

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

JANUARI - FEBRUARI 2017
VOL. 86 - NR 1
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 Chromatoforoma's bij reptielen

O Ruminale functie bij melkkoeien met pensacidose

O Ultrageluidtherapie voor tibiafractuur bij een hond

O Dysplasie van fermurkop bij een jonge hond

O Prednisolone bij honden met meningo-encefalitis

O Apoxvirus bij pinguïns en kippen in België

O Neurologisch onderzoek bij paarden

EURICAN CHPPi₂ WORDT EURICAN DAPPI



EEN GROTE STAP VOORWAARTS IN DE BESCHERMING VAN HONDEN

EURICAN DAPPI-L_{MULTI}

SNELLE IMMUNITEIT

NA 2 WEKEN VOOR ALLE COMPONENTEN

KRACHTIGE IMMUNITEIT

6 BESCHERMINGSCLAIMS VOOR LEPTOSPIROSE

BREDE IMMUNITEIT

BEWEZEN KRUISBESCHERMING VOOR ALLE CIRCULERENDE
PARVOVIRUS-STAMMEN

GECOMBINEERDE IMMUNITEIT

COMPATIBEL MET RABISIN®

EURICAN®

VERTROUWEN OP ERVARING

Eurican® DAPPI-Lmulti lyofilisaat en suspensie voor injectie. **Samenstelling:** lyofilisaat: Canine Distempervirus, stam BA5, Canine Adenovirus type 2, stam DK13, Canine Parvovirus type 2, stam CAG2, Canine Parainfluenzavirus type 2, stam CGF 2004/75; suspensie met geïnactiveerde: *Leptospira interrogans* serogroup en serovar Canicola stam 16070, *Leptospira interrogans* serogroup en serovar Icterohaemorrhagiae stam 16069 en *Leptospira interrogans* serogroup en serovar Grippotyphosa stam Grippo Mal 1540. **Doelersoort:** Hond. **Indicaties:** Actieve immunisatie van honden ter preventie van mortaliteit en klinische symptomen door distempervirus (CDV), preventie van mortaliteit en klinische symptomen door infectieuze canine hepatitis (CAV), reductie van virale excretie tijdens respiratoire ziekte door canine adenovirus type 2 (CAV-2), preventie van mortaliteit, klinische symptomen en virale excretie door canine parvovirus (CPV)*, reductie van virale excretie door canine parainfluenza virus type 2 (CPV), preventie van mortaliteit, klinische symptomen, infectie, bacteriële excretie, renale reservoirvorming en renale letsels, door *Leptospira interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae serovar Icterohaemorrhagiae, preventie van mortaliteit** en klinische symptomen, reductie van infectie, bacteriële excretie, renale reservoirvorming en renale letsels door *Leptospira interrogans* serogroup Canicola serovar Canicola, preventie van mortaliteit** en reductie van klinische symptomen, infectie, bacteriële excretie, renale reservoirvorming en renale letsels door *Leptospira kirschneri* serogroup Grippotyphosa serovar Grippotyphosa. **Aanvang van immuniteit:** 2 weken voor alle stammen. **Duur van immuniteit:** Minstens één jaar na de tweede injectie van het basisvaccinatieschema voor alle stammen. Beschikbare challenge en serologie data tonen aan dat bescherming tegen distempervirus, adenovirus en parvovirus* 2 jaar aanhoudt na een basisvaccinatie gevolgd door een eerste jaarlijkse booster. Iedere beslissing om het vaccinatieschema van dit diergeneesmiddel aan te passen dient per geval te worden genomen, rekening houdend met de serologische status van de hond en de epidemiologische context. *Bescherming werd aangetoond tegen canine parvovirus type 2a, 2b en 2c door challenge (type 2b) of serologie (type 2a en 2c). **Er trad geen mortaliteit op gedurende de challenge-studie voor immuniteitsduur tegen *Leptospira Canicola* en Grippotyphosa. **Contra-indicaties:** Geen. **Bijwerkingen:** Direct na injectie vaak een milde zwelling (s 2 cm) ter hoogte van de injectieplaats, welke gewoonlijk afneemt binnen 1-6 dagen. In bepaalde gevallen, vergezeld worden door milde jeuk, warmte en pijn ter hoogte van de injectieplaats. Voorbijgaande lethargie en braken kunnen ook worden waargenomen. Soms anorexia, polydipsie, hyperthermie, diarree, spiertrillingen, spierzwakte en huidletsels ter hoogte van de injectieplaats. Zelden overgevoeligheidsreactie (geschikte symptomatische behandeling). **Dosering en toedieningsweg:** Injecteer een dosis van 1 ml subcutaan volgens het volgende schema: **Basisvaccinatie:** Twee injecties met een interval van 4 weken vanaf een leeftijd van 7 weken. In gevallen waar hoge niveaus van maternale antilichamen worden vermoed door de dierenarts en de basisvaccinatie voltooid was vóór een leeftijd van 16 weken, wordt een derde injectie met een Merial-vaccin tegen distemper, adenovirus en parvovirus aanbevolen vanaf de leeftijd van 16 weken, minstens 3 weken na de tweede injectie. **Herhalingsvaccinatie:** Dien één dosis toe 12 maanden na het voltooien van de basisvaccinatie. Honden dienen gehervaccineerd te worden met een enkelvoudige booster dosis op jaarbasis. BE-V480355 - REG NL 116503; Op diergeneeskundig voorschrift - UDD. Voor verdere informatie: zie bijsluiter of beschikbaar bij Merial Belgium NV/SA, Avenue Ariane 16, 1200 Brussel of Merial BV, Kleermakerstraat 10, 1991 JI Velsbroek (Nederland). hri60916. © Geregistreerd handelsmerk van Merial. © Merial 2017 - Alle rechten voorbehouden. Matt Art 18128/2_v1/01/2017



