toegediend worden en kan indien nodig gemakkelijk overgegaan worden tot mechanische ventilatie. Eens er een evenwicht is ingesteld tussen de alveolaire en de pulmonaire, capillaire partiële druk, is de diepte van de anesthesie bovendien snel en accuraat te regelen (Egan, 2015). Bij de patiënt beschreven in deze casus zorgde de aanwezigheid van een intraluminale tracheatumor er echter voor dat endotracheale intubatie en het gebruik van een klassieke inhalatie-anesthesietechniek fysisch onmogelijk waren. Initieel kon dit probleem omzeild worden door het plaatsen van een LM, waardoor zuurstoftoediening en onderhoud met inhalatie-anesthesie toch mogelijk waren tijdens de diagnosestelling. Bij kittens wordt het LM echter vaker geassocieerd met gastro-oesofagale reflux dan de ET (Sideri et al., 2009). In de humane anesthesie werd aangetoond dat het gebruik van een LM niet noodzakelijk gepaard gaat met een hogere contaminatie van de omgevingslucht met anesthesiegassen dan met een ET (Hoerauf et al., 1996). Een alternatief voor beide

Tabel 1. Alfaxalonedoseringen voor de inductie en het onderhoud van de anesthesie bij de kat na verschillende premedicatieprotocollen.

Inductiedosis alfaxalone IV	Onderhoudsdosis alfaxalone IV	Premedicatie	Referentie
4,7 ± 1,2 mg/kg	/	0,05 mg/kg acepromazine IM 0,3 mg/kg meloxicam SC	Taboada en Murison (2010)
11,6 ± 0,3 mg/kg	10,7 ± 0,8 mg/kg/uur	0,03 mg/kg acepromazine SC, 0,3 mg/kg morfine SC 0,04 mg/kg atropine SC	O'Hagan et al. (2012)
1,87 ± 0,5 mg/kg	10,76 ± 0,96 mg/kg/uur	0,2 mg/kg butorfanol IM 20 µg/kg medetomidine IM	Schwarz et al. (2014)
2,57 ± 0,41 mg/kg	11,62 ± 1,37 mg/kg/uur	0,2 mg/kg butorfanol IM 0,1 mg/kg acepromazine IM	
1,7 (0,7-3,0) mg/kg	0,18 (0,06-0,26) mg/kg/min	20 µg/kg medetomidine IM 0,3 mg/kg morfine IM	Beths et al. (2014)
11,6 ± 0,3 mg/kg	10,7 ± 0,8 mg/kg/uur	0,01 mg/kg medetomidine IM 0,3 mg/kg meloxicam SC	Campagna et al. (2015)
4,3 mg/kg (3,4-7,0) aan 2 mg/kg/min 2,1 mg/kg (1,5-2,5) aan 0,5 mg/kg/min	/	20 µg/kg buprenorfine IM 3,0 mg/kg alfaxalone SC	Bauquier et al. (2015)

soorten bovensteluchtwegcontrole is de v-geltube, een voorbeeld van een “supraglottic airway device” (SGAD) dat aangepast is aan de specifieke anatomie van de larynx van de diersoort waarvoor het bestemd is; dit in tegenstelling tot het gebruik van humane LMs bij kleine huisdieren. Het blijkt een bruikbaar alternatief te zijn, zelfs bij gecontroleerde mechanische ventilatie tot een PIP van 16 cm H₂O en kan bovendien reeds bij een meer oppervlakkig niveau van anesthesie geplaatst worden. Aangezien een deel van deze specifieke tube in de oesofagus wordt geplaatst, zou er volgens de fabrikant bovendien minder verlies van tidaal volume zijn en wordt de kans op aspiratie van maaginhoud bij reflux geminimaliseerd. Verdere studies zijn echter aangewezen om deze stellingen te onderzoeken en te controleren (Prasse et al., 2016). De grote hoeveelheid lucht in de oesofagus en maag, die werd opgemerkt op de CT-beelden bij de kat in de huidige casusbespreking, is mogelijk te wijten aan het gebruik van een niet-diersoortspecifiek aangepast LM, met lekkage van anesthesiegassen tot gevolg.

“High-frequency jet-ventilation” wordt beschouwd als de meest ideale manier om patiënten met een onderbreking van de grote luchtwegen te ventileren. Hierbij kan namelijk het tidale volume tot een minimum beperkt worden, terwijl de hoge beademingsfrequentie ervoor zorgt dat het ademminuutvolume gevrijwaard blijft, bij normale beademingsdrukken. Hierdoor wordt het gevaar op barotrauma of “air entrapment” verminderd (Luyet et al., 2013). Uit een humaan longmodel is echter gebleken dat (percutane

transtracheale) “high-flow”-ventilatie vaak resulteert in een hogere druk in de luchtwegen ondanks een lager TV, vermoedelijk door een PEEP-effect dat ontstaat door de hoge flow (Sasano et al., 2014). In gevallen waarbij deze vorm van technologie niet beschikbaar is, zoals in deze casus het geval was, kan men zich behelpen met de methode hierboven beschreven. Deze is gebaseerd op het principe van “low-frequency jet-ventilation” (Clarkson en Davies, 1978). Met deze ventilatietechniek is het risico op hypercapnee ten gevolge van hypoventilatie of door het opnieuw inademen van uitgedemde CO₂ reëel (Lee en English, 1974). De daling van de arteriële zuurstofconcentratie tot waarden beneden de 90 en zelfs de 80 % werden in deze casus getolereerd aangezien deze telkens van korte duur waren en succesvol konden opgelost worden door het verhogen van de frequentie van de manuele compressies of door het verhogen van de zuurstofflow. In het geval van een niet-responsieve daling van de SpO₂ had de patiënt tijdelijk op de klassieke manier geïntubeerd kunnen worden met een ET-tube, eventueel ondersteund door een zo goed mogelijke manuele appositie van beide trachea delen. Op die manier had er gedurende enkele minuten manueel beademd kunnen worden tot de SpO₂ voldoende gestegen was.

In deze casus vereiste excisie van de tumor het openen van de trachea, waardoor inhalatie-anesthesie voor de volledige ingreep geen optie was. De uiteindelijke stapsgewijze aanpak, waarbij niet van meet af aan voor TIVA gekozen werd, hield rekening met meerde-

Tabel 2. Aangeraden dosering voor de intraveneuze toediening van alfaxalone bij de kat voor de inductie en het onderhoud van de anesthesie (naar BCFI, 2015).

	Zonder premedicatie	Met premedicatie
Inductie	5 mg/kg	5 mg/kg
Onderhoud infuus	10-11 mg/kg/uur	7-8 mg/kg/uur
Onderhoud bolus	1,3-1,5 mg/kg (per 10 min)	1,1-1,3 mg/kg (per 10 min)

re factoren in het belang van de patiënt. Hierdoor was de uiteindelijke keuze voor TIVA met alfaxalone en extra zuurstoftoediening via een zuurstofsonde tijdens het resectiegedeelte van de chirurgie bij deze patiënt dus een noodzaak. Bij TIVA wordt gebruik gemaakt van injecteerbare anesthetica voor het onderhoud van de anesthesie (Luisito, 2011). Niet alle anesthetica zijn hier echter voor geschikt, aangezien aan een bepaald aantal voorwaarden moet voldaan worden. Alfaxalone (3- α -hydroxy-5 α -pregnane-11,20-dione) is een synthetisch neuro-actief steroïd anestheticum werkzaam via de γ -aminoboterzuur (GABA_A) receptoren in de hersenen. Recentelijk werd een nieuwe formulatie geregistreerd waarbij alfaxalone opgelost is in 2-hydroxypropyl- β cyclodextrin (HPCD) (Alfaxan[®], Jurox Pty Ltd, Rutherford, New South Wales). Hierdoor werd een oplossing gevonden voor de anafylactische nevenwerkingen kenmerkend voor de eerdere formulatie (Saffan[®], Schering Plough Animal Health, Union, New Jersey), veroorzaakt door een surfactant component (Cremophor EL) (Haskins et al., 1975). Alfaxalone heeft een wijde therapeutische breedte, is cardiovasculair stabiel, cumuleert niet, heeft een snelle aanvang, een korte werkingsduur en is niet irriterend (Warne et al., 2015). Deze eigenschappen zorgen ervoor dat dit anestheticum uitermate geschikt is voor toediening via TIVA.

In de literatuur is een grote variatie terug te vinden aan dosissen zowel voor inductie als onderhoud van de anesthesie met alfaxalone. De toedieningsweg en de keuze van premedicatie hebben hierin ongetwijfeld het grootste aandeel. De afwezigheid van een IV toegang in de huidige casus leidde ertoe dat een klassiek anesthesisch plan van premedicatie voorafgaand aan inductie moest aangepast worden naar een onmiddellijke inductie van de anesthesie via een IM toediening van alfaxalone. In een onderzoek van Tamura et al. (2015) werden de sedatieve effecten van IM injectie van alfaxalone onderzocht zonder premedicatie, waarbij gezien werd dat de stof dosisafhankelijke sedatieve effecten teweegbrengt die acceptabel zijn vanaf 2,5 tot 10 mg/kg. Rodrigo-Mocholi et al. (2016) toonden aan dat een solo-injectie van 5 mg/kg alfaxalone IM een diepe sedatie teweegbrengt, een dosis en een toedieningswijze die in deze casus zelfs voor inductie van de anesthesie zorgden, aangezien de plaatsing van een LM mogelijk was na deze dosis. Wanneer de gebruikte alfaxalone dosis van 5 mg/kg vergeleken wordt met de referentiedosering voor anes-

thesie-inductie (Tabel 1) ligt deze beduidend hoger, hetgeen niet verwonderlijk is aangezien de alfaxalone in deze casus IM en niet IV werd toegediend en het dier bovendien niet gepremediceerd was. Voor IM injectie wordt in de literatuur soms een dosis van 10 mg/kg aangeraden, maar de nadelen van zulke dosis zijn het te injecteren volume en de verhoogde kans op een verlengde recovery met excitatie (Warne et al., 2014). Hoge IV dosissen kunnen ook hypotensie veroorzaken en een recovery met tremoren, ataxie en opisthotonus vanaf dosissen van 2,5 mg/kg worden gerapporteerd (Campagna et al., 2015); neveneffecten die in deze patiënt niet opgemerkt werden. De onderhoudsdosis van 0,2 mg/kg/min die in deze casus gehandhaafd werd, komt goed overeen met de gerapporteerde dosering in de literatuur (Tabel 2). Alfaxalone bezit geen analgetische eigenschappen, waardoor in deze casuïstiek een combinatie met krachtige μ -agonisten vereist was omwille van de pijnlijke aard van de ingreep. Dit werd verzekerd door kort pre-operatief 0,2 mg/kg methadone toe te dienen en door intra-operatief fentanyl met een ladingsdosis van 2 μ g/kg gevolgd door een CRI aan 5 μ g/kg toe te dienen.

In de humane geneeskunde wordt steeds meer interesse getoond in TIVA bij pediatrie patiënten (Morton, 2013) en vooral in de neurochirurgie wordt in de meerderheid van de gevallen voor TIVA gekozen (Zuleta-Alarcón et al., 2015). Bij ernstig zieke honden blijkt TIVA minder cardiovasculaire depressie te veroorzaken dan onderhoud met inhalatie-anesthetica, tenminste wanneer aangepaste protocollen gebruikt worden (Keegan en Green, 1993; Deryck et al., 2010). De technologie omtrent de monitoring van de diepte van TIVA ontwikkelt zich duidelijk, aangezien naast het gebruik van een CRI via een spuitpomp nu ook TCI een mogelijkheid is. Ook het meten van de propofolconcentratie in uitgeademde gassen zou in de toekomst een nieuwe manier kunnen zijn om de anesthesiediepte van de patiënt te monitoren (Egan, 2015). In de diergeneeskunde zou de hogere kostprijs vergeleken met inhalatieanesthesie echter een struikelblok kunnen blijven. Er kan geconcludeerd worden dat TIVA bij deze patiënt met een intratracheale aandoe-ning een noodzaak was en dat dankzij een uitgebreid diagnostisch onderzoek, een geïndividualiseerd anesthesisch plan en een gecoördineerde samenwerking tussen anesthesisten en chirurgen een succesvolle therapie kon worden ingesteld.

REFERENTIES

- Ahn Y., Chang H., Lim Y.S., Hah J.H., Kwon T.K., Sung M.W., Kim K.H. (2009). Primary tracheal tumors: review of 39 cases. *Journal of Thoracic Oncology* 4, 635-638.
- Bauquier S.H., Warne L.N., Carter J.E., Whitem T., Beths T. (2015). Influence of two administration rates of alfaxalone at induction on its relative potency in cats: a pilot study. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 19, 231-234.
- BCFI - Belgisch Centrum voor farmacotherapeutische informatie (2015). Neuro-actieve steroïden. In: Gustin P. (editor). *Gecommentarieerd Geneesmiddelenrepertorium voor Diergeneeskundig Gebruik 2015*, Liège, p. 175-176.
- Bednarski R., Grimm K., Harvey R., Lukasik V.M., Penn S., Sargent B., Spelts K. (2011). AAHA Anesthesia guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association* 47, 377-385.
- Beths T., Touzot-Jourde G., Musk G., Pasloske K. (2014). Clinical evaluation of alfaxalone to induce and maintain anaesthesia in cats undergoing neutering procedures. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 16, 609-615.
- Brown M.R., Rogers K.S. (2003). Primary tracheal tumors in dogs and cats. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 25, 854-859.
- Campagna I., Schwarz A., Keller S., Bettschart-Wolfensberger R., Mosing M. (2015). Comparison of the effects of propofol or alfaxalone for anaesthesia induction and maintenance on respiration in cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 42, 484-492.
- Clarke D.L. (2014). Upper airway disease. In: Silverstein D.C., Hopper K (editors). *Small Animal Critical Care Medicine*. Tweede editie, Saunders Elsevier, St. Louis, p. 92-104.
- Clarkson W.B., Davies J.R. (1978). Anaesthesia for carinal resection. *Anaesthesia* 33, 815-819.
- Deryck Y.L., Fonck K., De Baerdemaeker L., Naeije R., Brimiouille S. (2010). Differential effects of sevoflurane and propofol anesthesia on left ventricular-arterial coupling in dogs. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 54, 979-986.
- Egan T.D. (2015). Total intravenous anesthesia versus inhalation anesthesia: a drug delivery perspective. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 29, S3-S6.
- Fossum T.W., Willard M.D. (2007). Surgical Infections and Antibiotic Selection. In: Fossum T.W., Hedlund C.S., Johnson, A.L., Schulz K.S., Seim H.B., Willard M.D., Bahr A., Carroll G.L. (editors). *Small Animal Surgery*. Derde editie, Mosby Elsevier, St. Louis, p. 79-89.
- Haskins S.C., Peiffer R.L. Jr., Stowe C.M. (1975). A clinical comparison of CT1341, ketamine and xylazine in cats. *American Journal of Veterinary Research* 36, 1537-1543.
- Hoerauf K.H., Koller C., Jakob W., Taeger K., Hobbhahn J. (1996). Isoflurane waste gas exposure during general anaesthesia: the laryngeal mask compared with tracheal intubation. *British Journal of Anaesthesia* 77, 189-193.
- Howard J., Tolbert M. K. (2015). Feline tracheal tumors: Uncommon or overlooked? *Clinician's Brief May 2015*, 25-27.
- Kästner S.B.R. (2007). Intravenous anaesthetics. In: Seymour C., Duke-Novakovski T. (editors). *BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia*. Tweede editie, Wiley, Iowa, p. 133-149.
- Keegan R.D., Greene S.A. (1993). Cardiovascular effects of a continuous two-hour propofol infusion in dogs: comparison with isoflurane anesthesia. *Veterinary Surgery* 22, 537-543.
- Kennedy M.J. (2016). Total Intravenous Anesthesia. In: Smith L.J. (editor). *Questions and Answers in Small Animal Anesthesia*. Eerste editie, Wiley Blackwell, Iowa, p. 101-105.
- Lee P., English I.C. (1974). Management of anaesthesia during tracheal resection. *Anaesthesia* 29, 305-306.
- Luisito S.P. (2011). Total IV anesthesia. In: *Proceedings of the ACVS 2011*, 553-557.
- Luyet C., Boudah R., McCartney C.J., Zeldin R., Rizoli S. (2013). Low-frequency ventilation through a bronchial blocker for tracheal repair after a rare complication of percutaneous dilatational tracheostomy. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 27, 108-110.
- Milella L., Matthew G. (2016). Dental and oral surgery. In: Duke-Novakovski T., de Vries M., Seymour C. (editors). *BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia*. Derde editie, Wiley, Iowa, p. 272-282.
- Morgan D.W., Legge K. (1989). Clinical evaluation of propofol as an intravenous anaesthetic agent in cats and dogs. *Veterinary Record* 124, 31-33.
- Morton N.S. (2013). Total intravenous anesthesia (TIVA) and target controlled infusions (TCI) in children. *Current Anesthesiology Reports* 3, 37-41.
- O'Hagan B.J., Pasloske K., McKinnon C., Perkins N.R., Whitem T. (2012). Clinical evaluation of alfaxalone as an anaesthetic induction agent in cats less than 12 weeks of age. *Australian Veterinary Journal* 90, 395-401.
- Posner L.P. (2007). Pre-anaesthetic assessment. In: Seymour C., Duke-Novakovski T. (editors). *BSAVA Manual of Canine and Feline Anaesthesia and Analgesia*. Tweede editie, Wiley, Iowa, p. 6-11.
- Prasse S.A., Schrack J., Wenger S., Mosing M. (2016). Clinical evaluation of the v-gel supraglottic airway device in comparison with a classic laryngeal mask and endotracheal intubation in cats during spontaneous and controlled mechanical ventilation. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 43, 55-62.
- Raisi A., Musk G. (2012). Emergency neuroanesthesia. In: Platt S., Garosi L. (editors). *Small Animal Neurological Emergencies*. Eerste editie, CRC Press, Boca Raton, p. 535-556.
- Roach W., Krahwinkel D.J.Jr. (2009). Obstructive lesions and traumatic injuries of the canine and feline tracheas. *Continuing Education for Veterinarians* 31, E6.
- Rodrigo-Mocholi D., Belda E., Bosmans T., Laredo F.G. (2016). Clinical efficacy and cardiorespiratory effects of intramuscular administration of alfaxalone alone or in combination with dexmedetomidine in cats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 43, 291-300.
- Sasono N., Tanaka A., Muramatsu A., Fujita Y., Ito S., Sasano H., Sobue K. (2014). Tidal volume and airway pressure under percutaneous transtracheal ventilation without a jet-ventilator: comparison of high-flow oxygen ventilation and manual ventilation in complete and incomplete upper airway obstruction models. *Journal of Anesthesia* 28, 341-346.
- Schwarz A., Kalchofner K., Palm J. (2014). Minimum infusion rate of alfaxalone for total intravenous anaesthesia after sedation with acepromazine or medetomidine in cats undergoing ovariohysterectomy. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 41, 480-490.
- Sirian R., Wills J. (2009). Physiology of apnoea and the

- benefits of preoxygenation. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain* 9, 105-108.
- Sideri A.I., Galatos A.D., Kazakos G.M., Gouletsou P.G. (2009). Gastro-oesophageal reflux during anaesthesia in the kitten: comparison between use of a laryngeal mask airway or an endotracheal tube. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 36, 547-554.
- Taboada F.M., Murison P.J. (2010). Induction of anaesthesia with alfaxalone or propofol before isoflurane maintenance in cats. *The Veterinary Record* 167, 85-89.
- Tamura J., Ishizuka T., Fukui S., Oyama N., Kawase K., Itami T., Miyoshi K., Sano T., Pasloske K., Yamashita K. (2015). Sedative effects of intramuscular alfaxalone administered to cats. *The Journal of Veterinary Medical Science* 77, 879-904.
- Warne L.N., Beths T., Gofal S., Bauquier S.H. (2014). The use of alfaxalone and remifentanyl total intravenous anaesthesia in a dog undergoing a craniectomy for tumor resection. *Canadian Veterinary Journal* 55, 1083-1088.
- Warne L.N., Beths T., Whittam T., Carter J.E., Bauquier S.H. (2015). A review of the pharmacology and clinical application of alfaxalone in cats. *The Veterinary Journal* 203, 141-148.
- Whittam T., Pasloske K.S., Heit M.C., Ranasinghe M.G. (2008). The pharmacokinetics and pharmacodynamics of alfaxalone in cats after single and multiple intravenous administration of Alfaxan at clinical and supraclinical doses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 31, 571-579.
- Zuleta-Alarcón A., Castellón-Larios K., Niño-de Mejía M.C., Bergese S.C. (2015). Anestesia Total intravenosa versus anestésicos inhalados en neurocirugía. *Revista Colombiana de Anestesiología* 43, 9-14.

Uit het verleden

PATERS HELPEN BIJ TEGENSLAGEN IN DE STAL

Ja, dat wijfke woonde toen daar. En die haar dochter woonde toen daar, en die kon ook iets (...). En in die boerderij woonde Jang. Dat is al jaren geleden, want nu zijn de kleinkinderen daar al van dood. Bij Jang gingen altijd de koeien kapot. Daar hadden ze altijd zo veel tegenslag in de stal. Toen zei de oude Jang, 'ik ga eens naar de paters.' Toen is hij naar de paters gegaan en die zeiden: 'Weet ge wat ge doet, ge gaat naar huis, ge maakt de stal leeg, ge doet de koeien de wei in en ge doet alles er uit en ge vult uw stal op met geel zand. Dan verdeelt ge dat zand en ge doet de deur open.' Zo had die dat gedaan een dag of drie, vier. Op een keer kwam hij de stal in en daar waren sporen van de deur en langs de deur op de hoek in schuins, van die hoek tot die hoek en schuins terug (in de vorm van een pentagram). Toen zijn de paters daar geweest. Ze hebben nooit nog pech gehad met de koeien en dat wijfke is nooit meer daar geweest. Maar dat is voor mijn tijd gebeurd, want mijn moeder was toen nog jong.

Bron:

Top, S., (2004). *Op Verhaal komen. Limburgs Sagenboek*, Davidsfonds, Leuven, p. 161-162.

Uit de mond van een 87 jarige huisvrouw uit Zonhoven. Opgenomen in de scriptie (Leuven) van Droogmans, E., (2002), *Heksen- en Tovenaarsverhalen uit Heusden – Zolder en omstreken*.

Luc Devriese

Post-grooming furunculose bij een hond

Post-grooming furunculosis in a dog

L. Rutten, P. Smets, S. Vandenabeele

Vakgroep Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

S.Vandenabeele@UGent.be

SAMENVATTING

Een mannelijke, intacte labrador retriever van vijf jaar oud werd op spoed aangeboden met algemene klachten van koorts, lethargie en anorexie. Tijdens het klinisch onderzoek werden erg pijnlijke huidletsels dorsaal ter hoogte van de nek en rug opgemerkt. Verder was er links apicaal een duidelijk systolisch bijgeruis met een graad van 4/6 aanwezig. Het histopathologisch onderzoek van een huidbiopt vertoonde een ruptuur van de follikelwand met daarrond een uitgesproken suppuratieve ontstekingsreactie. De hond werd gediagnosticeerd met post-grooming furunculose en mitralisklependocardiose ACVIM stage B2. De kiem verantwoordelijk voor de post-grooming folliculitis en furunculose werd door middel van bacteriologisch onderzoek ook gevonden in de shampoo waarmee de hond werd gewassen net voor de ontwikkeling van de huidletsels, waardoor een oorzakelijk verband tussen het wassen en de huidletsels kon aangenomen worden.

ABSTRACT

A five-year-old, intact, male labrador retriever was presented on emergency with general complaints of fever, lethargy and anorexia. During clinical examination, very painful skin lesions were noticed dorsally on the neck and back, and there was also a clear left apical systolic murmur with a degree of 4/6. On histopathological examination of the lesional skin, there was rupture of the follicle wall surrounded with a pronounced suppurative inflammation. The dog was diagnosed with post-grooming furunculosis and mitral valve endocardiosis ACVIM stage B2. Culture of the lesional skin and the shampoo used to wash the dog prior to the onset of the skin lesions revealed the presence of the same bacteria, evidencing a clear link between the bathing and development of the skin lesions.

INLEIDING

Huidinfecties met folliculitis en pijnlijke nodulen op handen en voeten na blootstelling aan gecontamineerde zwembaden, bubbelbaden en sauna's zijn een frequent voorkomend fenomeen bij de mens. Deze infecties worden over het algemeen geassocieerd met de gramnegatieve bacterie *Pseudomonas aeruginosa*. Dit is een omgevingskiem die regelmatig gevonden wordt in de bodem en in water. De contaminatie van waterbronnen of shampoodispensers kan makkelijker plaatsvinden bij toegenomen temperatuur, een hogere pH-waarde en bij onvoldoende reiniging en desinfectie (Cain en Mauldin, 2015).

Het acuut ontstaan van folliculitis en furunculose na het zwemmen of trimmen is eveneens beschreven bij de hond (Hillier et al., 2006; Ihrke en Gross, 2006). Furunculose kan ontstaan door folliculair trauma veroorzaakt door krachtige manipulatie van de huid of vacht, gevolgd door het wassen met bacterieel gecontamineerde shampoos of conditioners. In meerdere trimsalons wordt gebruik gemaakt van grote, her-

bruikbare containers waarin shampoo verdund wordt en die soms onvoldoende gereinigd worden alvorens opnieuw gevuld te worden. Bij aangetaste honden worden uit de huidletsels voornamelijk *Pseudomonas aeruginosa* en andere gramnegatieve bacteriën geïsoleerd (Ihrke en Gross, 2006; Baxter en Vogelnest, 2008; Cain en Mauldin, 2015).

De huidletsels bij post-grooming furunculose zijn voornamelijk dorsaal gelokaliseerd ter hoogte van de nek en rug. Bij sommige honden worden er echter ook letsels gevonden ter hoogte van de inguinale regio, de achterpoten, de kop en het laterale aspect van de thorax. De huidletsels zelf bestaan uit hemorragische korsten, papels, pustels, plaques, puntulcera en nodulen. Vóór het acuut ontstaan van de huidklachten was er sprake van contact met water en trimproducten. Het tijdsverloop tussen watercontact en letselontwikkeling varieert van één tot zeven dagen (Hillier et al., 2006; Ihrke en Gross, 2006; Baxter en Vogelnest, 2008; Cain en Mauldin, 2015). De huidletsels lijken erg pijnlijk te zijn bij palpatie (Hillier et al., 2006; Ihrke en Gross, 2006).



Figuur 1. Rug van de hond met dorsaal georiënteerde huidletsels.



Figuur 2. Detailfoto van de huidletsels. Oedemateuze maculae met perifeer erythemateuze rand en centrale bloeding.

Dergelijke post-grooming furunculose is een vorm van diepe pyodermie, waarbij de haarfollikels aangeast en soms ook vernietigd worden. De voornamelijk dorsaal georiënteerde lokalisatie van de huidletsels kan gerelateerd zijn aan de typische techniek van wassen en borstelen door eigenaars en trimmers. Hierbij wordt voornamelijk dorsaal geborsteld en overvloedig gebruik gemaakt van shampoo. Bovendien bevat deze regio een verhoogde dichtheid van haarfollikels en dikkere haarschachten (Ihrke en Gross, 2006; Cain en Mauldin, 2015).

Vaak zijn er bij honden met dergelijke huidletsels ook bijkomende systemische klinische symptomen. De meest beschreven afwijkingen zijn lethargie, tekenen van rug- en/of nekpijn, koorts, partiële anorexie, stijve gang, dehydratatie, diarree en koptremoren (Cain en Mauldin, 2015).

Post-grooming furunculose kan gediagnosticeerd worden door middel van het vaststellen van de typische huidletsels in combinatie met een voorgeschiedenis van wassen of trimmen en een histopathologisch en bacteriologisch onderzoek van de huidletsels. Om de oorzaak van contaminatie te bevestigen kan ook bacteriologisch onderzoek uitgevoerd worden van de gebruikte shampoo en/of containers (Hillier et al.,

2006; Baxter en Vogelnest, 2008; Cain en Mauldin, 2015).

Voor de behandeling wordt gebruik gemaakt van systemische antimicrobiële middelen. De keuze van het juiste antibioticum wordt bepaald door een antibiogram. Deze geeft de gevoeligheid van de betreffende kiem aan. Bij staaftjesinfecties van de huid is het aan te raden een antibiogram te laten maken, omdat staaftjes sneller resistent worden tegen meerdere antibiotica. Er wordt frequent gebruik gemaakt van fluoroquinolonen (marbofloxacin of enrofloxacin) voor de behandeling van post-grooming furunculose. Na drie à vier weken wordt een goede klinische respons opgemerkt (Hillier et al., 2006; Baxter en Vogelnest, 2008; Cain en Mauldin, 2015).

CASUÏSTIEK

Een vijf jaar oude, mannelijke, intacte labrador retriever van 25 kg werd op spoed aangeboden op de Faculteit Diergeneeskunde (UGent) met algemene klachten van koorts, lethargie en anorexie sedert twee dagen. De eigenaars merkten bovendien een roodkleurige vlek op dorsaal ter hoogte van de schouderbladen. Deze was gezwollen en pijnlijk. Drie dagen voor de hond op de faculteit aangeboden werd, werd hij naar een trimsalon gebracht. De hond kreeg op dat moment geen medicatie toegediend. Hij werd niet ontwormd en niet tegen vlooiën en teken behandeld.

Op het klinisch onderzoek gaf de hond in het algemeen een kalme indruk. Hij had een hartfrequentie van 140 per minuut en een matig geslagen pols. De mucosae waren roze, niet plakkerig en de capillaire vullingstijd was minder dan twee seconden. De lichaamstemperatuur bedroeg echter 40,6°C en een systolisch bijgeruis links apicaal met een graad 4/6 was waarneembaar. Bij longauscultatie, buikpalpatie en palpatie van de lymfeknopen waren er geen significante afwijkingen.

Er werd een dermatologisch onderzoek uitgevoerd waarbij initieel een erythemateuze macula te zien was dorsaal, ter hoogte van de schouderbladen. Toen deze regio voor optimale inspectie geschoren werd, werden dorsaal georiënteerde, uitgebreide, oedemateuze maculae met een perifeer erythemateuze rand en centrale bloeding opgemerkt. Enkele ulcera waren eveneens aanwezig (Figuur 1 en 2). De hond reageerde agressief omwille van de pijnlijkheid van deze regio.

Op basis van de anamnese en het lichamelijke en dermatologisch onderzoek was post-grooming furunculose de meest waarschijnlijke diagnose. Om deze waarschijnlijkheidsdiagnose te bevestigen werden bijkomende onderzoeken uitgevoerd, namelijk cytologie, histopathologie en cultuur van een biopt, alsook cultuur van de shampoo om het oorzakelijk verband aan te tonen.

Voor het systolisch bijgeruis links apicaal met een graad 4/6 was het minder eenvoudig. Twee mogelijke

diagnosen werden naar voren geschoven: bacteriële valvulaire endocarditis van de mitralisklep en mitralisklependocardiose.

Gezien het vermoedelijk acute ontstaan van het bijgeruis, de aanwezigheid van koorts en pyodermie was een mitralisklependocarditis de meest waarschijnlijke differentiaaldiagnose. Bij mitralisklependocardiose zou het bijgeruis normaal gezien in een eerder stadium al opgemerkt moeten zijn geweest. Vermits deze patiënt voor de eerste keer werd aangeboden op de Faculteit Diergeneeskunde te Merelbeke, is het mogelijk dat een mild bijgeruis in het verleden onopgemerkt gebleven is. Daarenboven is mitralisklependocardiose de meest voorkomende hartaandoening bij honden. Echocardiografie is hier absoluut aangeraden, alsook het documenteren van de evolutie van de klepletsels. Indien het zou gaan om endocarditis, dan zou er een klinische verbetering verwacht kunnen worden na een correcte en langdurige antibioticumtherapie, terwijl dit niet het geval is bij mitralisklependocardiose.

Terwijl de hond gehospitaliseerd was, werden voor het opstarten van de juiste behandeling diagnostische testen uitgevoerd. Omwille van de koorts en enkele vage klachten werd er een algemeen bloedonderzoek uitgevoerd. Er werden slechts enkele abnormaliteiten waargenomen, waaronder leukocytose, met vooral neutrofilie ($21,11 \times 10^4$ (ref.: 2,95-11,64)), wat indicatief is voor een ontsteking.

Er werd ook gekozen voor medische beeldvorming omwille van de koorts, het bijgeruis en de algemene klachten. Op de radiografieën van de thorax werden geen abnormaliteiten vastgesteld en op de echografieën van het abdomen waren evenmin significante abnormaliteiten merkbaar, behalve een kleine nodule in de milt en een vergrote, caudale pool van de linkerbijnier. Met behulp van echografie werd urine verzameld door middel van een cystocentesis voor een bijkomend urineonderzoek. Daarop werden enkele abnormaliteiten vastgesteld, zoals de aanwezigheid van rode bloedcellen en bilirubine, een verhoogde pH van +8,0 (4,5 – 7,0) en een verhoogd aantal eiwitten in de urine. Het bacteriologisch onderzoek van de urine was negatief voor pathogene bacteriën.

Omwille van het systolisch bijgeruis links apicaal met een graad van 4/6, dat hoorbaar was op auscultatie, werd overgegaan tot echocardiografisch onderzoek. Hierbij werden een goede systolische functie en normale kamerdimensie vastgesteld. Er was een mild verdikte mitralisklep aanwezig zonder oscillerende laesies. Verder was de klepmorfologie normaal. Bij het meten van de bloedflow werd een matige mitralis- en milde tricuspidalisklepinsufficiëntie, beide met normale drukgradiënt, opgemerkt. De metingen die gedaan werden tijdens dit onderzoek bevonden zich binnen het referentie-interval. Hierdoor kon geconcludeerd worden dat de klepveranderingen ter hoogte van de mitralisklep zodanig mild waren, dat er op dat ogenblik geen fulminante, valvulaire endocarditis aanwezig was. Er kon echter geen differentiatie gemaakt worden tussen degeneratieve letsels ten ge-

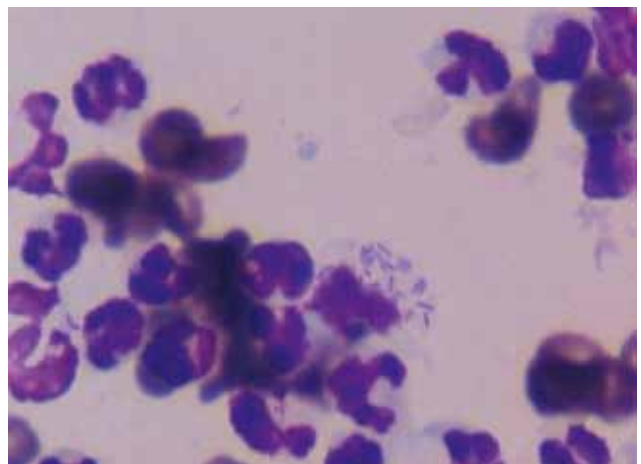
volge van mitralisklependocardiose ACVIM stage B1 en een beginnende bacteriële valvulaire endocarditis.

Er werd sterk aangeraden de evolutie van de klepletsels echocardiografisch op te volgen. Vermits het ontstaan van het bijgeruis recent leek, kon dit wijzen in de richting van endocarditis, maar een mild bijgeruis ten gevolge van mitralisklependocardiose kan in het verleden onopgemerkt gebleven zijn.

Verder werd er cytologisch onderzoek uitgevoerd van het hemorragisch materiaal uit de ulcera. Hierbij was hematopoëtisch weefsel aanwezig, bestaande uit neutrofielen, gedegenererde neutrofielen, alsook wat bloedcontaminatie. Er waren eveneens neutrofielen met gefagocyteerde staafjes aanwezig, wat wijst op pyodermie (Figuur 3). Omwille van deze bevindingen werd er overgegaan tot histopathologisch en bacteriologisch onderzoek van lesionale huid.

Voor het histopathologisch onderzoek werden twee bipten van de letsels genomen met behulp van een 8mm-punch. Op beide huidbipten waren analoge veranderingen zichtbaar. In de oppervlakkige en interfolliculaire dermis was er een interstitieel tot diffuus ontstekingsinfiltraat aanwezig, bestaande uit hoofdzakelijk neutrofielen met bijmenging van enkele histocyten. Focaal was er een ruptuur van een follikelwand (= furunculose) aanwezig met daarrond een uitgesproken suppuratieve ontstekingsreactie. Verder was er oedeem zichtbaar in de dermis, alsook microbloedingen. De bovenliggende epidermis was intact en focaal spongietisch. Er werden geen demodexmijten waargenomen in deze bipten en de PAS-kleuringen waren negatief voor schimmels. Op basis van deze histopathologische bevindingen werd de diagnose gesteld van bacteriële folliculitis en furunculose die, gezien de locatie van de letsels, het meest aanleunde bij post-grooming furunculose.

Er werd een antibiogram opgevraagd om de gevoeligheid van de kiem na te gaan en zo de juiste antibioticumtherapie op te starten. Een derde huidbipt werd onderworpen aan bacteriologisch onderzoek. Initieel was er na 48 uur incubatie geen groei merkbaar. De cultuur werd aangerijkt met thioglycollaat,



Figuur 3. Cytologisch beeld van de gefagocyteerde staafjes.

waarna er wel groei van *Pseudomonas aeruginosa* werd waargenomen.

Het pompje van de shampoodispenser werd bacteriologisch onderzocht om na te gaan of dezelfde kiem erin gevonden kon worden. Talrijke kolonies van *Klebsiella oxytoca* en nog meer kolonies van *Pseudomonas aeruginosa* werden aangetroffen.

Aangezien er op het bacteriologisch onderzoek van zowel het huidbiopt als van de shampoo *Pseudomonas aeruginosa* werd vastgesteld, kon geconcludeerd worden dat de shampoo de bron van de *Pseudomonas aeruginosa*-infectie was. Hierdoor werd een direct oorzakelijk verband aangetoond tussen het wassen van de hond met die shampoo en de ontwikkeling van de huidletsels.

Voor het systolisch bijgeruis kon er initieel niet met zekerheid gezegd worden of de milde klepletsels veroorzaakt werden door bacteriële valvulaire endocarditis of mitralisklependocardiose. Daarom werd aangeraden regelmatig een echocardiografische controle te laten uitvoeren om de evolutie van de klepletsels te kunnen opvolgen.

Omwille van de algemene klachten en de hoge koorts werd besloten de hond te hospitaliseren in afwachting van de resultaten van het verder onderzoek. Het dier werd intraveneus behandeld met een combinatietherapie van enrofloxacin (Floxadil, AST farma, Nederland, 50mg/ml; 5mg/kg) en amoxicilline (Clamoxyl, GSK, Verenigd Koninkrijk, 1g/5ml; 15mg/kg) in afwachting van de resultaten van het bacteriologisch onderzoek. Deze combinatietherapie werd toegepast om op die manier een breder spectrum te verkrijgen, alsook vanwege de mogelijkheid van een bacteriële valvulaire endocarditis. Verder werden pijnmedicatie en een ontstekingsremmer (Carprofen, Zoetis, Nederland, 50mg/ml; 4mg/kg) toegediend. Er werd ook een vloeistoftherapie toegepast met Hartmann eenmaal onderhoud en met behulp van koude compressen werd gepoogd de hond af te koelen omwille van de hoge koorts.

De patiënt werd gedurende de hospitalisatie dagelijks grondig opgevolgd. Eén dag na opname was de hond alerter, cardiovasculair stabiel, vertoonde hij geen koorts meer en was hij opnieuw beginnen eten en drinken.

Na drie dagen werd opnieuw een echocardiografie uitgevoerd ter herevaluatie van de mitralisklep. Deze vertoonde geen morfologische evolutie. Omwille van de cardiovasculaire stabiliteit, alertheid en goede eetlust werden de vloeistoftherapie en ontstekingsremmers gestopt en mocht de patiënt naar huis. De combinatietherapie van antibiotica (Kesium®, Ceva, Brussel en Xeden®, Ceva, Brussel) werd thuis verder gezet in afwachting van de resultaten van het dermatologisch onderzoek. De duur van de antibioticumbehandeling voor de bacteriële furunculose bedraagt minstens vier weken. Er werd echter een controleonderzoek aangeraden op de dienst Cardiologie en Dermatologie van de vakgroep Kleine Huisdieren (UGent) binnen de vier weken voor het einde van de antibioticumbehan-

deling. De eigenaars werden geadviseerd om contact op te nemen indien er opnieuw koorts, sufheid, verminderde eetlust of huidletsels zouden optreden.

Ongeveer één week later waren de resultaten van het dermatologisch onderzoek bekend. De behandeling met amoxicilline (Kesium®, Ceva, Brussel) werd stopgezet; de behandeling met enrofloxacin (Xeden®, Ceva, Brussel), werd verdergezet omwille van de goede respons van de kiem op dit antibioticum.

De hond werd een maand later ter controle aangeboden. Het dier stelde het erg goed en herstelde na inspanning vrij snel. Sinds het vorige bezoek aan de Faculteit Diergeneeskunde in Merelbeke had de eigenaar zich op eigen initiatief een stetoscoop aangeschaft om de graad van het bijgeruis in de gaten te kunnen houden. De huidletsels waren duidelijk verbeterd: de ulcera waren volledig verdwenen en het enige restletsel was een nog niet volledig ingegroeide vacht op de plaatsen waar de hond bij initiële opname werd geschoren om de letsels beter te kunnen visualiseren.

De intieme twijfel tussen mitralisklependocarditis en -endocardiose onderstreept het belang van de controle met behulp van echocardiografie om de evolutie van de mitralisklep te beoordelen. Er was een goede systolische functie, het linkeratrium en -ventrikel waren mild gedilateerd en er was nog steeds een mild verdikte mitralisklep aanwezig. Bij het meten van de bloedflow werd een matige mitralis- en milde tricuspidalisklepinsufficiëntie opgemerkt. Er was een milde volumeoverbelasting van het linkerhart en een mitralisklep zonder morfologische evolutie detecteerbaar, waardoor de diagnose gesteld werd van mitralis- en tricuspidalisendocardiose ACVIM stage B2 met matige linkeratriumdilatatie en milde dilatatie van het linkerventrikel.

Omwille van deze diagnose werd er besloten om hartmedicatie, pimobendan (Vetmedin®, Boehringer, Ingelheim) 0,28mg/kg 2x per dag oraal, op te starten om de progressie van mitralisklependocardiose ACVIM stage B2 naar hartfalen te vertragen. Er werd geadviseerd om na vier maanden opnieuw op controle te komen en in de tussentijd de hart- en ademhalingsfrequentie op te volgen. Een stijgende trend in de ademhalingsfrequentie, geteld door de eigenaar thuis, is een van de beste manieren om congestief hartfalen tijdig op te sporen. De resultaten van die controle waren op het tijdstip van publicatie van deze casuïstiek nog niet bekend.

DISCUSSIE

Bacteriële huidinfectie is een zeer frequent voorkomende aandoening bij de hond (Ihrke PJ, 1990). Hierbij is *Staphylococcus Pseudointermedius* de kiem die het meest geïsoleerd wordt. *Pseudomonas* is een frequent voorkomende, pathogene kiem bij caniene otitis, maar wordt zeer zelden geassocieerd met de ontwikkeling van huidletsels. Hillier, et al. beschreven in 2006 voor de eerste maal een groep honden

met acute, diepe *Pseudomonas*-pyodermie (Hillier et al., 2006). Kenmerkend voor deze aandoening is het acuut verloop van pijnlijke bloedblaren en puntulcera ter hoogte van de dorsale romp, de goede respons op fluoroquinolonetherapie en suppuratieve folliculitis en furunculose op histopathologisch onderzoek. Aangezien dit een retrospectieve studie was, werd er toen nog niet direct een link gelegd met het wassen of trimmen net vóór het ontstaan van de huidletsels. Pas later werd door Peter Ihrke et al. een nieuwe vorm van diepe bacteriële pyodermie beschreven veroorzaakt door *Pseudomonas* en gelinkt aan het wassen en/of trimmen, i.e. post-grooming furunculose (Ihrke PJ en Gross TL, 2006). Post-grooming furunculose is dus een “nieuwe” huidaandoening, relatief zeldzaam en voornamelijk veroorzaakt door *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas* is een opportunistisch pathogeen dat klinische ziekte veroorzaakt wanneer de gastheerbarrière onderbroken is. Dat kan onder andere het geval zijn bij onderbreking van de huidbarrière ((brand)wonde), het verlengd gebruik van antibiotica met onderdrukking van de normale flora, immunosuppressieve therapie of iatrogeen veroorzaakt, bijvoorbeeld door chirurgie of een intraveneuze katheter (Court et al., 1994; Baxter en Vogelnest, 2008).