Merial maakt nu deel uit van Boehringer Ingelheim

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

2017, vol. 86, nr. 1

INHOUD

Overzichtsartikel	Review
5 A.LANCKNEUS, A. MARTEL, L. BOSSELER, T. HELLEBUYCK Chromatoforoma's bij reptielen	A.LANCKNEUS, A. MARTEL, L. BOSSELER, T. HELLEBUYCK Chromatophoromas in reptiles
Origineel artikel	Original article
16 F. LESSIRE, E. KNAPP, L. THERON, J.L. HORNICK, I. DUFRASNE, F. ROLLIN Evaluatie van de ruminale functie bij Belgische melkkoeien verdacht van subacute pensacidose	F. LESSIRE, E. KNAPP, L. THERON, J.L. HORNICK, I. DUFRASNE, F. ROLLIN Evaluation of the ruminal function of Belgian dairy cows suspected of subacute ruminal acidosis
Retrospectieve studie	Retrospective study
24 I. CORNELIS, L. VAN HAM, S. DE DECKER, K. KROMHOUT, K. GOETHALS, I. GIELEN, S. BHATTI Monotherapie met prednisolone bij honden met meningo- encefalitis van onbekende oorsprong	I. CORNELIS, L. VAN HAM, S. DE DECKER, K. KROMHOUT, K. GOETHALS, I. GIELEN, S. BHATTI Sole prednisolone therapy in canine meningoencephalitis of unknown etiology
Casuïstieken	Case reports
29 J. HEREMANS, E. DE BAKKER, B. VAN RYSSSEN, Y. SAMOY Therapeutisch ultrageluid als ondersteuning bij de behandeling van een tibiafractuur bij een hond	J. HEREMANS, E. DE BAKKER, B. VAN RYSSSEN, Y. SAMOY Therapeutic ultrasound as an aid in tibial fracture management in a dog
35 K.J.M. VAN HOOF, E. VAN DER VEKENS, Y. SAMOY, E. DE BAKKER, E. STOCK Fysaire dysplasie van de femurkop bij een jonge golden retriever	K.J.M. VAN HOOF, E. VAN DER VEKENS, Y. SAMOY, E. DE BAKKER, E. STOCK Femoral capital physeal dysplasia in a young Golden retriever
40 V.R.A.P. REDDY, F. VERCAMMEN, I. TRUS, H.J. NAUWYNCK Gelijktijdige uitbraken van verschillende avipoxvirussen bij humboldtpinguïns in dierenpark Planckendaël en bij kippen van commerciële pluimveebedrijven in België	V.R.A.P. REDDY, F. VERCAMMEN, I. TRUS, H.J. NAUWYNCK Contemporary outbreaks of different avipoxviruses in Humboldt Penguins of wild animal park Planckendaël and in chickens of commercial poultry farms in Belgium
Permanente vorming	Continuing education
47 J. RIJCKAERT, L. LEFÈRE EN G. VAN LOON Neurologisch onderzoek bij paarden in de praktijk	J. RIJCKAERT, L. LEFÈRE EN G. VAN LOON Equine neurologic examination in practice
Vraag en antwoord	
56 Streptokokkeninfecties bij biggen 57 Het gebruik van Cefovecin bij reptielen, vogels, kleine herbivoren en fretten	
3 In Memoriam	
59 Erratum	
55 Persbericht	
15,60 Uit het verleden	

Foto cover: Tom Hellebuyck (Khao Sok National Park - Thailand)

Deze *Trimeresurus vogeli* in het Khao Sok National Park in Thailand is een karakteristieke groefkopadder. Zoals alle groefkopadders is het een opportunistische jager die dankzij zijn felgroene kleur perfect gecamoufleerd is en zijn prooi in een hinderlaag opwacht. Hoewel de pigmentatie van de huid bij deze slangen en andere reptielen een essentiële rol speelt in hun natuurlijk gedrag en overleving, worden bij in gevangenschap gehouden reptielen regelmatig chromatoforoma's gezien. Deze tumoren van pigmentcellen werden nog niet beschreven bij wildlevende reptielen en onder andere de voorziening van artificiële ultravioletverlichting zou een rol kunnen spelen in het ontstaan van deze neoplasieën bij reptielen in gevangenschap (cf. pg. 5).

Tekst: Tom Hellebuyck

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

ISSN 0303-9021

<http://vdt.UGent.be>

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

Redactiecomité:

P. Bols, 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.

Beknpte richtlijnen voor auteurs

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

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

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

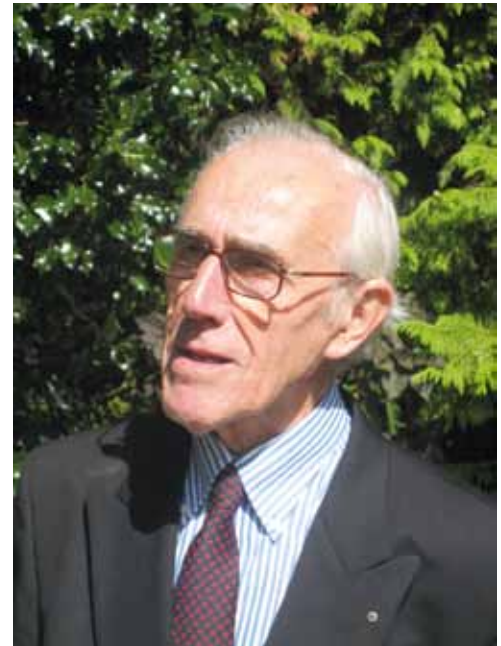
Verdere details kunnen verkregen worden op de redactie of op www.vdt.ugent.be

IN MEMORIAM EMERITUS PROFESSOR DR. JOSEPH HOORENS

De Redactie van het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift heeft de droeve plicht het overlijden mee te delen van haar voormalige hoofdredacteur Professor Dr. Joseph Hoorens, emeritus gewoon hoogleraar van de Faculteit Diergeneeskunde, die op 3 januari 2017 in zijn woonplaats De Pinte overleden is.