Post-grooming furunculose wordt het meest gezien bij grote hondenrassen met een dichte, korte vacht, zoals bij de labrador retriever en Duitse herder, en minder frequent bij honden met een fijne en dunne vacht, zoals de poedel of maltezer (Ihrke en Gross, 2006; Cain en Mauldin, 2015). Ook de hond in deze casus behoorde tot de gepredisponeerde rassen (labrador retriever) en had een dikke vacht. Verder is er geen geslachts- of leeftijdsprevalentie.

De huidletsels worden gekarakteriseerd door hemorrhagische korsten, papels, pustels, nodulen en puntulcera. Bovendien is er bij deze aandoening een typische dorsale distributie aanwezig. Ook in deze casus waren er typische puntulcera, met een karakteristieke dorsale distributie van de letsels. Ook de eerder omschreven systemische klachten van koorts, anorexie en lethargie waren aanwezig in deze patiënt. Ook de pijnlijkheid van de letsels was duidelijk in deze casus: daar waar een anders rustige, speelse hond nu opeens agressief werd bij het aanraken van de rug. De respons op antibiotica is snel en spectaculair. Binnen de 24 uur na de eerste toediening van de antibiotica was de hond alerter, koortsvrij en ondervond hij minder pijn. In een recent artikel van Cain en Mauldin (2015) wordt aangegeven dat de algemene klinische klachten binnen 24-48 uur na de start van de antibioticatherapie verdwijnen (Cain en Mauldin, 2015).

Vermeldenswaardig bij deze aandoening is dat alopecie geen typische bevinding is bij aangetaste dieren (Hillier et al., 2006; Cain en Mauldin, 2015). Ook bij de patiënt van de voorliggende casus was de uitgebreidheid van de oorspronkelijke huidletsels niet duidelijk zichtbaar. Scheren was noodzakelijk om de letsels goed te visualiseren.

Het diagnosticeren van deze aandoening is niet

altijd eenvoudig omwille van het feit dat de dieren meestal aangeboden worden voor de systemische afwijkingen en de huidletsels vaak pas later opgemerkt worden. Het is erg belangrijk om tijdens de anamnese te vragen of het dier recent in contact kwam met water, bijvoorbeeld gezwommen heeft en/of gewassen werd. Typisch voor deze aandoening is het acute ontstaan kort (binnen de één à zeven dagen) na een bezoek aan een trimsalon (Hillier et al., 2006; Cain en Mauldin, 2015).

Ook bij deze hond was het initieel niet eenvoudig om de diagnose te stellen. Het dier werd in spoed binnengebracht met voornamelijk algemene systemische afwijkingen, zoals koorts, lethargie en anorexie. De letsels op de huid werden pas opgemerkt wanneer de hond agressief gedrag vertoonde door de pijnlijkheid dorsaal ter hoogte van de nek en rug. Bij het scheren van deze regio werden de huidletsels duidelijker zichtbaar en kon een eerste link gelegd worden met post-grooming furunculose.

Een tweede belangrijke bevinding bij deze patiënt was het systolisch bijgeruis met een graad van 4/6. Vermits deze hond voor de eerste keer werd aangeboden op de Faculteit Diergeneeskunde te Merelbeke, was het onduidelijk of dit bijgeruis nieuw was of al sinds langere tijd onopgemerkt aanwezig was. Aan de hand van de anamnese, het klinisch onderzoek en de resultaten van echocardiografisch onderzoek was er een vermoeden van bacteriële valvulaire endocarditis of mitralisklependocardiose. Het stellen van een exacte diagnose was echter niet eenvoudig, vermits beide aandoeningen gelijkaardige afwijkingen vertonen op echocardiografie en er niet bekend was of het bijgeruis al enige tijd aanwezig was.

Verder onderzoek was noodzakelijk alvorens een definitieve diagnose kon gesteld worden met betrekking tot de huidletsels. Met behulp van een swab werd hemorrhagisch materiaal van een puntulcer verzameld en cytologisch onderzocht. Hierbij waren neutrofielen met gefagocyteerde staafjes zichtbaar, wat indicatief was voor staafjespyodermie en post-grooming furunculose. In een studie van Hillier et al. (2006) werd aangetoond dat het cytologisch aantonen van gefagocyteerde staafjes slechts bij 25% van de patiënten mogelijk was. Andere mogelijkheden voor het opsporen van post-grooming furunculose zijn weefselcultuur voor *Pseudomonas* en het histologisch aantonen van perforerende suppuratieve folliculitis en furunculose. Ook bij de patiënt van de huidige casus werden onder verdoving enkele punchbiopten genomen voor histopathologisch onderzoek en voor weefselcultuur. Op histopathologisch onderzoek waren de typische bevindingen aanwezig van post-grooming furunculose, namelijk een ruptuur van een follicelwand, of furunculose genoemd. Dit beeld was erg suggestief voor bacteriële folliculitis en furunculose en wordt ook meermaals vermeld in de literatuur (Hillier et al., 2006; Baxter en Vogelnest, 2008; Cain en Mauldin, 2015). Uit het bacteriologisch onderzoek van een weefselstaal was er na een langdurigere incubatie van

meer dan 48 uur groei aanwezig van *Pseudomonas aeruginosa*, die de kiem is die het meest gezien wordt bij deze aandoening.

Om het verband tussen de aandoening en het recente bezoek aan de trimmer te onderzoeken, werd het pompje van de shampoodispenser bacteriologisch onderzocht. Talrijke kolonies van *Klebsiella oxytoca* en nog meer kolonies van *Pseudomonas aeruginosa* werden aangetoond. Er kon geconcludeerd worden dat de kiem in het huidbiopt dezelfde was als die in het pompje.

Bij het algemeen bloedonderzoek werd leukocytose aangetoond, waaronder voornamelijk neutrofilie. In de literatuur wordt deze bevinding beschreven als een frequent voorkomende afwijking bij dergelijke patiënten (Cain en Mauldin, 2015).

Omwille van het feit dat de *Pseudomonas*-kiem frequent resistentie vertoont tegen verschillende antibiotica, wordt er een selectie gemaakt met behulp van een antibiogram. In de literatuur wordt vooral het gebruik van fluoroquinolonen beschreven (Court et al., 1994; Hillier et al., 2006; Baxter en Vogelnest, 2008; Cain en Mauldin, 2015). Ook bij deze patiënt werd een behandeling opgestart met breed spectrumantibiotica en werd gebruik gemaakt van een combinatietherapie met enrofloxacin (fluoroquinolone) en amoxicilline. Deze combinatietherapie werd voornamelijk toegepast om een nog breder spectrum te bekomen dan bij een monotherapie. Initieel werd de hond gehospitaliseerd waardoor het ook mogelijk was om de patiënt systemisch te behandelen met het antibioticum. Na het verkrijgen van de resultaten van het antibiogram bleek dat er resistentie aanwezig was tegenover amoxicilline. De combinatietherapie werd echter voortgezet omwille van de algemene klinische symptomen, het vermoeden van endocarditis en omdat de resultaten van de huidcultuur nog niet bekend waren.

Na drie dagen was er veel beterschap en mocht de hond naar huis, waar de antibioticumtherapie oraal werd verdergezet. Nadat bevestigd werd dat *Pseudomonas aeruginosa* aan de basis lag van de huidletsels en de klinische afwijkingen, werd de behandeling met amoxicilline stopgezet en enkel verdergezet met enrofloxacin. Deze therapie was voldoende omwille van de goede respons van de kiem op dit antibioticum. Bij post-grooming furunculose komt diepe pyodermie voor, waardoor een langdurige antibioticumbehandeling van minimaal drie weken noodzakelijk is (Court et al., 1994; Hillier et al., 2006; Baxter en Vogelnest, 2008; Cain en Mauldin, 2015).

Tijdens het controlebezoek van de patiënt waren de huidletsels spectaculair verbeterd en stelde de hond het goed. Er werd een echocardiografisch onderzoek uitgevoerd ter controle met een uiteindelijke diagnose van mitralisklependocardiose ACVIM stage B2. Om de progressie naar congestief hartfalen te vertragen, werd er gekozen om een therapie met pimobendan op te starten. Verder werd er geadviseerd om na vier

maanden opnieuw op controlebezoek te komen en in de tussentijd de hart- en ademhalingsfrequentie op te volgen. De resultaten van die controle waren op het tijdstip van publicatie van deze casuïstiek nog niet bekend.

BESLUIT

In deze casus wordt een relatief nieuwe huid-aandoening, post-grooming furunculose, beschreven bij een labrador retriever. Een oorzakelijk verband tussen het wassen van de hond met shampoo in het trimsalon en het ontstaan van de huidletsels werd vermoed en bevestigd door bacteriologisch onderzoek.

LITERATUUR

- Atkins C., Bonagura J., Ettinger S., Fox P., Gordon S., Haggstrom J., Hamlin R., Keene B., Luis-Fentes V., Stepien R. (2009). Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Canine Chronic Valvular Heart Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 1142-1150.
- Baxter C. G., Vogelnest L. J. (2008). Multifocal papular deep bacterial pyoderma in a Boxer dog caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Australian Veterinary Journal* 86, 435-439.
- Borgarelli M., Crosara S., Lamb K., Savarino P., La Rosa G., Tarducci A., Haggstrom J. (2012). Survival characteristics and prognostic variables of dogs with preclinical chronic degenerative mitral valve disease attributable to myxomatous degeneration. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26, 69-75.
- Cain C. L., Mauldin E. A. (2015). Clinical and histopathologic features of dorsally located furunculosis in dogs following water immersion or exposure to grooming products: 22 cases (2005-2013). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 246, 522 – 529.
- Court E. A., Watson A. D. J., Martin P. (1994). *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in a dog. *Australian Veterinary Journal* 71, 25-27.
- Daminet S. (2014). Aanvullingen in de geneeskundige ziektenleer van de gezelschapsdieren. Partim: Interne Geneeskunde. *Cursus Faculteit Diergeneeskunde Gent*, 21-23.
- Declercq J. (2014). Aanvullingen in de geneeskundige ziektenleer van de gezelschapsdieren. Partim: Dermatologie. *Cursus Faculteit Diergeneeskunde Gent*, 24.
- Hillier A., Alcorn J. E., Cole L. K., Kowalski J. J. (2006). Pyoderma caused by *Pseudomonas aeruginosa* infection in dogs: 20 cases. *European Society of Veterinary Dermatology* 17, 432-439.
- Ihrke P. J., Gross T. L. (2006). Warning about postgrooming furunculosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 229, 1081-1082.
- Peddle G., Sleeper M. M. (2007). Canine bacterial endocarditis: a review. *Journal of the American Animal Hospital Association* 43, 258-263.

An unusual case of pheochromocytoma and unruptured abdominal aortic aneurysm in a male Yorkshire terrier

Ongebruikelijk voorkomen van een feochromocytoom en niet-geruptureerd aneurysma van de abdominale aorta bij een mannelijke yorkshireterriër

¹B.Á. Rodrigues, ²Q.G. Grangeiro, ²C. Scaranto, ³G. Konradt, ³M.V. Bianchi, ⁴D. Driemeier, ⁵J.L.R. Rodrigues

¹Av. Cristo rei 134; 93020-350 São Leopoldo, RS Brazil

²Medvet Veterinary Clinic, Av. Boqueirão 1004, Canoas, RS-Brazil

³Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine- Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090 Prédio 42505 – Agronomia – Porto Alegre, RS- Brazil

⁴Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine- Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090 Prédio 42505 – Agronomia – Porto Alegre, RS- Brazil

⁵Laboratory of Embryology and Biotechniques of Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine- Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090-Agronomia- Porto Alegre, RS- Brazil

joseluz.rodrigues@ufrgs.br; berenice@portoweb.com.br

ABSTRACT

A six-year-old, male Yorkshire terrier was presented with acute vomiting, anorexia, depression, watery diarrhea and sudden blindness. On the basis of a transabdominal ultrasonographic examination, the presence of a prominent aortic aneurysm was established. The aneurysm of the aorta was confirmed at post-mortem examination. Unexpectedly, a pheochromocytoma of the left adrenal gland was found to be involved with the aneurysm. In this case report, the unusual occurrence of a large, unruptured abdominal aortic aneurysm (AAA) concurrent with a pheochromocytoma in a male Yorkshire terrier dog is discussed.

SAMENVATTING

Een zes jaar oude, mannelijke yorkshireterriër werd aangeboden met acuut braken, anorexia, depressie, waterige diarree en plotse blindheid. Op basis van een transabdominaal uitgevoerd echografisch onderzoek werd een prominent aneurysma van de abdominale aorta vastgesteld. Bij post-mortemonderzoek werden de aanwezigheid en de locatie van het aneurysma bevestigd. Bovendien werd een feochromocytoom van de linkerbijnier vastgesteld dat betrokken was bij het aneurysma. In deze casuïstiek wordt het uitzonderlijk voorkomen van een groot, niet-geruptureerd aneurysma van de abdominale aorta (AAA) samen met een feochromocytoom van de bijnier bij een mannelijke yorkshireterriër beschreven.

INTRODUCTION

Ante-mortem diagnosis of abdominal aortic aneurysms (AAAs) in dogs has been rarely reported in the literature. Currently, little is known about the events leading to the development of AAAs in the canine species. The term “aneurysm” is derived from the Greek *ανευρυσμα* (aneurism), meaning “widening”, and is defined as the permanent and irreversible localized dilation of a vessel (Sakalihasan et al., 2005). Large-

vessel aneurysm is a disorder of the tunica media of the arterial wall, characterized by destruction of the extracellular matrix components associated with remodelling of the vessel wall in an aneurysmal fashion (Michel, 1998). The usual pathophysiology of an aortic aneurysm involves disruption of the aortic intima and media, along with the formation of a hematoma (Waldrop et al., 2003). Hemodynamic stress facilitates the atheromatous process and impairs the mechanical properties of the abdominal aorta (Michel, 1998).

Many factors contribute to the pathogenesis of AAAs. Local inflammation, apoptosis and oxidative stress, which activate proteases and degrade the aortic wall, play a role (Rizas et al., 2009). This structural instability leads to weakening of the aortic wall and to aortic aneurysm. Additionally, hypertension has consistently been shown to be a major risk factor for AAAs in humans (Vardulaki et al., 2000) and in mice (Kanematsu et al., 2010). Pheochromocytomas can cause episodic or continuous systemic hypertension in 43% of dogs (Barthez et al., 1997; Loste et al., 2013). These tumors are uncommon in dogs (prevalence of 0.17-0.76%) (Myers, 1997).

Canine cases of AAAs have been associated with systemic fungal disease (Gershenson et al., 2011; Murata et al., 2015), spirocercosis (van der Merwe et al., 2008; Kirberger et al., 2013), and familial inheritance in Leonberger dogs (Chetboul et al., 2003). The coexistence of an AAA with a pheochromocytoma has been previously reported as uncommon in humans (Kota et al., 2013). The aim of this case report is to discuss the unusual occurrence of a concurrent large unruptured abdominal aortic aneurysm (AAA) and a pheochromocytoma in a male Yorkshire terrier dog.

CASE REPORT

A six-year-old, male Yorkshire terrier presented with acute vomiting, anorexia, depression, watery diarrhea and sudden blindness. Physical examination revealed that the dog was very dehydrated and had pale mucous membranes. The rectal temperature was within normal limits, and the body condition score was 2/5. The skin of the ventral abdomen showed petechiae and multifocal ecchymosis. The hind limbs had mild subcutaneous edema. Routine (red and white) blood cell count was within normal limits for the species. Increased alkaline phosphatase (ALP) activity (583 IU/L; reference interval 20-156 IU/L) and increased urea (73.5 mmol/L; reference interval 10.7-

28.6 mmol/L) were observed on the serum chemistry panel. Additionally, thrombocytopenia ($0 \mu\text{L}$; reference interval 200.000- 500.000/ μL) and platelet aggregation (+++) were identified in the blood sample.

An abdominal ultrasonographic (US) examination was performed using a multiple frequency (5-8 MHz) convex transducer. Imaging results revealed moderate peritoneal effusion, bilaterally enlarged kidneys (dimensions of the left and right kidney were 5.24 cm and 5.21 cm, respectively; the normal reference interval for dogs weighing 0-4 kg is 3.2-3.3 cm) (Finn-Bodner, 1995) with mild left and right pyelectasis and urolithiasis in the bladder and the prostatic urethra. A hypoechoic, irregular nodular lesion (3.08 cm x 3.11 cm) was present in the pancreas. The pancreatic lesion was confirmed as a metastasis with necrosis at histopathology. Multiple enlarged lymph nodes with dimensions varying between 1.13 cm and 2.18 cm were visualized. The ultrasonographic features of the lymph nodes were that they were round in shape, hypoechoic relative to the surrounding fat and showed a homogeneous echotexture. Additionally, US examination revealed a pulsatile anechoic structure, which reflected a focal dilation of the abdominal aorta (4.39 cm x 3.94 cm) at the level of the branching of the left celiac artery (Figure 1A). Within the dilation, the blood flow was turbulent, with an appearance partially resembling a yin-yang sign; this pattern is observed on color Doppler as blood within one side of the aneurysm travelling towards the probe (colored red) and blood on the other side travelling away from the probe (colored blue) (Figure 1B). Additionally, remarkable invasion of the aorta by a hypoechoic thrombus was visualized (Figure 1A). Standard transverse and longitudinal views of the aneurysm components by US followed previous descriptions in the literature (Bhatt and Dogra, 2008). On the basis of the US findings, the diagnosis of an aortic aneurysm was established.

The patient's initial treatment was supportive and consisted of isotonic crystalloids (lactated Ringer's solution; sodium chloride 0.9% 40 mL/kg IV per day)



Figure 1A. B-mode scan of AAA (4.39 cm x 3.94 cm) in a male Yorkshire terrier. A large thrombus (T) surrounding the central lumen lines the aneurysmal wall (B.A. Rodrigues).



Figure 1B. Color Doppler scan of the unruptured AAA (partial yin-yang pattern) (white arrow) (B.A. Rodrigues).

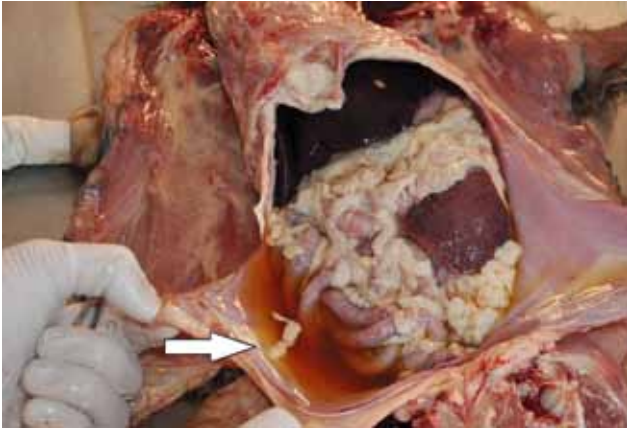


Figure 2. Initial post-mortem gross examination: free abdominal fluid (white arrow) (D. Driemeier).

administered in an alternately basis, empirical antibiotic treatment (enrofloxacin 2.5% and amoxicillin, 5 mg/kg sid SC and 10 mg/kg bid SC, respectively), fructose with vitamin B complex (one ampule IV per day), ondansetron (0.1 mg/kg bid IV) and prednisolone (1 mg/kg IM per day). After two days without signs of clinical improvement, the dog died. A full necropsy was then authorized and performed.

Initial post-mortem gross examination identified free abdominal fluid and extensive abnormal tissue overlapping the aneurysm's adjacent structures (Figures 2 and 3A). On the cut section, the abdominal aorta showed wall dissection at the level of the branching of the dilated celiac artery, with clot and thrombus formation (dissecting aneurysm), as specified by the pathologist (Figures 3A, 3B, 3C and 4). The left kidney exhibited subscapular hemorrhage and had multifocal whitish wedge-shaped areas in the cortical region (anemic infarction). The renal pelvis was dilated (slight hydronephrosis), and firm whitish areas were observed within the medullary cavity. Moreover, the liver was diffusely enlarged with rounded edges and was reddish in color (congestion). Additionally, the liver showed multifocal to coalescing yellow areas, firm nodules that were somewhat delimited (2.0 to 4.0 cm in diameter) and that, when cut, stretched to the parenchyma. The omentum had multifocal firm, yellow nodules (0.5 cm in diameter). The small intestine showed multifocal petechiae on the serous layer and focal adhesion to the pancreas. Histopathology revealed marked necrosis in the intestinal submucosa, along with fibrinoid degeneration in the vessel wall associated with infiltration by degenerated neutrophils.