Professor Hoorens werd geboren te Roeselare op 29 april 1928 en groeide op in een agrarisch milieu, in nauwe verbondenheid met de natuur. Hij volgde de klassieke Latijn-Griekse humaniora in het Klein Seminarie van zijn geboortestad. Daar werd hij doordrongen door de traditionele waarden van cultuur en filosofie die hem werden aangereikt, waarden die hij levenslang zou koesteren en verder ontwikkelen.

Hij begon zijn studies veeartsnijkunde aan de Katholieke Universiteit Leuven, waar hij de eerste twee kandidaturen doorliep. Vanaf het academiejaar 1948-1949 vervolgde hij zijn opleiding tot dierenarts aan de Rijksuniversiteit Gent, en behaalde er in 1950 het diploma van Kandidaat in de Veeartsnijkunde met grote onderscheiding. Tijdens zijn doctoraatsstudies was hij vrijwillig medewerker aan het Laboratorium voor Fysiologische scheikunde onder de leiding van Prof. Lucien Massart en aan het Laboratorium voor Ontleedkunde van Prof. Jan de Regt. Op 9 juli 1953 behaalde hij het diploma van Doctor in de Veeartsnijkunde met grote onderscheiding en verkreeg hij de eerste prijs voor zijn doctoraatsstudie "Celluloseafbraak in de pens" die hij had uitgewerkt in het Laboratorium van Heelkunde onder de supervisie van Prof. Jean Bouckaert.



Een paar maand na zijn afstuderen, op 1 oktober 1953, werd hij aangesteld als assistent in het Laboratorium voor Pathologische Ontleedkunde en Algemene Ziekteleer der Veeartsenijschool, dat onder de leiding stond van Prof. Jozef Thoonen, maar op dezelfde dag werd hij ook opgeroepen om gedurende anderhalf jaar zijn legerdienst te vervullen. Op 1 april 1955 begon dan zijn werkelijke indiensttreding. Twee jaar later bevorderde hij tot werkleider en in die functie verkreeg hij op 1 oktober 1959 een vaste aanstelling.

Op 1 januari 1962 volgde zijn benoeming tot geassocieerd docent aan de Faculteit Diergeneeskunde, en op 11 december van datzelfde jaar, na het geven van een openbare les getiteld: "Spierdystrofieën van nutritionele oorsprong bij huisdieren", behaalde hij de graad van Geaggregeerde voor het Hoger Onderwijs in de Dierlijke Pathologie met een proefschrift dat handelde over "Enteritis regionalis bij het varken".

Gedurende meer dan 10 jaar was Prof. Hoorens de enige wetenschappelijke medewerker in het Laboratorium van Pathologie en was hij belast met het dagdagelijks werk in de autopsiezaal en het histopathologisch onderzoek. Jaarlijks werden er in die periode ongeveer 800 lijkschouwingen en 1200 histologische onderzoeken uitgevoerd. Een belangrijke mijlpaal in de ontplooiing van zijn wetenschappelijke carrière was toen ook zijn studieverblijf aan het Instituut voor Veterinaire Pathologie van de Universiteit van Giessen, waar hij de basis legde voor talrijke en succesvolle internationale samenwerkingsprojecten die tot op vandaag door zijn medewerkers en opvolgers worden verdergezet.

Na het emeritaat van Prof. J. Thoonen op 1 oktober 1966 werd Prof. Hoorens aangesteld als zijn plaatsvervanger en op 1 juni 1967 werd hij benoemd tot gewoon hoogleraar en titularis van de leerstoel Dierlijke Pathologische Ontleedkunde, Algemene Ziekteleer en Lijkschouwing aan de Faculteit Diergeneeskunde, een mandaat dat hij 25 jaar lang met volle inzet zou vervullen.

Zijn leeropdracht, die volledig geprogrammeerd stond in de doctoraatsjaren van de opleiding, was zeer uitgebreid en omvatte de cursussen Algemene ziekteleer, Algemene en bijzondere pathologische ontleedkunde met de bijhorende praktische oefeningen, de lijkschouwingen en de Teratologie.

Prof. Hoorens was een uitstekend didacticus. In zijn goed gestructureerde hoorcolleges bood hij niet alleen feitenkennis aan, maar vooral ook inzicht in de uitgebreide leerstof, die hij overvloedig illustreerde met voorbeelden uit zijn eigen praktijkervaring.

Ook zijn schitterende museum, waarin hij een indrukwekkende collectie pathologische en teratologische preparaten had verzameld, was voor de studenten een unieke bron van documentatie en voor alle bezoekers de grote blikvanger van de campus aan het Casinoplein.

Hij bedacht ook het concept om elke middag de dissectiezaal open te stellen voor alle studenten, om er kennis te nemen van de autopsiebevindingen die waren uitgestald en van een korte uitleg voorzien, zodat men een duidelijk beeld kreeg van de ziekten die in onze contreien vaak, zelden of uitzonderlijk voorkomen. Dit originele concept wordt door zijn opvolgers nog altijd in ongewijzigde vorm aangeboden, en krijgt telkens opnieuw de grootste lof van de Europese visitatiecommissies die de faculteit evalueren.

Voor zijn studenten en zijn medewerkers was hij een veeleisende professor, die een grote inzet verwachtte. Met grote autoriteit eiste hij stiptheid, discipline, orde en netheid van iedereen, maar zelf was hij de eerste om van dat alles het goede voorbeeld te geven, want plichtsbewust en met een diepgewortelde verantwoordelijkheidszin vervulde hij zijn vele academische opdrachten. Nooit was hij afwezig of te laat in de leszaal, elke dag leidde hij persoonlijk de lijkschouwingen en verzamelde hij 's middags zijn assistenten rond de discussiemicroscop om de weefselcoupes te bespreken. En als hij passeerde langs de practicumzaal en het museum, dan sprong hij steevast even binnen om de aanwezige studenten wat advies te geven.

Want achter zijn strikte uiterlijk school een vaderlijke bezorgdheid en een warm hart. Hij was altijd bereikbaar met een luisterend oor en goede raad voor studenten met problemen, en ontelbaar zijn degenen die zijn advies kwamen vragen wanneer iemand uit hun familie- of vriendenkring met ziekte werd geconfronteerd. Dan nam hij alle tijd om raad te geven, gebaseerd op zijn enorme kennis die ver uitsteeg boven de grenzen van zijn vakgebied.

Als onderzoeker stond Prof. Hoorens internationaal bijzonder hoog aangeschreven omwille van zijn expertise over de pathologie van het varken, maar daarnaast deed hij onderzoek in alle domeinen van zijn brede vakgebied, niet alleen over nutsdieren -zoals vroeger het geval was- maar ook over gezelschapsdieren, volledig in de lijn van de moderne ontwikkelingen in het diergeneeskundig beroep.

Zijn kennis van de medische wetenschappen was magistraal. Het was de vrucht van jarenlang en dagdagelijks wetenschappelijk onderzoek, een enorme belesenheid, intensieve contacten met collega's uit binnen- en buitenland, en het uitbouwen van een wetenschappelijk team van excellente medewerkers rondom hem.

Hij publiceerde een indrukwekkend aantal wetenschappelijke studies en boeken, waaronder het zeer nuttige standaardboek "Huisvesting, voeding en ziekten van het varken", dat hij, samen met de collega's uit de klinieken, in 1973 uitgaf. Verder was hij gastspreker en organisator van internationale congressen, en was hij zeer actief betrokken in de werking van de 'European Society of Veterinary Pathology'.