Furthermore, the left adrenal gland was enlarged (5 x 3 x 2 cm), diffusely reddish, soft and friable on the cut surface. Histopathology was consistent with pheochromocytoma. The tumor cells had a round to polyhedral shape. The cytoplasm was eosinophilic and occasionally had a finely granular appearance. The nuclei of these cells were oval to reniform and contained finely granular chromatin and inconspicuous nucleoli. Moreover, the cells showed marked anisocytosis and

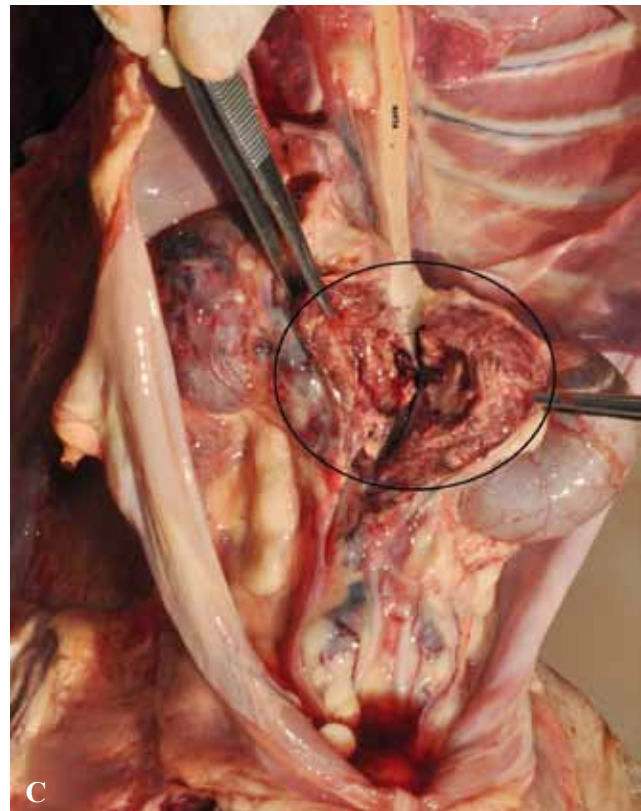
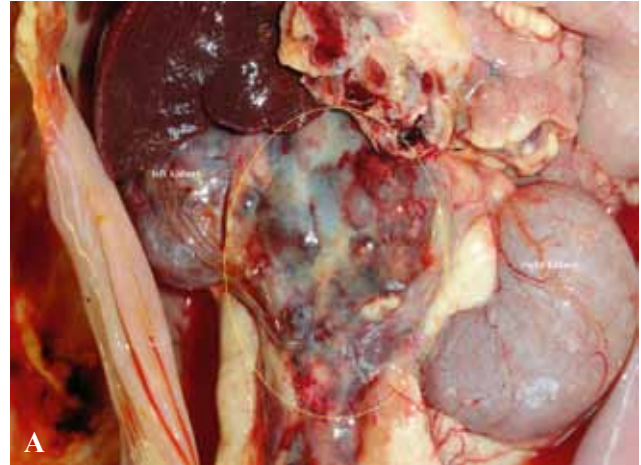


Figure 3A. Tumor and aneurysm overlapped by abnormal tissue (yellow circle) (B.A. Rodrigues). B. Clot at the original site in the AAA (white arrow) (D. Driemeier). C. Fusiform aneurysm after clot removal (black circle). The suprarenal aorta can be visualized (D. Driemeier).

anisokaryosis, with occasional binucleated cells and rare mitotic figures. Additionally, extensive necrosis, multifocal hemorrhage, inflammatory infiltration of lymphocytes and plasma cells and mild multifocal areas of dystrophic mineralization were observed. Metastatic lesions of the left adrenal tumor were diagnosed by histology in the liver, pancreas, kidneys, spleen, lungs and mesenteric lymph nodes. Additionally, metastatic neoplastic bone marrow invasion was confirmed. A diagnosis of malignant pheochromocytoma causing multiple metastases was established. The coexistence of pheochromocytoma and AAA was unique and was challenging to diagnose.

DISCUSSION

The present case reveals the coexistence of an AAA and a large tumor (pheochromocytoma) in the left adrenal gland of a six-year-old, male Yorkshire terrier. The simultaneous occurrence of an AAA with a pheochromocytoma has been previously reported to be uncommon in humans (Kota et al., 2013).

Adrenal tumors are usually slow-growing, and their size is extremely variable, ranging from a few millimetres to more than 10 cm in diameter (Reusch, 2006). In the present case report, the tumor in the left adrenal gland of the patient, which was diagnosed post-mortem by histopathology, was large enough (5 x 3 x 2 cm) to press on the surrounding abdominal structures and invade local blood vessels (Loste et al., 2013).

Clinical signs associated with pheochromocytomas are related to the secretion of catecholamines, which may cause episodic hypertension. Blood pressure measurements are valuable in cases of pheochromocytomas. An oscillating hyper- and hypotensive status endorses the pathological condition (Lindquist et al., 2015). Nevertheless, the failure to identify systemic hypertension does not exclude the presence of this adrenal tumor (Nelson, 2002). Generalized weakness, episodic collapse, tachypnea, panting, tachycardia and cardiac arrhythmias may be listed as clinical features described in dogs (Lindquist et al., 2015).

In the present case, although not proven (measurement of blood pressure would aid in verifying hypertension), the exposure to high catecholamines produced by the tumor could be considered an etiologic factor associating the pheochromocytoma with the AAA, similar to reports in the existing literature on human patients (Ehata et al., 1999). Catecholamine release is known to damage the vascular wall and favors the development of an aneurysm. The shape of the aortic aneurysm in the patient in this case report was fusiform with symmetrical bulges around the circumference of the aorta. The presence of a concurrent thrombus in the aneurysm was assumed to have been instigated by intimal aortic damage. Since histopathology of the aorta was not performed, invasion of



Figure 4. Aneurysm clot after removal (B.A. Rodrigues).

the aortic wall by the pheochromocytoma remained unclear.

Based on the dilation observed by US, it was presumed that the aneurysm increased with time, similar to what has been previously described in humans (Battaglia et al., 2010). This dilation occurs in conjunction with thinning and weakening of the aortic wall, which can increase the risk of an arterial rupture due to the high pressures and stresses that the aorta must endure. Interestingly, despite the aneurysm's large dimensions (4.39 cm x 3.94 cm) in this case, it remained unruptured. In a Doppler duplex ultrasonographic study of ten beagles (five males; five females) weighing 17- 20 kg, the normal aortic diameter at the level of the bifurcation of the external iliac arteries was reported to be approximately 0.88 ± 12 cm (Miño et al., 2004). In the present report, the aneurysm was diagnosed in a male Yorkshire terrier with a prominent abdominal aortic dilation with at least fivefold the diameter expected for a 20 kg dog; the growth exceeded the expected expansion rate. Siegel et al. (1994) supported the theory that a mural thrombus has a protective effect on an AAA by cushioning the pulsations of the flowing blood. The findings in the present case suggest that the primary factor leading to the coexistence of the AAA and the pheochromocytoma was persistent or episodic exposure to high levels of catecholamines produced by the tumor and the likely concurrent hypertension. Additionally, in this current case, hypertensive episodes might have contributed to retinal bleeding and sudden blindness in the dog.

Moreover, histopathologically diagnosed necrosis in the intestinal submucosa could be attributed to catecholamines secreted by the tumor. Hypercatecholaminemia can inhibit peristalsis and promote intense mesenteric artery vasoconstriction, with subsequent ischemic intestinal necrosis (Manger, 2006). Unfortunately, it was not possible to measure the levels of catecholamine because the patient died 48 hours after presentation of the clinical complications (generalized organ failure).

The laboratory parameters of platelet aggregation and severe thrombocytopenia soon after presentation in the clinic may support a disseminated intravascular coagulation (DIC) state. Large aortic aneurysms, as observed in the patient in this case report, may lead to the local activation of coagulation factors, and cause DIC (Levi, 2004). The syndrome itself is characterized by the systemic activation of coagulation. Microvascular thrombosis compromises organ perfusion and may contribute to organ failure.

Ante-mortem diagnosis of pheochromocytomas is challenging because the clinical signs are often intermittent (Boston, 2014), and laboratory findings are not specific. Affected animals frequently have concurrent diseases (hyperadrenocorticism, diabetes mellitus or neoplastic processes), which may further hinder a clear diagnosis (Herrera et al., 2008). The diagnostic work-up of suspected pheochromocytoma in dogs includes immunohistochemical staining for endocrine cells with chromogranin A and synaptophysin (Rosa et al., 2012). Unfortunately, this technique is only possible after removal of the affected gland. In humans, advanced imaging techniques such as magnetic resonance imaging (MRI) and computer tomography (CT) can reliably identify 95% of pheochromocytomas 1 cm or larger (Manger, 2006). Additionally, CT diagnosis of adrenal tumors in dogs has been reported (Spall et al., 2011). However, availability, the need for anesthesia, costs and the time required for the execution of these techniques limit the ability to perform these procedures. The measurement of the ratio between urinary metanephrine and creatinine levels has been reported in the literature by Héron et al. (1996) as a diagnostic tool in human patients. In a recent study by Salesov et al. (2015) urinary and plasma catecholamines and metanephrines were compared in healthy dogs (n=10), in dogs diagnosed with pheochromocytoma (n= 7), hypercortisolism (n= 10), and in dogs with nonadrenal diseases (n=14) with the aim to determine the test with the best diagnostic performance for dogs with pheochromocytoma. It was shown that dogs with pheochromocytoma had significantly higher urinary normetanephrine and metanephrine : creatinine ratios and significantly higher plasma-total and free normetanephrine and plasma-free metanephrine concentrations than the three other groups. The authors concluded that measurement of normetanephrine was the preferred biochemical test for pheochromocytoma, and urine was superior to plasma. The results of the study allowed the authors of the present case report to envision the use of the test as a reliable diagnostic tool to detect the disease.

In accordance with the findings of other authors (Spall et al., 2011), in addition to the adjacent vessel invasion (30-50%) (Baily and Page, 2007), the tumor can induce pressure on the surrounding abdominal structures, and metastatic spread occurs. The liver and lungs are common sites of tumor metastasis (Baily and Page, 2007; Boston, 2014), similar to the findings in the present case. Additionally, as in the

presented case, other sites of metastasis are regional lymph nodes, the spleen, kidneys, pancreas and bone marrow.

In the case presented here, clinical disease chronicity contributed to the development of multiple histologically confirmed metastases distributed in various organs (liver, pancreas, lungs, lymph nodes, bone marrow and spleen), which in turn culminated in generalized organ failure. Moreover, the pheochromocytoma probably was the underlying disorder causing the AAA. The end-disease pathway resulted in the DIC state and the death of the patient.

In conclusion, transabdominal US with color Doppler served as an effective screening modality for the detection of the AAA. US accurately identified the site and extent of involvement of the aneurysm sac and the presence of a thrombus. However, non-visualization of the adrenal tumor was a major drawback of this examination. Notably, the abnormal tissue and adjacent structures overlapped in the US investigation, thereby precluding visual access to the gland. The necropsy and histopathology findings confirmed the existence of a pheochromocytoma. Aneurysms are still incidentally found during routine veterinary, ultrasonographic examination.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to professor Peter L.A.M. Vos (Utrecht University- Faculty Veterinary Medicine), in performing the translation of the title and the abstract of this article into Dutch.

REFERENCES

- Baily D.B., Page R.L. (2007). Tumors of the Endocrine System. In: Withrow S.J., Vail D.M. (editors). *Small Animal Clinical Oncology*. Fourth edition, Saunders-Elsevier, St Louis, p. 590-591.
- Barthez, P.Y., Marks, S.L., Woo, J., Feldman, E.C., Matteucci, M. (1997). Pheochromocytoma in dogs: 61 cases (1984-1995). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 11, 272-278.
- Battaglia S., Danesino G.M., Danesino V., Castellani S. (2010). Color Doppler ultrasonography of the abdominal aorta. *Journal of Ultrasound* 1, 107-117.
- Bhatt S., Dogra V.S. (2008). Catastrophes of abdominal aorta: sonographic evaluation. *Ultrasound Clinics* 3, 83-91.
- Boston S. (2014). Adrenal mass in a dog. *Clinician's Brief*, 77-80.
- Chetboul V., Tessier D., Borenstein N., Delisle F., Zilberstein L., Payen G., Leglaive E., Franc B., Derumeaux G., Pouchelon J.L. (2003). Familial aortic aneurysm in Leonberger dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223, 1159-1162.
- Ehata T., Karasawa F., Watanabe K., Satoh T. (1999). Unsuspected pheochromocytoma with abdominal aortic aneurysm--a case report. *Acta Anesthesiologica Sinica* 37 27-28.

- Finn-Bodner S.T. (1995). The kidneys. In: Cann C.C. (editor). *Practical Veterinary Ultrasound*. First edition. Williams & Wilkins Philadelphia, p.166.
- Gershenson R.T., Melidone R., Sutherland-Smith J., Rogers C.L. (2011). Abdominal aortic aneurysm associated with systemic fungal infection in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* 47, 45-49.
- Héron, E., Chatellier, G., Billaud, E., Foos, E., Plouin, P.F. (1996). The Urinary Metanephrine-to-Creatinine Ratio for the Diagnosis of Pheochromocytoma. *Annals of Internal Medicine* 125, 300-303.
- Herrera, M.A., Mehl, M.L., Kass, P.H., Pascoe, P.J., Feldman, E.C., Nelson, R.W. (2008). Predictive factors and the effect of phenoxybenzamine on outcome in dogs undergoing adrenalectomy for pheochromocytoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22, 1333-1339.
- Kanematsu Y., Kanematsu M., Kurihara C., Tsou T.L., Nuki Y., Liang E., Makino H., Hashimoto T. (2010). Pharmacologically Induced Thoracic and Abdominal Aortic Aneurysms in Mice. *Hypertension* 55, 1267-1274.
- Kirberger R.M., Stander N., Cassel N., Pazzi P., Mukorera V., Christie J., Carstens A., Dvir E. (2013). Computed tomographic and radiographic characteristics of aortic lesion in 42 dogs with spirocercosis. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 54, 212-222.
- Kota S. K., Kota S. K., Meher L. K., Jammula S., Mohapatra S., Modi K. D. (2013). Coexistence of pheochromocytoma with abdominal aortic aneurysm: An untold association. *Annals of Medical and Health Science Research* 3, 258-261.
- Levi, M. Current understanding of disseminated intravascular coagulation (2004). *British Journal of Haematology* 124, 567-576.
- Lindquist E., Frank J., Modler P., Lobetti R. (2015). Adrenal tumors. In: *The Curbside Guide-Diagnosis & Treatment of Common Sonographically Detected Disease: Canine & Feline*. First edition. Sonopath, New Jersey, p. 121-128.
- Loste A., Borobia M., Borobia M., Lacasta D., Carbonell M., Basurco A., Marca M.C. (2013). Adrenal gland tumours. Different clinical presentations in three dogs: a case report. *Veterinarni Medicina* 58, 377-384.
- Manger, W.M. (2006). Diagnosis and management of pheochromocytoma – recent advances and current concepts. *Kidney International* 70, 30-35.
- Michel J.-B. (1998). Acquired abdominal aortic aneurysm. *Nephrology Dialysis Transplantation* 13, 20-24.
- Miño N., Espino L., Suárez M., Santamarina G., Barreiro A. (2004). Estudio de la aorta abdominal mediante doppler espectral pulsado en perros. *Archivos de Medicina Veterinaria* 36, 87-92.
- Murata Y., Chambers J.K., Uchida K., Nakashima K., Hanafusa Y., Ikezawa M., Sugita T., Nakayama H. (2015). Mycotic aneurysm caused by *Graphium* species in a dog. *The Journal of Veterinary Medical Science* 77, 1285-1288.
- Myers N.C. (1997). Adrenal incidentalomas. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 27, 381-399.
- Nelson R.W. Diagnostic Approach to the Incidental Adrenal Mass. In WSAVA 2002 Vin. Available from <http://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11147&catId=29491&id=3846171&print=1> Accessed 12 Oct.2016.
- Reusch, CE. Adrenal tumors in dogs. In WSAVA/FECAV/CSAVA 2006. Available from <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture9/Reusch2.pdf?LA=1> Accessed 05 Oct. 2015.
- Rizas K.D., Ippagunta N., Tilson M.D. III. (2009). Immune cells and molecular mediators in the pathogenesis of the abdominal aortic aneurysm. *Cardiology in Review* 17, 201-210.
- Rosa, C., Schoeman, J.P., Dvir, E. (2012). Budd-Chiari-like syndrome associated with a pheochromocytoma invading the right atrium in a dog. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 67, 180-185.
- Sakalihan N., Limet R., Defawe O.D. (2005). Abdominal aortic aneurysm. *Lancet* 365, 1577-1589.
- Salesov, E., Boretti, F.S., Sieber-Ruckstuhl, N.S., Rentsch, K.M., Riond, B., Hofmann-Lehmann, R., Kircher, P., Grouzmann, E. Reusch, C.E. (2015). Urinary and plasma catecholamines and metanephrines in dogs with pheochromocytoma, hypercortisolism, nonadrenal disease and in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29, 597-602.
- Siegel C.L., Cohan R.H., Korobkin M., Alpern M.B., Courneya D.L., Leder R.A. (1994). Abdominal aortic aneurysm morphology: CT features in patients with ruptured and nonruptured aneurysms. *American Journal of Roentgenology* 163, 1123-1129.
- Spall B., Chen A.V., Tucker R.L., Lahmers K.K., Righter D.J., Hayles J. (2011). Imaging diagnosis-metastatic adrenal pheochromocytoma in a dog. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 52, 534-537.
- Van der Merwe L.L., Kirberger R.M., Clift S., Williams M., Keller N., Naidoo V. (2008). *Spirocerc* lupi infection in the dog: a review. *The Veterinary Journal* 176, 294-309.
- Vardulaki K.A., Walker N.M., Day N.E., Duffy S.W., Ashton H.A., Scott R.A.P. (2000). Quantifying the risks of hypertension, age, sex and smoking in patients with abdominal aortic aneurysm. *British Journal of Surgery* 87, 195-200.
- Waldrop J.E., Stoneham A.E., Tidwell A.S., Jakowski R.M., Rozanski E.A., Rush J.E. (2003). Aortic dissection associated with aortic aneurysms and posterior paresis in a dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17, 223-229.

Congenital anomalies of the vertebrae in dogs

Aangeboren afwijkingen van de wervels bij de hond

L. De Rycke, J.H. Saunders

Department of Small Animal Orthopedics and Medical Imaging, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

lieve.derycke@Ugent.be

ABSTRACT

In this review article, an overview is given of the congenital pathologies of vertebrae in the dog. These pathologies are common in dogs and can be divided in two major groups: neural tube defects or spinal dysraphism, such as spina bifida with or without meningocele and dermal sinus tract, and congenital anomalies of the vertebral column. The latter group can be subdivided in malformations originating in the embryonic period of development, such as butterfly vertebra, mediolateral wedged vertebra and transitional vertebra, or in the foetal period, such as block vertebra and dorsoventral wedged vertebra. Congenital vertebral anomalies can be incidental findings on radiographs or CT, but sometimes they can be the underlying cause of a clinical, mostly neurological problem. Due to pressure on the spinal cord, symptoms, such as pelvic limb ataxia, paresis, loss of spinal reflexes, incontinence and atrophy of the pelvic limbs may occur.

SAMENVATTING

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van aangeboren afwijkingen van de wervels bij honden. Vertebrale anomalieën komen geregeld voor bij deze dieren en kunnen onderverdeeld worden in twee grote groepen, namelijk spinaal dysrafisme zoals spina bifida met of zonder meningocele en dermale sinus, en anomalieën van de vertebrale kolom. Deze laatste groep kan worden opgesplitst in malformaties die hun ontstaan vinden in de embryonale ontwikkelingsperiode, zoals vlinderwervels, medio-laterale wigwervels en transitionele wervels, of in de foetale periode, zoals blokwervels en dorsoventrale wigwervels. Aangeboren anomalieën van de wervels kunnen toevallsbevindingen zijn op RX of CT, maar soms zijn ze de onderliggende oorzaak van klinische, meestal neurologische problemen. Door druk op het ruggenmerg kunnen symptomen zoals ataxie van de achterste ledematen, parese, verlies van spinale reflexen, kyfose, lordose, scoliose, incontinentie en atrofie van de spieren van de achterste ledematen optreden.

CLASSIFICATION

Spinal dysraphism

Spinal dysraphism is a broad term given to a group of anomalies with malformations in the dorsum of the embryo, including neural tube defects (NTD). NTD occur secondary to abnormal closure of the developing neural tube and result in a defective neural arch through which meninges or neural elements may herniate (Figure 1). Spinal dysraphism are categorized clinically into open and closed, based on whether the abnormal nervous tissue is exposed to the environment or covered by skin (Rossi et al., 2006, Song et al., 2016).

Open spinal dysraphism or spina bifida aperta includes meningoceles and myelomeningocele, whereby the spinal cord fails to fuse dorsally, and is open to the environment because it is not covered by skin. These severe dysraphisms in animal neonates usually result in death or early termination. Such entities have rarely been reported in dogs (Chesney, 1973; Clayton and Boyd, 1983).

Closed spinal dysraphism (CSD), also known as spina bifida occulta (SBO), includes various malformations of the spine that are covered by skin. The simplest form of CSD is dorsal spina bifida and is usually clinically insignificant, with no or minor neural anomalies (Figure 2). Occasionally, a subcutaneous mass may be present in SBO, which consists of a



Figure 1. A three-dimensional computed tomography image of the cranial thoracic spine demonstrating a spina bifida and dorsal spinous process malformations at T2 to T4 in a Chinese crested dog with a dermoid sinus (Kiviranta, 2011).



Figure 2. Ventrodorsal projection radiograph of the thoracic vertebral column. Dorsal spina bifida can be seen in this dog that presented with signs of a T3 to L3 myelopathy. Note the two spinous processes seen at T2 (solid white arrow). The restrictive band of fibrous tissue seen at T8 to T9 was the source of the clinical signs in this case (arrow) (Westworth, 2010).

meningocele (Parker et al., 1973; Wilson et al., 1979; Gómez et al., 2012; Song et al., 2014). Another form of SBO are dermal sinus tracts (Miller and Tobias, 2003, Kiviranta et al., 2011; Song et al., 2016).

SBO with meningocele (MC), meningomyelocele (MMC)

Moderate to severe forms of NTD, such as SBO with MMC or MC, are typically diagnosed in young animals. Although a congenital anomaly may be seen in any breed, certain breeds have been overrepresented with spina bifida occulta such as the English bulldogs (Parker and Byerly, 1973; Parker et al., 1973; Wilson et al., 1979; Fingeroth et al., 1989, Brunetti et al., 1993; Ployart et al., 2013) and the German shepherd dogs (Clayton, 1983; Song et al., 2014). A meningocele has also been described in a Collie (Wilson et al., 1979) (Figure 3). Bulldogs have been reported with L7 or sacral dorsal vertebral arch defects and subcutaneous meningoceles (Parker et al., 1973; Brunetti et al., 1993) midline caudal hair streaming, (Wilson et al., 1979) and apparent caudal tethering of the filum terminale by a fibrous cord (Fingeroth et al., 1989; Shamir et al., 2001). Although reports of attempted surgical repair are rare, three reports of bulldogs that had surgery included a dorsal surgical approach to the caudal spine, opening of the dura, and transection of a fibrous filum terminale, resulting in release of the caudal tether (Fingeroth et al., 1989; Shamir et al., 2001, Song et al., 2014). One dog was euthanized two weeks after surgery, although some sensory improvement was evident (Fingeroth et al., 1989). The second bulldog showed a decreased incidence of urinary incontinence. Physical and neurologic examinations were otherwise unchanged from prior to surgery. Four months postoperatively, only rare incidences of urine dribbling, a tail that was no longer deviated, and no evidence of pain or discomfort at the previous surgical site was seen (Song et al., 2014). In the third report, the dog's gait and hindlimb strength improved gradually over the following four months, by which time they appeared to be normal. Urinary dribbling and fecal incontinence persisted accompanied by hypoalgesia of the perineal area and tail (Shamir et al., 2001).