Op zijn grote expertise werd vaak beroep gedaan door wetenschappelijke verenigingen, zoals de Veterinaire consultatieve commissie van het Ministerie van Landbouw en de Wetenschappelijke Raad van het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek, waarvan hij jarenlang actief lid was.

Omwille van zijn autoriteit en leidinggevende capaciteiten werd Prof. Hoorens in 1972 gekozen tot decaan van de faculteit, een mandaat dat hij gedurende twee jaar vervulde. In deze periode moesten zware beslissingen genomen worden, die de aanloop vormden naar een gebeurtenis die de faculteit in al haar facetten grondig zou veranderen, namelijk de bouw van de nieuwe campus in Merelbeke. Van in het begin was dit een moeilijk dossier, en de besprekingen - die trouwens twintig jaar zouden aanslepen - verliepen vaak moeizaam. Maar als decaan verkoos hij in alle debatten de dialectiek van het compromis en de consensus boven die van het conflict. In dezelfde geest vertegenwoordigde hij ook de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent gedurende 15 jaar, van 1977 tot 1993, in de Hoge Raad van de Orde der Dierenartsen.

Op 1 oktober 1993, 40 jaar na het begin van zijn academische loopbaan, werd Prof. Hoorens eervol ontslag verleend en was hij vanaf dan gemachtigd de titel van emeritus gewoon hoogleraar te voeren.

Dit betekende echter geenszins het einde van zijn engagement. Onmiddellijk nam hij het initiatief om een museumcommissie op te richten voor het bewaren van de schat aan documenten en instrumenten uit het rijke diergeneeskundige verleden van de faculteit.

Ook werd hij bereid gevonden om in 1994 en 1995 de taak op zich te nemen van hoofdredacteur van het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, waarvan hij reeds jarenlang een bezielend redactielid en de meest productieve auteur was geweest. Nog vele jaren kon de faculteit aldus beroep doen op zijn rijke ervaring en kennis, en met grote vreugde en trots zag hij hoe zijn opvolgers zijn levenswerk verderzetten en grote internationale uitstraling gaven.

Aan het rijkge vulde leven van Prof. Hoorens is thans een eind gekomen. Op donderdag 12 januari 2017 werd in de parochiale Sint-Nicolaas-van-Tolentijnkerk in De Pinte van hem afscheid genomen door een grote schare collega's, oudstudenten en vrienden, die aan de diepbedroefde familie hun respect en dank betuigden voor zijn levenslange inzet.

Namens de Universiteit Gent, de Faculteit Diergeneeskunde en de voltallige Vlaamse diergeneeskundige gemeenschap betuigt de redactie van het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift haar oprecht medeleven aan zijn echtgenote, kinderen en kleinkinderen.

In dankbaarheid voor alles wat Professor Joseph Hoorens heeft gedaan en betekend voor de Faculteit Diergeneeskunde en het diergeneeskundig beroep, hebben wij zijn naam met gulden letters bijgeschreven in de annalen van het tijdschrift.