SBO with dermal sinus tracts

Dermal sinus tracts are a well-recognized form of SBO (Miller and Tobias, 2003). Dermal sinus tracts are tubular sacs extending ventrally from the dorsal midline of the skin into the underlying tissues, occurring most commonly in the cervical, cranial thoracic, and lumbosacral regions (Miller and Tobias, 2003). The most common breed affected is the Rhodesian ridgeback (Salmon et al., 2007; Hillbertz, 2005; Hillbertz and Andersson, 2006). Other reported breeds include the shih tzu, the boxer, the Siberian husky



Figure 3. Lateral projection radiograph of the thoracic vertebral column post myelogram in a four-year-old Shetland sheepdog that was presented for acute paraplegia. A dorsal meningocele can be seen with subcutaneously arborizing tracts (white arrows) and a lipomatous mass was present at surgery extending through a laminal defect associated with T3 dorsal spina bifida (Westworth, 2010).



Figure 4. A cervical transverse T2-weighted MRI of a type IV dermal sinus tract is shown. Note the serpentine appearance of the tract as it courses ventrally (arrows) through a laminal defect to the dura mater (MRI courtesy of Dr. Jim Lavelly).

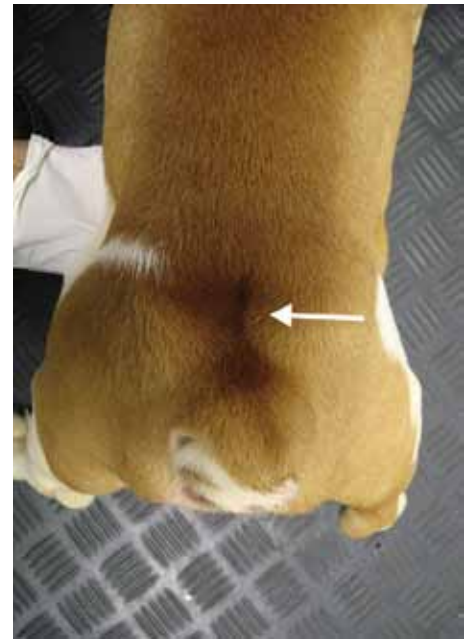


Figure 5. A dorsal view of the hind end of a six-month-old English bulldog that was presented for urinary and fecal incontinence. The hair on the dorsal midline has an abnormal appearance (arrow). At that site, there is a palpable indentation of the epaxial muscles. Radiographically, spina bifida was present. Given the neurologic deficits, meningo-myelocoele was presumed (Song, 2016).

(Conegliani and Ghibaudo, 1999), the chow chow (Booth, 1998), the American cocker spaniel, the Yorkshire terrier (Fatone et al., 1995), the English springer spaniel (Pratt et al., 2000), the great Pyrenees dog (Camacho et al., 1995), the wire fox terrier, the English springer spaniel (Pratt et al., 2000), the rottweiler (Bornard et al., 2007), the golden retriever (Conegliani et al., 2001; Miller and Tobias, 2003), the Chinese crested dog and the Swedish vallhund (Kiviranta et al., 2011) and the boerboel (Penrith et al., 1994). In Rhodesian ridgebacks, the sinus tract is especially found in the cervical region where it often extends to the spinous process of C2. In other breeds, the most common location is the cranial or mid-thoracic region. Four (Mann and Stratton, 1966) or five types (Miller and Tobias, 2003) have been proposed depending on the depth to which the tract extends (Figure 4). Only type IV extends to the vertebral canal and attaches to the dura mater (Figure 3). On the surface of the skin, the sinus tract may appear grossly as a small (1–5 mm) indentation/invasion. At the top of the tract, the hair on the dorsal midline may have an abnormal appearance (Figure 5). On palpation, it may feel like a subcutaneous cord or band of fibrous tissue. Histo-

logically, it is lined with squamous epithelium and adenexal structures, and is often filled with epithelial debris, sebum and hair, and/or inflammatory cells and bacteria. When inflamed or infected, it will enlarge and become painful (Marks et al., 1993, Scott et al., 2001; Miller and Tobias, 2003). With type IV dermal sinuses, neural structures may become infected or inflamed causing spinal pain and/or myelopathy due to spinal cord compression, empyema/abscess, and/or osteomyelitis (Selcer et al., 1984; Fatone et al., 1995; Pratt et al., 2000; Conegliani et al., 2001). In dogs with ridges, type IV cysts more often occur in the sacro-coccygeal region (Miller and Tobias, 2003).

Clinical diagnosis can be made by palpation, or clipping of the hair and visual inspection. Dermal sinus tracts may also be seen with other anomalies of the spine (Fatone et al., 1995).

When vertebral canal involvement is suspected, definitive diagnosis and characterization of spinal dysraphism are made with cross-sectional imaging, primarily magnetic resonance imaging (MR) (Figure 6). MR is especially advised prior to surgical exploration to provide adequate presurgical planning and limit the risk of inadvertent damage to the spinal cord.

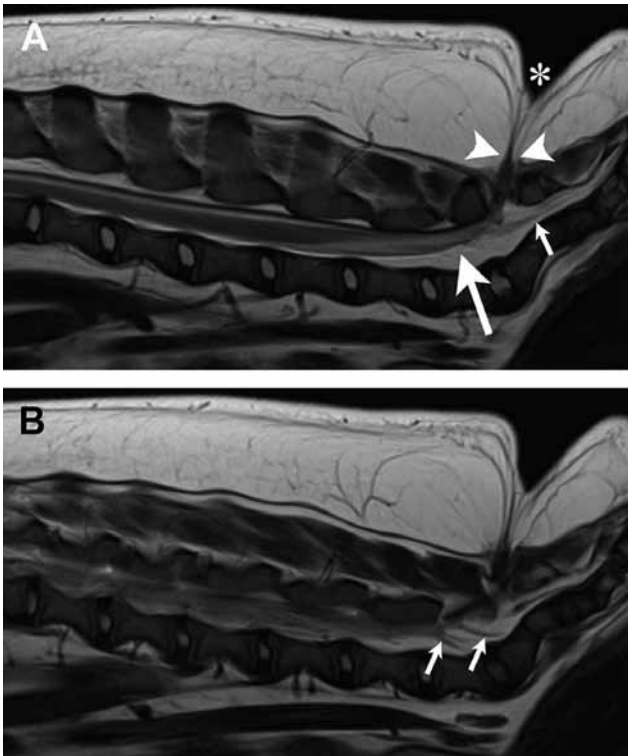


Figure 6A. A T2-weighted midline sagittal image of the lumbosacral vertebral column from the dog in Figure 4. The ‘dimple’ or indentation of the skin is visible (asterisk). There is meninges, which exit the vertebral column dorsally between the L7 and sacral laminae and connect to the skin (between the arrowheads). Notice the dorsal deviation of the spinal dura mater filaments (large arrow). **B.** In a sagittal image just lateral to midline, the nerve roots are visible coursing toward their foramina (arrows) (Song, 2016).

In recent reports however, MR did not clearly indicate the full extent of the tract (Rahal et al., 2008) and was misleading in another case of a single dermoid cyst without a tract (Davies et al., 2004). Other imaging modalities may also provide some diagnostic information. Apparent anomalous changes to the vertebrae on radiographs include bifid spinous processes of one or more vertebrae or an absent spinous process(es) or osteomyelitis. Myelogram and/or computed tomography (CT) may provide similar information in cases demonstrating a myelopathy. Fistulography is contraindicated because infection or dermal elements may be introduced into deeper tissues. Surgical excision without disruption of the sinus is the treatment of choice in clinically affected cases (Miller and Tobias, 2003; Kiviranta et al., 2011). Good visualization through appropriate exposure, knowledge of regional anatomy and experience handling neural tissues are needed when surgically excising dermal sinuses involving the meninges and/or spinal cord. Deep culture should be taken and broad-spectrum antibiotics used if there is apparent infection or contamination of surrounding structures.

Congenital anomalies of the vertebral column

Congenital anomalies of the vertebral column, such as transitional vertebrae, butterfly vertebrae, hemivertebrae and block vertebrae, are common in the dog and are often incidental findings with no clinical significance (Morgan, 1968; Done et al., 1975; Newitt et al., 2008; Westworth and Sturges, 2010; Moissonnier et al., 2011). Sometimes, due to pressure on the spinal cord, symptoms, such as pelvic limb ataxia, paresis, loss of spinal reflexes incontinence, atrophy of the pelvic muscles and atomy of the pelvic limbs may occur (Done et al., 1975, Bailey and Morgan, 1992; Aikawa et al., 2007; Jeffery et al., 2007, Westworth and Sturges, 2010; Moissonnier et al. 2011; Aikawa et al., 2014). Any breed can be affected; however, the brachycephalic ‘screw-tailed’ breeds, such as the English bulldog, French bulldog, Boston terrier and pug are overrepresented (Morgan, 1968; Done et al.,

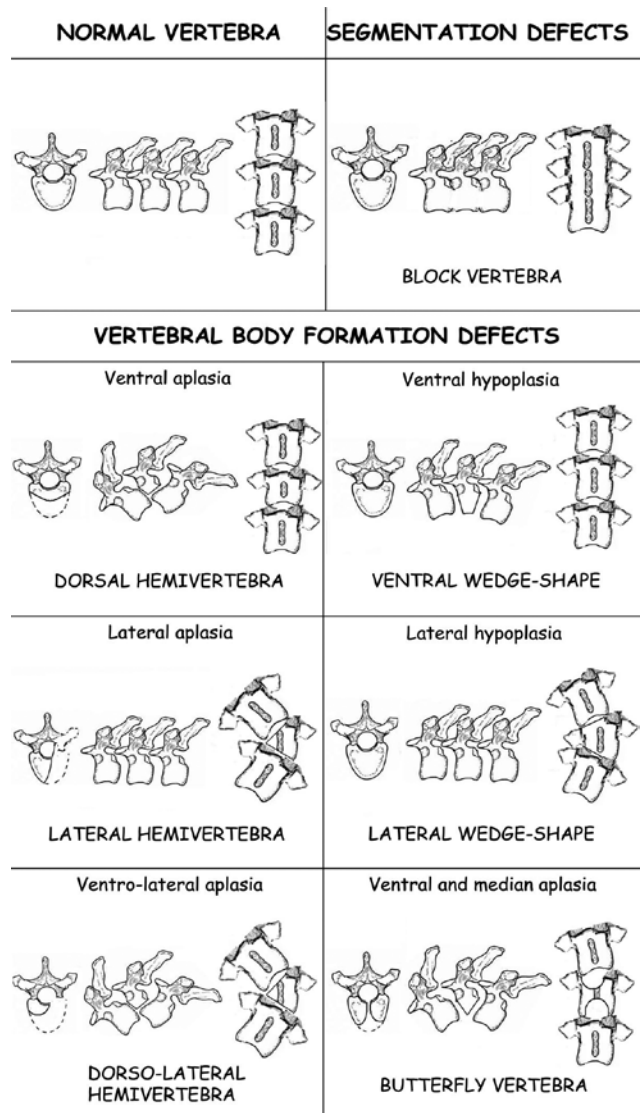


Figure 7. Schematic line drawing showing the radiographic appearance of the vertebral malformation classification system according to Guitierrez et al. (2014).

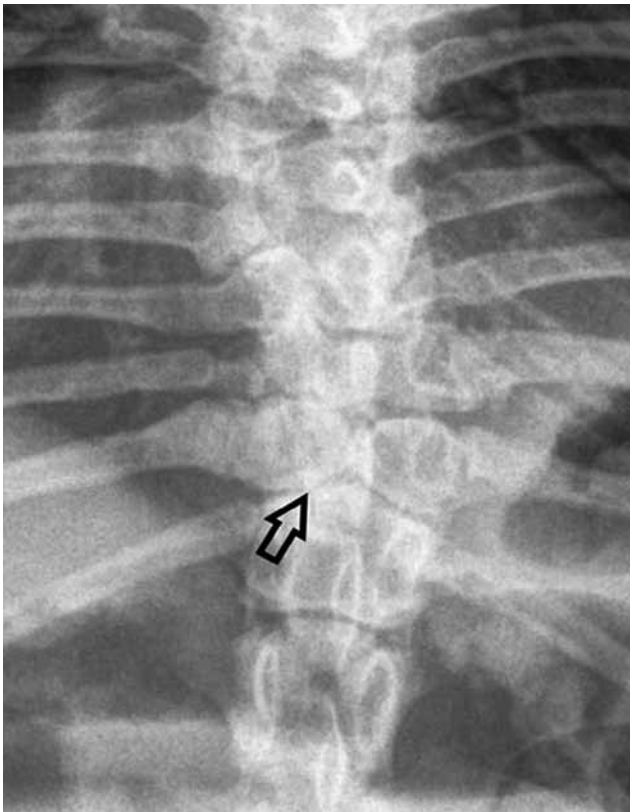


Figure 8. Congenital vertebral malformation identified on a ventrodorsal radiograph of the thoracic vertebral column. Ventral and median aplasia of the vertebral body or butterfly vertebra (arrow) (Gutierrez, 2014).

1975; Bailey and Morgan, 1992; Westworth and Sturges 2010; Moissionnier et al., 2011; Schlensker and Distl, 2013). These congenital vertebral malformations may occur in isolation or be multiple in an individual dog.

The diagnosis of many simple vertebral deformities can be readily made with screening survey vertebral column radiographs in orthogonal projections. However, CT or MR is needed to identify the degree and level of spinal cord involvement (Westworth and Sturges, 2010). The use of CT, particularly with three-dimensional reconstruction, may more clearly identify the degree of bone malformation in complex or multiple malformations, and has been recently proposed as the method of classification of these lesions in humans (Kawakami et al., 2009). Presurgical planning with advanced imaging is always advised.

Gutierrez et al. (2014) classified the congenital vertebral malformations into categories on the basis of their radiographic appearance (Figure 7). The first classification category includes failure of vertebral segmentation, in which portions of adjacent vertebral elements fail to divide (block vertebra or bars). The second category consists of failure of vertebral formation, in which a portion of a vertebral element is deficient (hemivertebra, wedge shape vertebra or butterfly vertebra).

Westworth et al. (2010) classified congenital vertebral malformations according to the period of ex-

istence, namely, embryonic (butterfly vertebra, true hemivertebra, mediolateral wedge vertebra, transitional vertebra) or foetal (block vertebra, dorsoventral hemi-/wedge vertebra, congenital stenosis, hypoplasia of the articular process) (Table 1).

Malformations originating in the embryonic period of development

Vertebral column anomalies originating in the embryonic period are caused by defects in formation, and may be associated with NTD. Segmentation de-

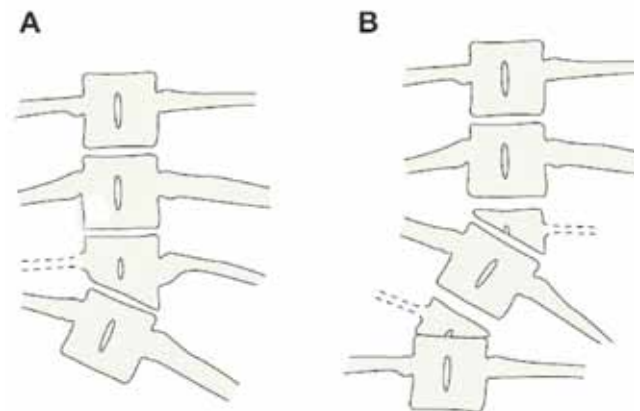


Figure 9. Vertebral malformations resulting in predominantly scoliotic angulation deformities. A. Wedge-shaped vertebra. B. Hemivertebra unsegmented (above) and contralateral partially segmented hemivertebra (below). Note that hemivertebra, unlike the wedge vertebra, have an incomplete neural arch. Segmentation may occur partially as shown here or fully (cranially and caudally) (Westworth, 2010).

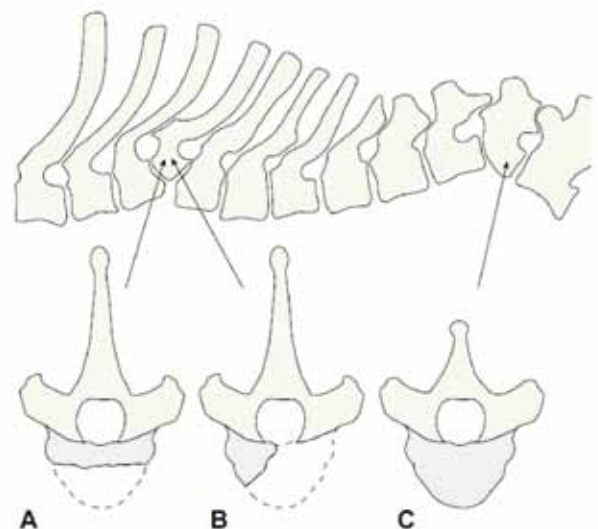


Figure 10. Vertebral malformations resulting in kyphotic or kyphoscoliotic angulation deformities due to centrum defects. Complex centrum defects may be seen where much of the ventral centrum is missing and severe angulation deformities result A., or B. ventrolateral centrum defect results in kyphoscoliosis. C. A wedge vertebra (ventrodorsal) with the apex ventral (Westworth, 2010).

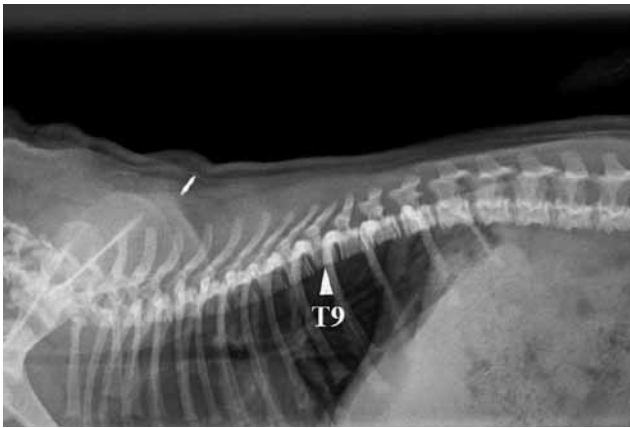


Figure 11. Right lateral thoracic radiograph of a pug showing no abnormalities of the thoracic vertebrae at the age of two months. The size of T9 is slightly smaller than the adjacent vertebrae (De Rycke, 2016).

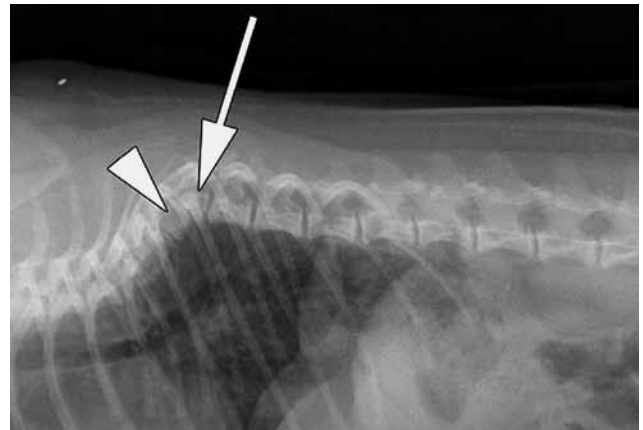


Figure 12. Right lateral thoracic radiograph of the pug at six months of age showing marked kyphosis of the thoracic vertebral column, centred on T9. The vertebral body of T9 is notably short in the craniocaudal plane, wedge-shaped, displaced dorsally and outlined by the white arrow. The arrowhead indicates the T8 vertebral body, which is also shortened and wedge-shaped (De Rycke et al., 2016).



Figure 13. A. Sagittal reformatted whole-body CT of the pug at six months of age. Severe kyphosis of the thoracic vertebral column is present. The white arrow indicates T8 and T9, which are wedge-shaped and dorsally displaced. B. Three-dimensional CT image of the thoracic spine at the height of T8 and T9 (De Rycke et al., 2016)

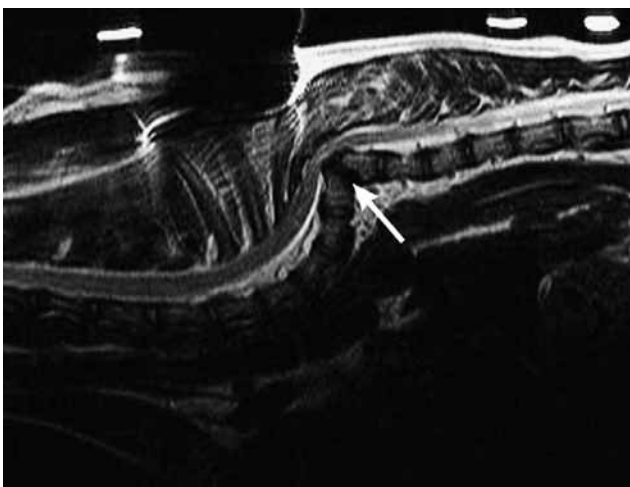


Figure 14. Sagittal T2-weighted MR of the thoracic region of a French bulldog. Note the severe kyphotic deformity and ventral compression of the spinal cord (arrow). T5 and T7 are wedge-shaped and T6 has a severe centrum defect (Westworth, 2010).

fects may occur secondarily. Those that involve only the vertebrae include butterfly vertebra and various forms of true or classic hemivertebra (Westworth and Sturges, 2010).

Butterfly vertebra

The term butterfly vertebra comes from the appearance of a sagittal cleft in the vertebral body on viewing a ventrodorsal radiographic projection (Figure 8). There is partial or complete failure of formation of the ventral and central portions of the vertebral body, leaving two dorsolateral fragments of bone attached to the neural arch (Westworth and Sturges, 2010). If the vertebral body is very diminutive, it may result in kyphotic angulation, especially if associated with centrum hypoplasia. This anomaly is most often seen in brachycephalic, screw-tailed breeds and is often not clinically significant (Morgan, 1968; Gutierrez et al., 2014).

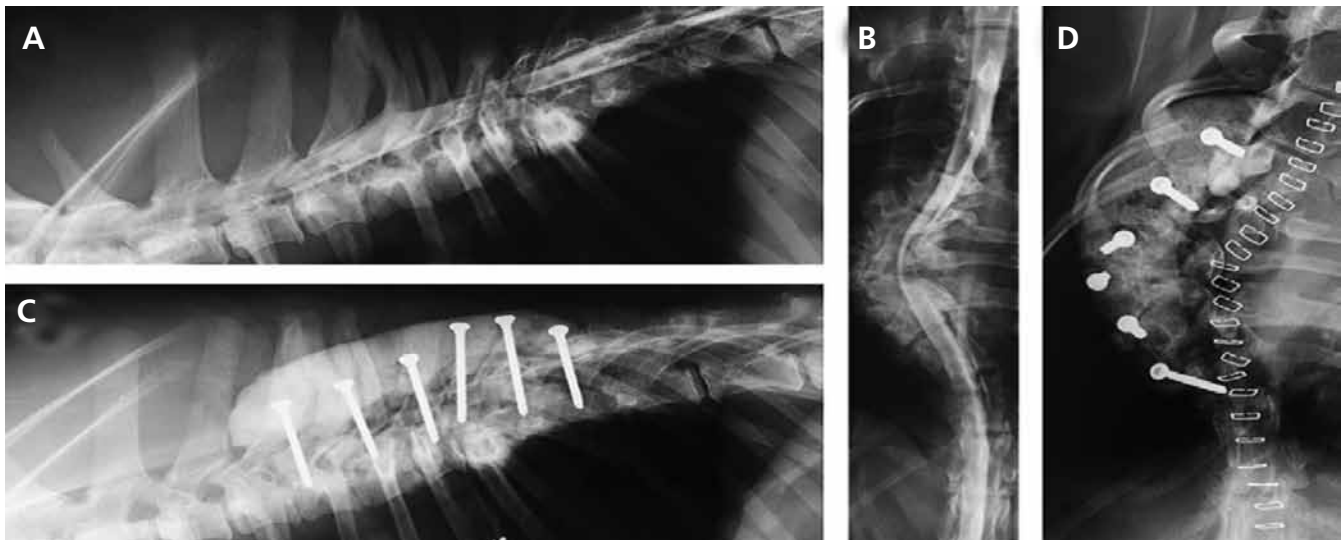


Figure 15. Radiographic study of a seven-month-old shepherd cross with progressive paraparesis. At the time of presentation, she was nonambulatory. **A.** Lateral projection myelogram showing multiple vertebral anomalies in the cranial and mid-thoracic spine. Note the meningocele at T4. **B.** Ventrodorsal projection myelogram showing marked scoliosis secondary to complex vertebral anomalies. **C and D.** Lateral ventrodorsal projection postoperative radiographs. Surgical decompression from T4 to T10 with stabilization using screws and bone cement was performed. The puppy was ambulatory again two weeks later (Westworth, 2010).

Hemivertebra (with or without segmental defects) / lateral wedge vertebra

Classic hemivertebra results from a failure to form one sagittal half of the vertebra, including the centrum and neural arch (Tsou et al., 1980; Hedequist and Emans, 2007) (Figure 9). Although the cause is unknown, it is most likely due to the congenital absence of vascularization unilaterally (Tsou et al., 1980), resulting in predominantly scoliotic angulation deformities. An incomplete failure of formation leads to a laterally wedged vertebra with a variable degree of unilateral hypoplasia; however, there are bilateral pedicles completing the vertebral arch (Tsou et



Figure 16. Lateral projection radiograph of the lumbar spine with a block vertebra. Note the partially fused L6 to L7 vertebrae (arrow) (Westworth, 2010).

Table 1. Classification of common congenital vertebral anomalies in dogs and cats (Tsou P.M., Yau A., Hodgson A.R., 1980).

<p>Embryonic period</p> <ul style="list-style-type: none"> Diastematomyelia and centrum median cleft Centrum median cleft only (butterfly vertebrae) True hemivertebrae with or without segmentation deformity Wedge vertebra (mediolateral wedged vertebrae) with or without segmentation deformity Transitional vertebra (embryonic or fetal period depending on anomaly)
<p>Fetal period</p> <ul style="list-style-type: none"> Failure of segmentation and or late formation Block vertebrae (partial or complete) Hypoplasia of articular processes Costovertebral joint failure of segmentation Centrum hypoplasia or aplasia (dorsoventral wedged vertebrae) <p>Complex anomalies are those not readily classifiable or unclassifiable, and may involve any multiple defects of formation and segmentation.</p>



Figure 17. Ventrodorsal projection radiograph of the thoracolumbar vertebral column with a transitional vertebra. Note the missing costa and small perpendicular deformed transverse process on the right side of T13 (arrow) (Westworth, 2010).



Figure 18. Ventrodorsal radiograph of a German shepherd dog with lumbosacral transitional vertebra of type 2 on the right side (white arrow) and type 3 on the left side (black arrow). On the right side, the tip of the transverse process is visible; on the left side it is not (Lappalainen, 2012).

al., 1980; Hedequist and Emans, 2007) (Figure 9A). Further classification of these anomalies is based on the degree of segmentation failure during the fetal period, resulting in the presence or absence of fusion to vertebral bodies cranially or caudally (Westworth and Sturges, 2010) (Figure 9B).

Defects of segmentation result in a concave angulation on the side of the lateral block with restricted growth, due to loss of growth plates on the affected side (Hedequist and Emans, 2007). Single or multiple ipsilateral anomalies may result in severe lateral angulation and hence in scoliosis. A hemi-metameric shift occurs if the angulation is counterbalanced with a contralateral hemivertebrae, with the resulting degree of scoliosis being less pronounced (Tsou et al., 1980). Mixed malformations may result in complex and not readily classifiable anomalies.

Malformations originating in the fetal period of development

Vertebral column anomalies originating in the fetal period are associated with defects in formation and particularly segmentation. Such deformities are well-differentiated and occur late in the chondrification and ossification stages, and are much less commonly associated with other defects and spinal cord anomalies because they occur after the formation of those structures (Tsou et al., 1980). Anomalies originating in this period of development include dorsoventral wedged vertebrae (centrum hypoplasia or aplasia), blockvertebrae, articular facet aplasia/dysplasia, transitional vertebrae and spinal stenosis (Tsou et al., 1980).

Vertebral anomalies of the centrum/ventral hemi- or wedge vertebra

Vertebral anomalies of the centrum result in predominantly kyphotic angulation deformities caused by diminished vertebral body longitudinal growth. These anomalies affect the vertebral body only (unless a mixed deformity), with normal or near normal neural arch development (McMaster and Singh, 1999), and are caused by a defect in formation or segmentation (Tsou et al., 1980).

Centrum hypoplasia or aplasia results in variable loss of the body, and bilateral or unilateral defects may occur (Figure 10). Unilateral centrum defects may result in a degree of scoliosis (kyphoscoliosis) (Westworth and Sturges, 2010) (Figure 10 B). The cause is unknown but severe forms may be due to congenital absence of vascularization or may be caused by any teratogenic insult to the very active cartilaginous proliferation in the ventral rim (Westworth and Sturges 2010; Moissionnier et al., 2011; Schlensker and Distl, 2013). The term hemivertebra is inappropriate for such malformations (Tsou, 1977). The resulting degree of kyphosis is related to the number of vertebrae

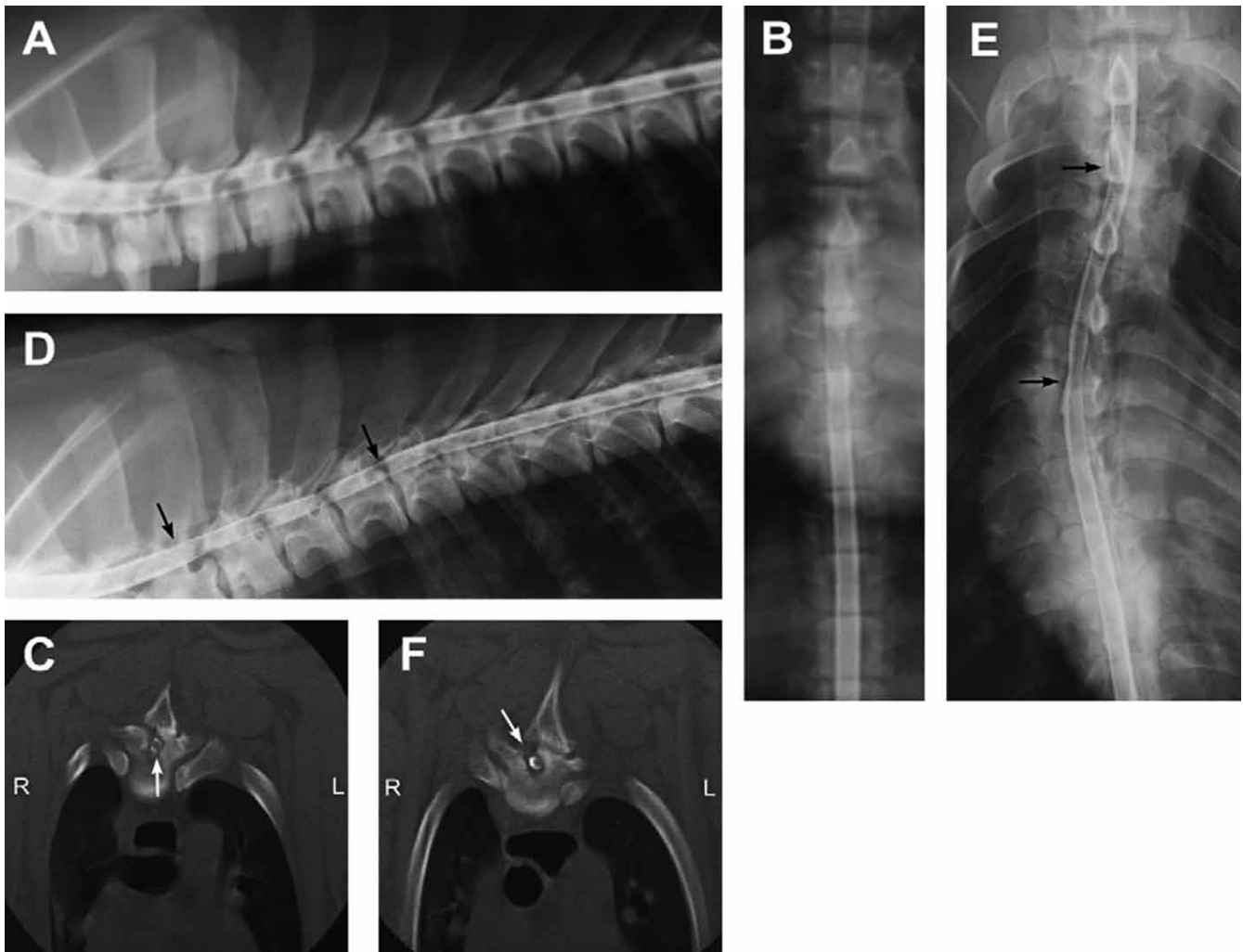


Figure 19. Myelogram images from a Doberman Rottweiler cross puppy with a progressive T3-L3 myelopathy. **A and B.** Lateral and ventrodorsal radiographs obtained at six months of age when the puppy first presented for nonambulatory paraparesis. A segmental stenosis can be seen from T2 to T5. **C.** Axial CT image at the level to T3. Note the profound osseous thickening of the vertebral arch compressing the spinal cord (arrow). Decompressive surgery was performed over the length of this region via hemidorsal laminectomy on the right side, and the puppy became ambulatory shortly thereafter. **D.** Four months later, the puppy again developed progressive paraparesis and diagnostic CT myelography was repeated. On this lateral radiograph, the stenosis is again evident over the same region (arrows), only more pronounced this time. **E.** Ventrodorsal images showed that scoliosis was occurring as well, possibly secondary to the ‘destabilizing’ effects of previous surgical procedure. **F.** Regrowth of bone over previous laminectomy site and ongoing stenosis on the unoperated side can be seen. A second decompressive surgery was done once the dog reached skeletal maturity, and the dog regained the ability to walk. Ten years later, the dog remained ambulatory without clinical reoccurrence of stenosis (Westworth, 2010).

affected and the severity of the centrum defect. The least deforming is the dorsoventral wedge (Westworth and Sturges, 2010) (Figure 10 C). Other forms have a greater propensity for instability, stenosis, and kyphosis with or without scoliosis as evident by their inherent ventral defect (Figures 10 A and B). Dorsal displacement of a severely affected vertebra (centrum aplasia or severe hypoplasia) above the main curvature of the spine may cause severe local angulation and spinal cord compression (Westworth and Sturges, 2010). The most commonly affected breeds are those with screw tails, namely bulldogs, French bulldogs, pugs, and Boston terriers (Morgan, 1968; Done et

al., 1975). It has been suggested that the kinked tail in these breeds is due to hemivertebra affecting the coccygeal region, and this trait has been selected as a desirable phenotype for many generations (Done et al., 1975; Schlensker and Distl, 2013; Kramer et al., 1982). Other breeds have been described, including the German short-haired pointer with an autosomal recessively inherited trait (Kramer et al., 1982). The most common area involved is the coccygeal segments in screwtail breeds and the mid to caudal thoracic region (T6-T9), (Done et al., 1975; Westworth and Sturges, 2010; Moissionnier et al., 2011; Schlensker and Distl, 2013; Gutierrez et al., 2014; De Rycke et al., 2016).

Although these defects are present at birth, often they are not clinically apparent until four to ten months of age (adolescence) when the most dramatic and rapid curvatures may be seen during periods of accelerated growth (McMaster and Singh, 1999; Aikawa et al., 2007; Westworth and Sturges, 2010; Moissionnier et al., 2011). Clinical signs are often progressive until skeletal maturity occurs, and the onset may be acute, chronic or intermittent (Westworth and Sturges, 2010; Moissionnier et al., 2011; Schlensker and Distl, 2013). If associated with a degenerative process, for example, intervertebral disc degeneration and subsequent protrusion/extrusion, ligamentous hypertrophy, or articular remodeling, the onset of neurologic signs may occur in mature animals (Westworth and Sturges, 2010).

Lateral projection radiographs may reveal ventrodorsal wedging of the body, with the apex orientated ventrally. De Rycke et al. (2016) described a pug, which showed radiographically normal vertebrae at birth (Figure 11), but developed severe kyphosis by the age of six months due to a wedge shaped vertebra (T9) (Figures 12 and 13). Probably, more young dogs with late-onset kyphosis due to wedge vertebrae show radiographically normal vertebrae at birth, and develop hemivertebrae during growth due to growth plate deficiency (De Rycke et al., 2016). Breeders of brachycephalic, 'screw-tailed' breeds should be advised that screening pups for wedge vertebrae should not be performed during the first months of life but rather when the vertebral length growth is more advanced.

Advanced imaging, especially MR, provides necessary information regarding both extrinsic (degree of compression) and intrinsic spinal cord changes (Figure 14). Surgical decompression or an attempt to realign the vertebral column in cases with clinical signs associated with hemivertebra can be challenging, and there are only a few reports of such cases in the veterinary literature (Aikawa et al., 2007, Jeffery et al., 2007, Meheust and Robert, 2010, Dewey 2013; Charalambous et al., 2014) (Figure 15). The two main methods of stabilizing kyphotic vertebral segments in these patients is via segmental spinal stabilization (often referred to as spinal 'stapling'), and vertebral body pin and polymethylmethacrylate (PMMA) fixation. Successful outcomes have been reported in most dogs treated with either of these methods.

Block vertebrae

Block vertebrae are another example of failure of segmentation during embryogenesis, and result from partial or complete fusion of two or more vertebrae (Westworth, 2010) (Figure 16). In some cases, this fusion may occur predominantly in one plane or unilaterally, resulting in a bony bar restricting growth, and may cause an angular deformity in that plane. Any adjoining part(s) of the vertebrae may be involved, that is, vertebral arch with fused non-articulated process-

es, or centrum with or without the intervertebral disc formed. The segments may be of normal length or shortened. Often, these anomalies are not associated with neurologic deficits, but may occur in cases of angular deformation, stenosis of the vertebral canal, or if there is abnormal loading of adjacent vertebra, leading to intervertebral disc degeneration/protrusion, instability or ligament hypertrophy (Malik et al., 2009).

Articular facet aplasia/dysplasia

Articular facet aplasia/dysplasia is an anomaly relating to reduced formation or absence of the articular processes or facets. In dogs, such entities are apparently frequent, but poorly reported (Morgan 1968). The pathogenesis has not been fully determined, but is postulated to result from either dysgenesis of the two neural arch centers of ossification or abnormal development of secondary ossification centers (Werner et al., 2004).

In 1968, Morgan observed in a series of 145 dogs that almost every case had some degree of anomalous change to the articular facet(s). In general, this involved just mild changes to shape and size. More severe changes were noted to include uni- or bilateral absence of the articular process, and most commonly the anomalies were found cranial to T10 in the thoracic region (Morgan, 1968). More recently, three other articles have also demonstrated such anomalies and have attempted to review their clinical significance. In 2002, Breit examined 140 spines in neurologically normal large, chondrodystrophic and small breed dogs, and found T1-T9 segments to be exclusively affected and in small breed dogs only. There was no apparent association of such anomalies and intervertebral disc disease or deformative spondylosis. A case of bilateral aplasia of the caudal T12, both cranial and caudal T13 and cranial L1 articular processes without apparent gross instability, has been reported in a small breed dog, showing a possible association with intervertebral disc extrusion (Werner et al., 2004). Another series of four dogs of varying size had either aplasia (3) or hypoplasia (1) of the caudal facets joints at the thoracolumbar junction (T12-L1) or L5. Associated with this was cranial articular process degeneration and proliferation of the joint capsule and ligamentum flavum, causing stenotic myelopathy in the three cases with aplasia (Penderis et al., 2005).

Transitional vertebrae

Transitional vertebrae are one of the most common anomalies, and have been well described in most breeds of dogs (Morgan, 1968; Morgan, 1999; Lapalainien et al., 2012). Transitional vertebrae are congenital anomalies usually found at the junction between two divisions of the vertebral column, that is, cervicothoracic, thoracolumbar, lumbosacral, or sacrocaudal, and may result in variations in the number of vertebrae found within a division (Westworth and Sturges,

2010). Characteristics of adjacent divisions are exhibited in a single vertebra, unilaterally or bilaterally. This condition most commonly involves the presence or absence of a costa or transverse process (Morgan, 1968). Examples are elongated C7 transverse process resembling a costa, absence of a rib at T13 and/or short misshapen transverse process (Figure 17), L7 attached to sacrum by fused transverse process and/or body (sacralization of L7) (Figure 18), or partially divided S1-S2 segment (lumbarization of S1) and variation in the level of the anticlinal vertebra (T10 or T11). The cause of these anomalies is unknown, but involves border shifts of somites and is a defect of segmentation. In general, animals remain asymptomatic except in cases of lumbosacral transitional vertebra (LTV) (Lappalainen et al., 2012). It predisposes to premature degeneration of the lumbosacral junction and disc herniation, and is a frequent cause of cauda equine syndrome, especially in German shepherd dogs. This is well described in the literature regarding lumbosacral involvement and associated stenosis (Morgan, 1993; Morgan, 1999; Damur-Djuric et al., 2006; Flückiger et al., 2006; Wigger et al., 2009; Lappalainen et al., 2012). Ventrodorsal hip radiographs are most often used in the diagnosis of LTV but laterolateral radiographs must be considered as an addition to ventrodorsal projections (Lappalainen et al., 2012). Also CT can be used for diagnosis of LTV. With this modality, the lumbosacral region can be seen without superimposition of other pelvic structures (Lappalainen et al., 2012).

Recognition of a transitional segment is especially important during surgery of the spine, because failure to do this may result in performing a procedure at a level cranial or caudal to that expected, particularly in the thoracolumbar spine (Westworth and Sturges, 2010).

Spinal stenosis

Spinal stenosis is a narrowing or stricture of the vertebral canal or intervertebral foramen in any plane or level. It can occur focally, segmentally or generalized throughout the spine.

Spinal stenoses recognized in domestic animals can be classified by presumed etiology into congenital/developmental and acquired causes (Westworth and Sturges, 2010).

Congenital spinal stenoses are malformations that are present at the time of birth but for which there is no active underlying cause. This type of stenosis may occur alone or in association with other congenital anomalies of the spine or spinal cord, including spinal dysraphism, hemivertebrae and block vertebrae (Verbiest, 1990) (Figure 19). A mid-sagittal vertebral canal diameter that is small enough to result in compression of neural elements directly is referred to as absolute stenosis, whereas a diameter that is less than normal (for the breed), but not causing neural compression or clinical signs, is termed relative stenosis. This type of

stenosis may become symptomatic if another space-occupying pathological condition is superimposed, such as disc protrusion or ligamentous hypertrophy (Verbiest, 1990).

Doberman pinschers have been described with cranial thoracic (T3–T6) dorsoventral diameter of the canal, often with impingement of the spinal cord without overt compression (Bailey and Morgan, 1992). The malformation is apparent on routine spinal radiographs and most commonly affects the T3 to T6 vertebrae associated with mild spinal curvature (kyphosis). On myelography or MR, the vertebrae show a decrease in the dorsoventral diameter of the vertebral canal as compared with adjacent vertebrae, but spinal cord compression is not usually present (Westworth and Sturges, 2010). Two unrelated five-month-old Dogues de Bordeaux have been reported with dorsolateral cranial thoracic stenosis (T2–4 and T4–6) and thickening of the pedicle, causing spinal cord compression. Decompressive dorsal laminectomy and medial pediculectomy without stabilization were done, with slow recovery to reasonable function (Stalin et al., 2009). The authors also have seen several giant breed puppies, usually Bull Mastiffs or Great Danes between eight and fifteen months of age that have segmental spinal stenosis commonly seen in the T2 to T4 region. These dogs generally have spinal cord compression on imaging studies. Additional similar case reports include a three-month-old basset hound with progressive paraparesis due to T12 to T13 stenosis and malformation of the lamina causing spinal cord compression (Stigen et al., 1990) and a bulldog with T3 to T4 bony dorsolateral stenosis (Wheeler, 1991). This dog also had wedged-shaped vertebrae, most likely due to ventral centrum hypoplasia at T9 and T10, without spinal cord compression at that level. Thoracic congenital spinal stenosis has also been reported in two English bulldogs (Knecht et al., 1979). In addition, transitional vertebrae may frequently be stenotic or may predispose to acquired stenosis, especially in the lumbosacral location.