Chromatoforoma's bij reptielen

Chromatophoromas in reptiles

A. Lanckneus, A. Martel, L. Bosseler, T. Hellebuyck

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

Tom.Hellebuyck@UGent.be

SAMENVATTING

Neoplasieën van de pigmentcellen of chromatoforen bij reptielen worden naargelang hun oorsprong geclassificeerd als melanoforoma's, iridoforoma's, xantoforoma's, erythroforoma's of gemengde chromatoforoma's. In tegenstelling tot wat oorspronkelijk verondersteld werd, komen deze primaire, cutane neoplasieën regelmatig voor bij in gevangenschap gehouden reptielen. Melanoforoma's en iridoforoma's worden het meest frequent vastgesteld. Een definitieve diagnose van chromatoforoma's wordt bekomen door middel van histologisch onderzoek. Aanvullend is immunohistochemie of elektronenmicroscopie soms noodzakelijk om chromatoforoma's onderling te differentiëren. Complete chirurgische excisie wordt beschouwd als de voorkeursbehandeling. Vanwege de uitgesproken maligniteit en neiging tot metastasering is de prognose van chromatoforoma's bij reptielen over het algemeen echter sterk gereserveerd. Een vroegtijdige en correcte diagnose van deze neoplastische aandoening bij reptielen is daarom van primordiaal belang. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de huidige kennis omtrent het voorkomen, het biologisch gedrag, de pathogenese en de diagnostische en therapeutische benadering van chromatoforoma's bij reptielen met de nadruk op melano- en iridoforoma's.

ABSTRACT

Tumors of the pigment cells or chromatophores in reptiles are classified as melanophoromas, iridophoromas, xanthophoromas, erythrophoromas or mixed type chromatophoromas based on the predominant type of pigment, and constitute a relatively common neoplastic disorder in captive reptiles. Especially melanophoromas and iridophoromas are frequently observed. The diagnosis of chromatophoromas is usually made through histological examination. The use of immunohistochemistry or electron microscopy may be required to discriminate the different types of chromatophoromas. Whenever possible, complete surgical excision is the treatment of choice. Due to the distinct malignancy and tendency to metastasize, the prognosis of cutaneous chromatophoromas in reptiles is generally guarded. Consequently, an early and correct diagnosis of these neoplastic disorders in reptiles is vital. This article provides an overview of the current knowledge regarding the occurrence, the performance, the pathogenesis and the diagnostic and therapeutic approach of chromatophoromas in reptiles with emphasis on melano- and iridophoromas.

INLEIDING

Een pigmentcel wordt gedefinieerd als een cel die zowel chromofore substanties en structuren als cellijnspecifieke, niet-gepigmenteerde precursoren bezit (Schartl et al., 2016). Bij vertebraten, andere dan zoogdieren en vogels die voornamelijk melanocyten bezitten, komen er verschillende types pigmentcellen voor en wordt de voorkeur gegeven aan de term chromatofoor (Hadley en Goldman, 1969; Schartl et al., 2016).

In de dermis van reptielen kunnen vier verschillende types pigmentcellen of chromatoforen voorkomen; melanoforen (melanine-producerende cellen), xantoforen (carotenoïd-producerende cellen), erythroforen (pteridine-producerende cellen) en iridoforen (kristallijn purine-producerende cellen die reflecterende granulen bevatten bestaande uit guanine, adenine, hypoxanthine of urinezuur) (Bagnara et al., 1968; 1979; Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Deze cellen ontstaan net als de melanocyten bij zoogdieren in de neurale lijst van het embryo (Hadley en

Goldman, 1969; Bagnara et al., 1979; Teyssier et al., 2015; Scharl et al., 2016).

Afhankelijk van de species stellen chromatoforen reptielen in staat om in meer of mindere mate van kleur te veranderen door de distributie van pigment in de dermis te herschikken (Hadley en Goldman, 1969; Vitt en Caldwell, 2001; Aspengren et al., 2008; Teyssier et al., 2015; Scharl et al., 2016). Voornamelijk bij reptielensoorten die opvallende kleurschakeringen of kleurveranderingen kunnen ondergaan, wordt er een uitgesproken organisatie van chromatoforen in verschillende lagen ter hoogte van de dermis gezien. Vlak onder de basaalmembraan van de epidermis bevindt zich bij deze soorten een enkelvoudige laag xantoforen en erytroforen. In de diepere lagen van de dermis worden er iridoforen en melanoforen aangetroffen. Melanoforen bezitten dendritische uitlopers die tussen en over de andere chromatoforen verlopen. Naargelang de mate van dispersie van melanine in de melanoforen komen deze chromatoforen al dan niet tot uiting, met variatie van de huidskleur van reptielen als resultaat (Vitt en Caldwell, 2001).