Developmental stenoses are malformations that are present at the time of birth with an active underlying cause that remains present throughout the growth period until the vertebrae have reached maturity. In this condition, a disproportion between a narrowed vertebral canal and the volume of neural elements within the canal often leads to clinical signs, especially affecting the lower lumbar region (Verbiest, 1990). This condition is present in chondrodysplastic dogs (Morgan et al., 1987) and may be part of the reason that clinically significant disc disease is so common in these breeds.

Medical therapy in case of congenital vertebral column anomalies

Medical management is instituted in clinically affected dogs, whether or not surgical correction of the deformity is planned. Medical management typically

consists of anti-inflammatory doses of prednisone, strict exercise restriction (with potential crate confinement) and pain-relieving drugs. NSAIDs are appropriate for dogs experiencing clinical signs of back pain with minimal to no pelvic limb motor deficits (Dewey et al., 2016).

CONCLUSION

Congenital malformations of the vertebrae occur frequently in dogs. Many spinal anomalies do not produce overt neurologic disease and are detected as incidental findings on radiography or computed tomography. In animals with neurologic disease, any spinal malformation that is seen within the region of neuroanatomic localization must be investigated carefully to establish its clinical significance. Although severe malformations may result in poor quality of life and euthanasia, there are a large number of conditions that remain surgically treatable. Recent advances in imaging and surgical techniques have improved the understanding and treatment of these diseases.

REFERENCES

- Aikawa T., Kanazono S., Yoshigae Y., Sharp N.J., Muñana K.R. (2007). Vertebral stabilization using positively threaded profile pins and polymethylmethacrylate, with or without laminectomy, for spinal canal stenosis and vertebral instability caused by congenital thoracic vertebral anomalies. *Veterinary Surgery* 36, 432–441.
- Aikawa T., Shibata M., Asano M., Hara Y., Hara Y., Tagawa M., Orima H. (2014). A comparison of thoracolumbar intervertebral disc extrusion in French bulldogs and dachshunds and association with congenital vertebral anomalies. *Veterinary Surgery* 43, 301–307.
- Bailey C.S., Morgan J.P. (1992). Congenital spinal malformations. *Veterinary Clinics of North America* 22, 985–1015.
- Booth M. J. (1998). Atypical dermoid sinus in a chow chow dog. *Journal of the South African Veterinary Association* 69, 102–104.
- Bornard N., Pin D., Carozzo C. (2007). Bilateral parieto-occipital dermoid sinuses in a rottweiler. *Journal of Small Animal Practice* 48, 107–110.
- Breit S. (2002). Osteological and morphometric observations on intervertebral joints in the canine pre-diaphragmatic thoracic spine (Th1–Th9). *Veterinary Journal* 164, 216–223.
- Brunetti A., Fatone G., Cuomo A., Lorizio R., Potena A. (1993). Meningomyelocele and hydrocephalus in a bulldog. *Progress in Veterinary Neurology* 4, 54–58.
- Camacho A. A., Laus J. L., Valeri V., Valeri F. V., Nunes N. (1995). Dermoid sinus in a great Pyrenees dog. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 32, 170–172.
- Charalambous M., Jeffery N. D., Smith P. M., Goncalves R., Barker A., Hayes G., Ives E., Vanhaesebrouck A.E. (2014). Surgical treatment of dorsal hemivertebrae associated with kyphosis by spinal segmental stabilisation, with or without decompression. *The Veterinary Journal* 202, 267–273.
- Chesney C.J. (1973). A case of spina bifida in a chihuahua. *Veterinary Record* 93, 120–121.
- Clayton H.M., Boyd J.S. (1983). Spina bifida in a German shepherd puppy. *Veterinary Record* 112, 13–135.
- Cornegliani L., Ghibaud G. (1999). A dermoid sinus in a Siberian husky. *Veterinary Dermatology* 10, 47–49.
- Cornegliani L., Jommi E., Vercelli, A. (2001). Dermoid sinus in a golden retriever. *Journal of Small Animal Practice* 42, 514–516.
- Damur-Djuric N., Steffen F., Hässig M., Morgan J.P., Flückiger M.A. (2006). Lumbosacral transitional vertebrae in dogs: classification, prevalence, and association with sacroiliac morphology. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 47, 32–38.
- Davies E.S., Transson B.A., Gavin P.R. (2004). A confusing magnetic resonance imaging observation complicating for a dermoid cyst in a Rhodesian ridgeback. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 45, 307–309.
- De Rycke L.M., Crijns C., Chiers K., van Bree H.J., Gielen I.M. (2016). Late-onset wedge-shaped thoracic vertebrae in a six-month-old pug. *Veterinary Record Case Reports* 4, 1–7.
- Dewey C.W. (2013). Surgery of the thoracolumbar spine. In: Fossum T.W. (editor). *Small Animal Surgery*. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 1508–1528.
- Dewey C. W., Davies E., Bouma J. L. (2016). Kyphosis and kyphoscoliosis associated with congenital malformations of the thoracic vertebral bodies in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 46, 295–306.
- Done S.H., Drew R.A., Robins G.M., Lane J.G. (1975). Hemivertebrae in the dog: clinical and pathological observations. *Veterinary Record* 96, 313–317.
- Fatone G., Brunetti A., Lamagna F., Potena A. (1995). Dermoid sinus and spinal malformations in a Yorkshire terrier: diagnosis and follow-up. *Journal of Small Animal Practice* 36, 178–180.
- Fingerhuth J.M., Johnson G.C., Burt J.K., Fenner W.R., Cain L.S. (1989). Neuroradiographic diagnosis and surgical repair of tethered cord syndrome in an English bulldog with spina bifida and myeloschisis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 194, 1300–1302.
- Flückiger M.A., Damur-Djuric N., Hässig M., Morgan J.P., Steffen F. (2006). A lumbosacral transitional vertebra in the dog predisposes to cauda equina syndrome. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 47, 39–44.
- Gómez M., Mieres M., Gutiérrez J.C., Jones J.C. (2012). CT myelography characteristics of spinal dysraphism in a young mixed breed dog. *Archivos de Medicina Veterinaria* 44, 191–194.
- Gutierrez-Quintana R., Guevar J., Stalin C., Faller K., Yeaman C., Penderis J. (2014). A proposed radiographic classification scheme for congenital thoracic vertebral malformations in brachycephalic “screw-tailed” dog breeds. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 55, 585–591.
- Hedequist D., Emans J. (2007). Congenital scoliosis. *Journal of Pediatric Orthopaedics* 27, 106–116.
- Hillbertz N.H. (2005). Inheritance of dermoid sinus in the Rhodesian ridgeback. *Journal of Small Animal Practice* 46, 71–74.
- Hillbertz N. H., Andersson G. (2006) Autosomal dominant mutation causing the dorsal ridge predisposes for dermoid sinus in Rhodesian ridgeback dogs. *Journal of*

- Small Animal Practice* 47, 184–188.
- Hillbertz N.H., Isaksson M., Karlsson E.K. (2007). Duplication of FGF3, FGF4, FGF19 and ORAOV1 causes hair ridge and predisposition to dermoid sinus in ridgeback dogs. *Nature Genetics* 19, 1318–1320.
- Jeffery N.D., Smith P.M., Talbot C.E. (2007). Imaging findings and surgical treatment of hemivertebrae in 3 dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 230, 532–536.
- Kawakami N., Tsuji T., Imagama S. (2009). Classification of congenital scoliosis and kyphosis: a new approach to the three-dimensional classification for progressive vertebral anomalies requiring operative treatment. *Spine* 41, 1756–1765.
- Kiviranta A.-M., Lappalainen A.K., Hagner K., Jokinen T. (2011). Dermoid sinus and spina bifida in three dogs and a cat. *Journal of Small Animal Practice* 52, 319–324.
- Knecht C.D., Blevins W.E., Raffé M.R. (1979). Stenosis of the thoracic spinal canal in English bulldogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* 15, 181–183.
- Kramer J. W., Schiffer S. P., Sande R. D., Rantanen N. W., Whitener E. K. (1982). Characterization of heritable thoracic hemivertebra of the German shorthaired pointer. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 181, 814–815.
- Lappalainen A.K., Salomaa R., Junnila J., Snellman M., Laitinen-Vapaavuori O. (2012). Alternative classification and screening protocol for transitional lumbosacral vertebra in German shepherd dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 54, 1–10.
- Malik Y., Konar M., Wernick M., Howart J., Forterre F. (2009). Chronic intervertebral disk herniation associated with fused vertebrae treated by lateral corpectomy in a cat. *Veterinary Comparative Orthopaedics and Traumatology* 22, 170–173.
- Mann G.E., Stratton J. (1966). Dermoid sinus in the Rhodesian ridgeback. *Journal of Small Animal Practice* 7, 631–642.
- Marks S. L., Harari J., Dernell, W.S. (1993). Dermoid sinus in a Rhodesian ridgeback. *Journal of Small Animal Practice* 34, 356–358.
- McMaster M.J., Singh H. (1999). Natural history of congenital kyphosis and kyphoscoliosis. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume* 81, 1367–1383.
- Meheust P., Robert R. (2010). Surgical treatment of a hemivertebra by partial ventral corpectomy and fusion in a labrador puppy. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 23, 262–265.
- Miller L, Tobias K. (2003). Dermoid sinuses: description, diagnosis and treatment. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 25, 295–299.
- Moissonnier P., Gossot P., Scotti S. (2011). Thoracic kyphosis associated with hemivertebra. *Veterinary Surgery* 40, 1029–1032.
- Morgan J.P. (1968). Congenital anomalies of the vertebral column of the dog: a study of the incidence and significance based on a radiographic and morphologic study. *Journal of the American Veterinary Radiology Society* 9, 21–29.
- Morgan J.P., Atilola M., Bailey C.S. (1987). Vertebral canal and spinal cord mensuration: a comparative study of its effect on lumbosacral myelography in the Dachshund and German shepherd dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 191, 951–957.
- Morgan J.P., Bahr A., Franti C.E., Bailey C.S. (1993). Lumbosacral transitional vertebrae as a predisposing cause of cauda equina syndrome in German shepherd dogs: 161 cases (1987–1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 202, 1877–1882.
- Morgan J.P. (1999). Transitional lumbosacral vertebral anomaly in the dog: A radiographic study. *Journal of Small Animal Practice* 40, 167–172.
- Newitt A., German A.J., Barr F.J. (2008). Congenital abnormalities of the feline vertebral column. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 49, 35–41.
- Parker A.J., Byerly C.S. (1973). Meningomyelocele in a dog. *Veterinary Pathology* 10, 266–273.
- Parker A.J., Park R.D., Byerly C.S., Stowater J.L. (1973). Spina bifida with protrusion of spinal cord issue in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 163, 158–160.
- Penderis J., Schwarz T., McConnell J.F., Garosi L.S., Thomson C.E., Dennis R. (2005). Dysplasia of the caudal articular facets in four dogs: results of radiographic, myelographic and magnetic resonance investigations. *Veterinary Record* 156, 601–605.
- Penrith M. L., Van Schouwenburg S. (1994). Dermoid sinus in a boerboel bitch. *Journal of the South African Veterinary Association* 65, 38–39.
- Ployart S., Doran I., Bomassi E., Bille C., Libermann S. (2013). Myelomeningocele and a dermoid sinus-like lesion in a French bulldog. *Canadian Veterinary Journal* 54, 1133–1136.
- Pratt J. N.J., Knottenbelt C.M., Welsh, E.M. (2000). Dermoid sinus at the lumbosacral junction in an English springer spaniel. *Journal of Small Animal Practice* 41, 24–26.
- Rahal S., Mortari A.C., Yamashita S. (2008). Magnetic resonance imaging in the diagnosis of type 1 dermoid sinus in two Rhodesian ridgeback dogs. *Canadian Veterinary Journal* 49, 871–876.
- Rossi A., Gandolfo C., Morana G., Piatelli G., Ravegnani M., Consales A., Pavanello M., Cama A., Tortori-Donati P. (2006). Current classification and imaging of congenital spinal anomalies. *Seminars in Roentgenology* 41, 250–273.
- Scott D. W., Miller H. M., Griffin C. E. (2001). Congenital and hereditary defects. In: Scott D.W., Miller W.H., Griffin C.E. (editors). *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*. Sixth edition, W.B. Saunders, Philadelphia, PA, USA, p. 936–937.
- Selcer E.A., Helman R.G., Selcer R.R. (1984). Dermoid sinus in a shih tzu and a boxer. *Journal of the American Animal Hospital Association* 20, 634–636.
- Schlenker E., Distl O. (2013). Prevalence, grading and genetics of hemivertebrae in dogs. *European Journal of Companion Animal Practice* 23, 119–123.
- Shamir M., Rochkind S., Johnston D. (2001). Surgical treatment of tethered spinal cord syndrome in a dog with myelomeningocele. *Veterinary Record* 48, 755–756.
- Song R.B., Glass E.N., Kent M., Sánchez M.D., Smith D.M., de Lahunta A. (2014). Surgical correction of a sacral meningomyelocele in a dog. *Journal of the American Animal Hospital Association* 50, 436–443.
- Song R.B., Glass E.N., Kent M. (2016). Spina bifida, meningomyelocele, and meningocele. *Veterinary Clinics of North America; Small Animals* 46, 327–345.
- Stalin C.E., Pratt J.N., Smith P.M., Jeffery N.D. (2009). Thoracic stenosis causing lateral compression of the spinal cord in two immature Dogues de Bordeaux. *Veteri-*

- nary *Comparative Orthopaedics and Traumatology* 22, 59–62.
- Stigen O., Hagen G., Kolbjornsen O. (1990). Stenosis of the thoraco-lumbar vertebral canal in a basset hound. *Journal of Small Animal Practice* 31, 621–623.
- Tsou P.M. (1977). Embryology of congenital kyphosis. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 128, 18–25.
- Tsou P.M., Yau A., Hodgson A.R. (1980). Embryogenesis and prenatal development of congenital vertebral anomalies and their classification. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 152, 211–231.
- Verbiest H. (1990) Lumbar spinal stenosis. In: Youmans J.R. (editor). *Neurological Surgery*. Third edition, Volume 4, WB Saunders, Philadelphia, USA, p. 2805–2855.
- Werner T., McNicholas T.W., Kim J., Baird D.K., Breur G.J. (2004). Aplastic articular facets in a dog with intervertebral disc rupture of the 12th to 13th thoracic vertebral space. *Journal of the American Animal Hospital Association* 40, 490–494.
- Westworth D.R., Sturges B.K. (2010). Congenital spinal malformations in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 40, 951–981.
- Wheeler S.J. (1991). Vertebral abnormalities in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 32, 149–150.
- Wigger A., Julier-Franz C., Tellhelm B.; Kramer M. (2009). Lumbosakraler Übergangswirbel beim Deutschen Schäferhund: Häufigkeit, Formen, Genetik und Korrelation zur Hüftgelenksdysplasie. *Tierärztlicher Praxis* 37, 7–13.
- Wilson J.W., Kurtz H.J., Leipold H.W., Lees G.E. (1979). Spina bifida in the dog. *Veterinary Pathology* 16, 165–179.

Uit het verleden

HONDEN BIJ ARME STEDELINGEN

‘Hun huis is doorgaans te klein voor het getal mensen dat het bevat. De kinderen zijn onrein en zwak, het ontbreekt hen aan verschoon van linnen en beddegoed; en daarbij nog honden houden! Dat alles geeft een eigenaardige walgelijken geur aan die woningen. Maar indien gij u veroorlooft hier eene opmerking over te maken, dan begint de man of de vrouw met de lof van den hond te zingen: “Het is zulk een braaf beestje, een zacht en trouw dier, enz.”

Dat de hond een trouw en vernuftig dier is, willen wij niet betwisten, maar men vergete ook niet dat de kinderen meer waard zijn dan de honden.

Een hond neemt dagelijks het aandeel voedsel van een kind weg. Indien gij geen overvloed bezit, waarom wilt ge dan immers nog honden voeden? Nu hoort gij de vrouw die u opnieuw in de rede valt: “Maar Mijnheer, men kan toch zonder beesten niet zijn.”

Er bestaat een algemeen vooroordeel onder de werkende klas, namelijk dat men huisdieren moet houden ten einde de menschen van den huize tegen ziekten en plagen te bevrijden. De plagen die anders de menschen zouden aanranden, vallen op de dieren, zeggen zij. Indien gij naar bewijzen van dat gezegde vraagt, zal de vrouw u antwoorden dat zij nooit anders gehoord heeft; hare ouders hebben het haar zo geleerd, en nu leert zij dat aan hare kinderen. En op deze wijze worden dwaling en bijgeloof zonder onderzoek van hand tot hand overgeleverd en voortgezet.

In de steden zijn de huisdieren bij de werkende klas eene groote oorzaak van onreinheid; en verre van de plagen van de mensch af te weren, zetten zij integendeel soms wel ongedierte, plagen en ziekten aan den mensch over.’

Uit: Frederick C.A. (1867). *Handboek der Gezondheidsleer voor Alle Standen*. Gent, Annot - Braeckman, p. 13-14.

Luc Devriese

DE INVLOED VAN GLUCOCORTICOÏDEN OP DE BIJNIERFUNCTIE VAN DE HOND

VRAAG

“Om de ziekte van Cushing bij de hond op te sporen, bestaan verschillende testen. Na minstens hoeveel tijd kan men eventueel de ACTH-stimulatietest (met synacthen) doen nadat men de LDDST-test reeds heeft uitgevoerd. Of omgekeerd: na hoeveel tijd kan men bijvoorbeeld de CC-test in de urine doen (na een periode zonder stress)?”

ANTWOORD

De toediening van exogene glucocorticoïden geeft inderdaad aanleiding tot suppressie van de hypothalamus-hypofyse-bijnieras. Afhankelijk van de mate van suppressie oefent dit bijgevolg vaak een significante invloed uit op verdere hormonale testen, zoals de ACTH-stimulatietest of de urinaire cortisol/creatinine-verhouding. De mate en tijdsduur van suppressie van de hypothalamus-hypofyse-bijnieras na de toediening van exogene glucocorticoïden hangt af van meerdere factoren. Hoe groter de anti-inflammatoire kracht van het gebruikte synthetische glucocorticoïd, hoe sterker de suppressie zal zijn. De chemische vorm van het gebruikte preparaat speelt ook een rol (gebruik van langwerkende tegenover kortwerkende producten). Ook de dosis en de duur van toediening van het glucocorticoïd beïnvloeden sterk de mate en de tijdsduur van de suppressie. De toedieningswijze (oraal, parenteraal, topicaal) oefent eveneens een invloed uit. Topicaal aangebrachte producten kunnen ook een significante onderdrukking van de bijnieras veroorzaken. De tijd noodzakelijk voor een volledige normalisatie van de functie van de hypothalamus-hypofyse-bijnieras is dus afhankelijk van het type preparaat, de dosis, toedieningsduur en wijze, maar ook van een individuele gevoeligheid die niet voorspeld kan worden. Bij het gebruik van preparaten met een langdurige werking kan de respons van de bijnieren gedurende weken tot maanden onderdrukt worden, terwijl dit bij een korte toedieningsduur van kort werkzame preparaten minder lang zal zijn (Behrend et al., 2013; Reusch, 2015).

In veel gevallen is het in de praktijk dus moeilijk om bij een specifieke dosis en tijdsduur van een bepaald glucocorticoïd exact te weten hoelang de respons van de bijnieren onderdrukt zal zijn. Een aantal bronnen geven echter wel enkele praktisch bruikbare richtlijnen voor een aantal situaties.

Bij een ‘lagedosis-dexamethason-suppressie-test’ (LDDST) wordt éénmalig 0,01 mg/kg dexamethason natriumfosfaat intraveneus toegediend. De intraveneuze toediening van 0,01 mg/kg dexamethason natriumfosfaat zorgde in een studie voor een snelle onderdrukking van plasmacortisolconcentraties vanaf 2 uur tot minstens 16 uur na toediening (Kemppainen en Sartin, 1984). Vierentwintig uur na toediening was het plasmacortisolgehalte bij alle honden terug genor-

maliseerd. Op basis van deze en andere studies bestaat momenteel de richtlijn om na het uitvoeren van een LDDST minstens 48 uur te wachten vooraleer een ACTH-stimulatietest uit te voeren. Omgekeerd kan een LDDST uitgevoerd worden één dag na een ACTH-stimulatietest (Kemppainen en Behrend, 2009). In een andere studie werd ook een onderdrukking van de urinaire c/c ratio’s gezien na perorale toediening van 0,01 mg/kg dexamethason natriumfosfaat (Vaessen et al., 2004). Acht uur na de toediening werden de laagste urinaire c/c ratio’s gezien.

Naast het onderdrukkende effect op de hypothalamus-hypofyse-bijnieras, kunnen exogene glucocorticoïden ook nog op een andere manier interfereren met hormonale testen voor de bijnierfunctie. Sommige glucocorticoïden, zoals prednisolone, kunnen namelijk een kruisreactie veroorzaken in de labotest voor cortisolbepaling en dusdanig als cortisol gedetecteerd worden. Daarom wordt geadviseerd om zeker een 24-uur-interval te houden tussen de laatste toediening van het glucocorticoïd en een cortisolbepaling, zodat de medicatie eerst uitgescheiden kan worden (Behrend et al., 2013).

Situaties van stress, zoals een bezoek bij de dierenarts, kunnen zoals vermeld een grote invloed uitoefenen op de urinaire c/c ratio’s. Een praktische richtlijn hiervoor is om een urinestaal vóór het onderzoek thuis en ten vroegste twee dagen na een bezoek aan de dierenarts te laten nemen door de eigenaar zelf (Behrend et al., 2013).

REFERENTIES

- Behrend E.N., Kooistra H.S., Nelson R., Reusch C.E., Scott-Moncrieff J.C. (2013). Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM consensus statement (small animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27, 1292-1304.
- Kemppainen R.J., Behrend E.N. (2009). Interpretation of endocrine diagnostic test results for adrenal and thyroid disease. In: Bonagura J.D., Twedt D.C. (eds.). *Kirk’s Current Veterinary Therapy XIV*. Saunders, Missouri, 170-174.
- Kemppainen R.J., Sartin J.L. (1984). Effects of single intravenous doses of dexamethasone on baseline plasma cortisol concentrations and responses to synthetic ACTH in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research* 45, 742-746.
- Reusch C.E. (2015). Glucocorticoid therapy. In: Feldman E.C., Nelson R.W., Reusch C.E., Scott-Moncrieff J.C., Behrend E.N. (eds.). *Canine and Feline Endocrinology*. Fourth edition, Saunders, Missouri, 555-577.
- Vaessen M.M., Kooistra H.S., Mol J.A., Rijnberk A. (2004). Urinary corticoid:creatinine ratios in healthy pet dogs after oral low-dose dexamethasone suppression tests. *Veterinary Record* 155, 518-521.

Dr. P. Defauw en Prof. dr. S. Daminet
Vakgroep Kleine Huisdieren,
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

“HEMORRHAGIC BOWEL SYNDROME” BIJ KOEIEN

VRAAG

“In de praktijk komen we af en toe koeien tegen die we verdenken of waarbij we de diagnose van “hemorrhagic bowel syndrome” (HBS) veronderstellen. Wat kun je het beste met deze dieren doen? Symptomatisch behandelen? Opereren? Doormasseren of resectie van stuk darm? Wat is de prognose? En wat kun je doen als nabehandeling bij zulke dieren?”

ANTWOORD

“Hemorrhagic bowel disease” (HBS) is een opkomende ziekte die voornamelijk gezien wordt bij hoogproductief melkvee en waarvan de exacte oorzaak nog niet volledig opgeklaard is (Abutarbush et al., 2004). De ziekte gaat gepaard met hemorragische enteritis, voornamelijk van het proximale deel van de dunne darm, waarbij vaak bloedklonters aanwezig zijn in het lumen (Abutarbush et al., 2004). De belangrijkste symptomen zijn depressie, weinig mestpassage, bloederige mest of melena, een opgezet abdomen, koliek-symptomen, anorexie, dehydratie, shock en uiteindelijk vaak sterfte na enkele dagen. De ziekte verloopt in sommige gevallen zeer acuut, waarbij plotse sterfte kan optreden zonder voorafgaande symptomen (Abutarbush en Radostitis, 2005; Ceci et al., 2006).

Het dieet blijkt een belangrijke predisponerende factor te zijn in de ontwikkeling van HBS (Berghaus et al., 2005). “Total mixed ration-” (TMR) diëten hoog in energie en eiwit met weinig structuur hebben een predisponerend effect (Godden et al., 2001; Berghaus et al., 2005). De belangrijkste hypothese over de pathogenese van de ziekte is overvoeding met eiwit, met een bacteriële overgroei van *Clostridium perfringens* en toxineproductie tot gevolg, celschade en de productie van ontstekingsmediatoren, waardoor een lokale ontstekingsreactie in gang wordt gezet. Vervolgens komt het dier terecht in een vicieuze cirkel, waarbij de ontstekingsreactie de darmbarrière aantast, waardoor dan weer plasma-eiwitten en groeifactoren beschikbaar komen in het darmlumen voor bacteriële overgroei, en kiemen en toxinen gemakkelijker in het weefsel diffunderen. Dit kan uiteindelijk leiden tot toxemie en sterfte (Elhanafy et al., 2013).

Gezien de gebrekkige kennis van de pathogenese van de uitlokkende pathogenen is een bevestiging van de diagnose moeilijk en vaak gebaseerd op de klinische bevindingen, echografie, autopsie en uitsluiting van andere oorzaken van hemorragische enteritis, zoals salmonellose, boviene virale diarree (BVD) en coccidiose. Een diepgaander overzicht van het voorkomen, de symptomen en de pathogenese van deze aandoening werd reeds beschreven in dit tijdschrift in

2016, jaargang 85, in het artikel “Gastro-intestinale *Clostridium perfringens*-infecties: een blijvend gevaar in de Belgische rundveehouderij.”

Prognose

De behandeling van HBS gebeurt vaak chirurgisch door resectie van het aangetaste darmsegment of door het doormasseren van de bloedklonters. Alternatief kan conservatief behandeld worden met antibiotica en prokinetica. Er zijn geen wetenschappelijke studies beschikbaar die de verschillende behandelingsprotocollen met elkaar vergelijken, maar wel wordt beschreven dat onafhankelijk van het gekozen protocol de mortaliteit schommelt tussen de 85-100% (Kirkpatrick et al., 2001). Aangezien de kosten zowel voor een chirurgische behandeling als voor een conservatieve behandeling snel kunnen oplopen, is behandeling dan ook in veel gevallen economisch niet verantwoord.

Chirurgische behandeling

Bij een volledige resectie van het aangetaste darmsegment verwijdert men de aanwezige kiemen en toxinen ter hoogte van de mucosa. Dit is dan ook suggestief voor een betere overlevingskans dan het enkel doormasseren of verwijderen van de bloedklonters. Echter, de mogelijkheid tot volledige resectie kan slechts pas intraoperatief beoordeeld worden. Dit is vooral afhankelijk van de plaats en omvang van het aangetaste darmsegment. Bij veel dieren is immers ook het duodenum betrokken in het proces, waardoor resectie onmogelijk wordt. Ook wanneer de anastomose niet gemaakt kan worden in de gezonde darmen, kan beter afgezien worden van resectie, omdat dan het risico op lekkage en buikvliesontsteking zeer groot is. Bovendien moet ermee rekening gehouden worden dat zelfs bij een volledige resectie van het macroscopisch aangetaste darmsegment nog microscopische letsels of hoge concentraties kiemen en toxinen aanwezig zijn in de segmenten proximaal en distaal van het aangetaste deel. Dit houdt de vicieuze cirkel in stand en kan leiden tot een herhal. Daarnaast is een resectie een technisch moeilijke, arbeidsintensieve en invasieve techniek die vaak gepaard gaat met complicaties zoals peritonitis en wondinfecties.

Daarnaast kan er overwogen worden om in de aangetaste darmsegmenten de bloedklonters door te masseren of te verwijderen via enterotomie om opnieuw passage mogelijk te maken. Er zijn in de literatuur reeds gevallen beschreven die hierna volledig herstelden (Kirkpatrick et al., 2001). Deze techniek is eenvoudiger, sneller en minder invasief voor het dier, maar heeft als belangrijkste nadeel dat de kiemen en toxinen aanwezig blijven in het darmlumen. Bij dieren

waarbij de darmwand reeds sterk aangetast is (tekenen van necrose, zeer broze darmwanden, beginnende tekenen van peritonitis), is het doormasseren van de bloedklonters onvoldoende en zal vaak de keuze moeten gemaakt worden van resectie of euthanasie.

Medicamenteuze behandeling

Een medicamenteuze behandeling kan ingezet worden als conservatieve behandeling of als nabehandeling na een chirurgische behandeling. Bij afwezigheid van tekenen van mechanische ileus en als mestpassage nog mogelijk is, kan het instellen van een conservatieve therapie aangewezen zijn. Gezien de aandoening vooral gezien wordt bij lacterende dieren, is het gebruik van medicatie zeer beperkt. Gezien het vermoeden dat de aandoening wordt veroorzaakt door *C. perfringens*, is penicilline het meest aangewezen antibioticum. Vaak worden zeer hoge dosissen gebruikt, gaande van 50 000 tot zelfs 100 000 IU/kg LG. Vaak wordt daarom gekozen voor kristallijne penicillinen, met meerdere intraveneuze toedieningen per dag, zodat steeds een hoge bloedspiegel wordt behouden. Gezien de aantasting van de darmbarrière wordt deze therapie met penicilline het beste verbreed tot een breedspectrumtherapie door de combinatie met een aminoglycoside (bijvoorbeeld neomycine).

Bijkomend wordt het beste een niet-steroidale ontstekingsremmer gegeven. Dit is belangrijk als pijnbestrijding (pijn heeft immers een negatieve weerslag op de darmmotiliteit) en om de ontsteking in de darmmucosa onder controle te houden.

Er zijn geen prokinetica geregistreerd voor gebruik bij het rund. Erytromycine is wel geregistreerd als antibioticum voor gebruik bij ademhalingsinfecties bij kalveren. Van dit product is bekend dat aan een dosis van 0,1 mg/kg, IV, of 1 mg/kg, IM de gastro-intestinale motiliteit gestimuleerd wordt (Constable et al., 2012). Het gebruik van dit product is echter verboden bij lacterende dieren. Het kan dus niet ingezet worden als therapie bij HBS.

Preventie

Ondanks een vaak intensieve en kostelijke behandeling blijft de prognose voor aangetaste dieren zeer slecht. De aanpak van de ziekte dient dus volledig op preventie gericht te zijn door goed uitgebalancerde diëten met voldoende structuraanbod en geen overmaat aan eiwit. Vaccinatie tegen *C. perfringens* met commercieel beschikbare vaccins of met autologe

toxoid vaccins was niet in staat om op enkele aangetaste bedrijven de incidentie van HBS te verminderen (Elhafany et al., 2013). Momenteel wordt er geëxperimenteerd met het supplementeren van mannanpolysacchariden, waarvan gedacht wordt dat deze de prevalentie van HBS kunnen verlagen. De resultaten van deze studie zijn echter nog niet bekend.

Het is duidelijk dat het onderzoek naar HBS nog in zijn kinderschoenen staat. De kennis die in de toekomst zal verworven worden, zal hopelijk leiden tot meer gefundeerde behandelingsprotocollen.

REFERENTIES

- Abutarbush SM, Carmalt JL, Wilson DG, O'Connor BP, Clark EG, Naylor JM. (2004). Jejunal hemorrhage syndrome in 2 canadian beef cows. *Canadian Veterinary Journal* 45, 48-50
- Abutarbush SM, Radostits OM. (2005). Jejunal hemorrhage syndrome in dairy and beef cattle: 11 cases (2011-2003). *Canadian Veterinary Journal* 46, 711-715
- Berghaus RD, McCluskey BJ, Callan RJ. (2005). Risk factors associated with hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 226, 1700-1706
- Ceci L, Paradies P, Sasanelli M, De Caprariis D, Guarda F, Capucchio MT, Carelli G. (1998). Hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle: possible role of clostridium perfringens type a in the disease complex. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 53, 518-523
- Constable PD, Nouri M, Sen I, Baird AN, Wittek T. (2012). Evidence-based use of prokinetic drugs for abomasal disorders in cattle. *Veterinary Clinic of North America Food Animal Practice* 28(1), 51-70
- Elhanafy MM, French DD, Braun U. (2013). Understanding jejunal hemorrhage syndrome. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 243, 352-358
- Godden S., Frank R, Ames T. (2001). Survey of Minnesota dairy veterinarians on the occurrence of and potential risk factors for hemorrhage Syndrome in adult dairy cows. *The Bovine Practitioner* 35, 97-103
- Kirkpatrick MA, Timms LL, Kersting KW, Kinyon JM. (2001). Jejunal Hemorrhage Syndrome of dairy cattle. *Bovine Practitioner* 35, 104-116

Dr. B. Valgaeren
Hogent, Faculteit Natuur en Techniek,
Vakgroep Natuur- en Voedingswetenschappen
Campus Melle, Brusselsesteenweg 161,
B-9090 Melle

NACHTELIJKE CROSS PER FIETS

M. Dhoore

Promotie Cureghem 1924, destijds veearts in Oostkamp bij Brugge

Het verhaal speelt zich af tijdens het Interbellum in die gemeente met haar afgelegen wijk Nieuwenhove. Enkele korte verduidelijkingen werden tussen haakjes toegevoegd.

'n Winternacht rond één 'n half (half twee); er wordt gebeld aan de voordeur, lang genoeg om de halve straat te doen opschrikken. Ik trek het venster open: "Ja, wat nieuws"? "Meester wilt g'eens onmiddellijk komen bij René Piceu op Nieuwenhove"? "En wat scheelt er"? "t Is voor m'n paard, 't kan bijna niet verterden (zijn voeten verplaatsen). 'k Geloof dat 't erg is". Diagnose op afstand: waarschijnlijk bewaaid (bevangen, een ernstig noodgeval). "Goed, 'k zal seffens komen". Gauw gezegd, maar bij 't aankleden realiseerde ik mij de feiten: René Piceu, 't verste van Nieuwenhove, drie km ver, waarvan 't grootste deel op 'n smal slecht onderhouden voetpadje, langs de ene kant 'n vuile slijkstraat, en de andere kant 'n diepe gracht. 't Werd dus 'n nachtelijke crosspartij met de fiets.

'n Kruiske gemaakt: Sint Kristoffel bid voor mij, en weg. Toen ik, heelhuids, in de stal kwam, veranderde mijn diagnose: 't paard stond smakelijk hooi te eten, maar vertoonde 'n sterk gezwollen linker achterbeen, van onder het kniegewricht tot boven het spronggewicht, dus geen bewaaidheid, maar 'n gewone zinking.

Nader onderzoek gaf zekerheid: lymphanngitis. Die aandoening komt nog al eens voor, uitsluitend bij paarden; lokale ontsteking of obstructie van de lymfevaten met osmose van lymfe en water. Oorzaak: 53 jaar terug, leerden ze ons te Curegem: gewoonlijk van infectieuze aard, meest botulisme. Ik geloof daar niet veel van. Nu, 't is 'n theorie lijk 'n andere, 't kind moet toch 'n naam hebben. In alle geval die aandoening is wel alarmerend door haar symptoom, maar geneest na enkele dagen, met of zonder behandeling.

"René, wanneer hebt ge dat gezien"? "Wel meester, als melkvoerder moet ik mijn paard rond 5 uur 's morgens haver geven; het kon bijna niet vergaan en ik zag die zwelling op z'n achterbeen. 'k Heb de melk gevoerd met 't paard van mijn gebuur, en te noene was 't nog niet beter". "g' Hebt er niet op gepeinsd dat het dan hoog tijd was om de veearts te halen"? "Neen, ik dacht dat het misschien zou beteren in de achter noen, maar wat zou het. Ik ben dan in de nacht nog 'n keer komen kijken, en ik zeg aan 't wijf "Ik betrouw het spel niet, ik ga de meester halen. Beter te vroeg dan te late."

'k Heb nooit geweigerd 's nachts naar een zieke te gaan; maar ik heb altijd moeilijk verteerd dat ze mij uit mijn bed haalden voor 'n prulle, of voor iets dat reeds lang duurde, wat hier wel het geval was. Piceu zou de absolutie krijgen, zijn paard zou genezen, maar de penitentie zou zwaar zijn. "Goed dat ge gekomen zijt, anders was uw paard kapot. Luister nu goed Rene : neem een spade en een emmer . Rijdt met uw velo naar Waardamme tot bij de beke, achter Verrewaeres; delf daar kort bij 't water 2 steken diep tot op de klijte (klei). Vul dan uw emmer met klei ; als ge thuis komt, neem 'n bolle van die klijte, en kneed ze met water en azijn ; leg dan 'n laag van die pap op 't gezwel ; na 'n kwartier wast ge dat af, en masseert het been met warm water gedurende 10 minuten. Herhaal die zelfde behandeling elk half uur tot morgen na de noon. 's Zaterdag's moet ge toch geen melk voeren. Kom zondag dan ne keer vertellen hoe 't is. Alles goed verstaan "? "Ja meester 'k zal 't al doen lijk ge gecommandeerd hebt." "Dat 's goed René, en begin er maar aan, courage"! "n Avond meester, en wel thuis."

Ik ben goed thuis gekomen, zonder in de straat of in de gracht te vallen. 'k Hoopte hetzelfde voor Piceu, die minstens even ver moest crossen naar Waardamme op 'n nog slechter parcours. 'k Had toch 'n beetje wroeging : was de penitentie niet te zwaar ?

's Zondags kwam René welgezind vertellen, dat de ziekte gekeerd was, en 't gezwel aan 't verminderen. "Die Waardamse klijte heeft mirakels gedaan ; 'k ben toch zo kontent dat ik nog die nacht gekomen ben."

M'n lichte gewetenswroeging draaide met de slag om tot 'n prettige herinnering.

Naschrift van de redactie

Dit verhaal is een drie uit de boerenpraktijk van Marcel Dhoore, door hem zelf geschreven, netjes uitgetikt en in een boekje verzameld onder de titel 'Haec olim meminisse juvabit'. 'Misschien zal het ooit genoeg doen hieraan terug te denken'. Onnodig te zeggen dat de redactie van 'Uit het Verleden' dit citaat uit Vergilius' Aeneas ten volle genegen is. Dhoore schonk dit werkje aan zijn dorpsgenoot, de toen pas afgestudeerde Paul Simoens (promotie Gent, 1976), die het koesterde tot hij het boekje op zijn beurt aan de museumcollectie Diergeneeskundig Verleden Merelbeke bezorgde. We danken hem ten zeerste, samen met Adrien Brysse die de scan en OCR-bewerking deed voor het VDT.



Heeft u als **dierenarts** varkens- of braadkippenbedrijven waar men het **antibioticagebruik wil terugdringen** in uw klantenbestand? Of bent u **zelf eigenaar van een dergelijk bedrijf** en wenst u uw bedrijf verder te verbeteren? Dan kan u via de Universiteit Gent volledig kosteloos begeleid worden om uw bedrijfsvoering en infectiepreventie te optimaliseren. Dit alles kadert in het **i-4-1-Health** project, gefinancierd vanuit het Europese programma Interreg Vlaanderen – Nederland met de steun van de Vlaamse overheid en de provincies Oost-Vlaanderen en Antwerpen.

Waarom wilt u als dierenarts meewerken aan dit project? U zal als eerste beschikken over de nieuwe methodologie die uit dit project voortkomt. Hierdoor zal u in de toekomst state-of-the art coaching kunnen aanbieden aan al uw klanten. De bedrijven die onder uw hoede deelnemen, zullen na afloop van het project betere resultaten kunnen voorleggen wat hun antibioticumgebruik, resistentieprofiel en bedrijfsmanagement betreft.

Als deelnemer draagt u bij tot belangrijk onderzoek en helpt u tegelijk uw bedrijf naar een meer duurzame toekomst. In het kort zullen de volgende aspecten onderdeel uitmaken van dit onderzoek: 1) er zal een kennisnetwerk opgebouwd worden onder de deelnemers, hun adviseurs en de onderzoekers om van elkaar te leren, 2) het antibioticum resistentie profiel van uw bedrijf wordt bepaald, 3) uw bedrijf wordt door middel van een "infectiepreventie scan" geëvalueerd en 4) vanuit deze resultaten wordt door middel van coaching een geïndividualiseerd verbetertraject gestart, in samenwerking met uw dierenarts, waarbij de focus ligt op dierziektepreventie, bioveiligheid en vermindering van het antimicrobiële gebruik. Dit allemaal zal uw productiekosten ten goede komen. Wil u deelnemen, neem dan snel contact op met ons.

Contactgegevens:

Dierenarts Nele Caekebeke

Eenheid voor Veterinaire Epidemiologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent

nele.caekebeke@ugent.be

09/264 75 48

In samenwerking met Proefbedrijf Pluimveehouderij, Universiteit Utrecht en de Gezondheidsdienst voor Dieren.



In elk kalf schuilt een productieve toekomst



NAAM VAN HET DIERGENEESMIDDEL: RISPOVAL RS+PI3 IntraNasal KWALITATIEVE EN KWANTITATIEVE SAMENSTELLING: Bevat per dosis van 2 ml. Werkzame bestanddelen: Gemodificeerd Levend Bovine Parainfluenza type 3 (PI3V) virus, thermosensitieve stam RLB103, tussen 105,0 en 108,6 CCID50. Gemodificeerd Levend Bovine Respiratory Syncytial (BRSV) virus, stam 375, tussen 105,0 en 107,2 CCID50. HULPSTOFFEN: OPLOSMIDDEL: Natrium chloride 18 mg Water voor injectie 2 ml Indicaties voor gebruik met specificatie van de doeldiersoort(en) Voor actieve immunisatie van kalveren met of zonder maternale antilichamen, vanaf een leeftijd van 9 dagen tegen BRSV en PI3V ter vermindering van de gemiddelde titer en de uitscheidingsduur van beide virussen. De aanvang van de immuniteit: 5 dagen voor BRSV en 10 dagen voor PI3V na een enkele vaccinatie. De immuniteitsduur: 12 weken na een enkelvoudige dosis. De immuniteitsduur van de PI3V fractie kan verminderen bij MDA positieve kalveren wanneer deze gevaccineerd worden voor de leeftijd van 3 weken. CONTRA-INDICATIES: Geen. BIJWERKINGEN (frequentie en ernst) : Uit publicaties is gebleken dat in zelden voorkomende gevallen een hypersensitiviteit-reactie opgewekt kan worden door herhaalde blootstelling aan BRSV. Dieren, waarbij het colostrum ontzegd werd, gevaccineerd aan 10 x de aanbevolen dosis voor hun derde levensweek: een toename van de temperatuur, nutritionele diarree, abnormale faeces and gedragingen werden vastgesteld. DOSERING & TOEDIENINGSWEG: Reconstitueer het vaccin door het oplosmiddel aseptisch toe te voegen aan de gevriesdroogde fractie. Goed schudden. Vaccinatieschema: Een enkelvoudige dosis van 2 ml gereconstitueerd vaccin intranasaal toedienen met behulp van de intranasale applicator aan rundvee vanaf een leeftijd van 9 dagen. Aanbevolen wordt om de applicator na elk dier te vervangen om het overbrengen van infectieuze organismen te vermijden.

Rispoval[®] IntraNasal

Benut hun kansen

VOOR DIEREN. VOOR GEZONDHEID. VOOR U.

zoetis