Het vermogen om van kleur te veranderen bij reptielen wordt hoofdzakelijk beïnvloed door het centrale zenuwstelsel en hormonale stimuli als respons op temperatuurverschillen, maar kan eveneens willekeurig gereguleerd worden tijdens territoriale, sociale en reproductieve interacties (Ligon en McGraw, 2013; Teyssier et al., 2015). Bij verschillende reptielensoorten speelt de capaciteit om kleurveranderingen te ondergaan een essentiële rol bij camouflage. Voornamelijk van verscheidene soorten kameleons (*Chamaeleo* spp.) is bekend dat ze snelle en complexe kleurveranderingen kunnen ondergaan (Ligon en McGraw, 2013; Teyssier et al., 2015; Scharl et al., 2016). Teyssier et al. (2015) toonden aan dat kameleons twee lagen iridoforen bezitten met elk een verschillende morfologie en functie. De oppervlakkige laag is verantwoordelijk voor de snelle, structurele kleurverandering in functie van camouflage en paargedrag terwijl de dieper gelegen iridoforen een rol spelen in de regulatie van de lichaamstemperatuur.

Melanine bevattende cellen worden melanocyten genoemd en worden gekarakteriseerd door de aanwezigheid van eumelanine, feomelanine of een combinatie van beide pigmenten. Het melanine wordt opgeslagen in melanosomen (Hadley en Goldman, 1969; Scharl et al., 2016). Reptielen beschikken in hun dermis tevens over melanocyten met motiele melanosomen die zich zowel actief doorheen het cytoplasma kunnen verspreiden als zich perinucleair kunnen concentreren. Dit stemt overeen met het respectievelijk donkerder en lichter worden van de cellen en bijgevolg van de huid. Deze subcategorie van melanocyten worden melanoforen genoemd (Vitt en Caldwell, 2001; Aspengren et al., 2008; Scharl et al., 2016).

Pigmentcellen die geen melanine bevatten, worden onderverdeeld in reflecterende en absorberende pigmentcellen. Er zijn twee types reflecterende pig-

mentcellen, namelijk iridoforen en leukoforen. Deze kunnen van elkaar onderscheiden worden door de celvorm en hun vermogen tot aggregatie of verstrooiing van hun reflecterende organellen, wat uiteindelijk resulteert in de verschillende kleurschakeringen die ze genereren. Iridoforen bezitten intracytoplasmatische partikels die licht refracteren en reflecteren, waardoor deze cellen in staat zijn om blauwe, witte en ultraviolette kleurtinten te genereren wanneer ze belicht worden, terwijl via leukoforen een verbleking van de huidkleuren verkregen wordt (Bagnara et al., 1968; 1979; Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015; Teyssier et al., 2015; Scharl et al., 2016). Lichtabsorberende pigmentcellen worden onderverdeeld in xantoforen, erytroforen en cyanoforen die respectievelijk geel, rood en blauw kleuren. Cyanoforen en leukoforen zouden niet voorkomen bij reptielen (Hadley en Goldman, 1969; Aspengren et al., 2008; Scharl et al., 2016).

Neoplasieën van chromatoforen worden met een gemeenschappelijke term benoemd als chromatoforoma's en werden reeds beschreven bij vissen, reptielen en amfibieën (Schmidt-Posthaus et al., 2005; Camus et al., 2011; Martínez-Silvestre et al., 2011; Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016; Scharl et al., 2016; Singaravel et al., 2016). In tegenstelling tot wat oorspronkelijk verondersteld werd, blijken chromatoforoma's relatief vaak voor te komen bij in gevangenschap gehouden reptielen, in het bijzonder bij dagactieve soorten die blootgesteld worden aan artificieel ultraviolet (UV) licht (Heckers et al., 2012; Heckers en Aupperle, 2014; Bielli et al., 2015; Lewis et al., 2015; Rivera et al., 2015). Chromatoforoma's bij reptielen worden verder geclassificeerd als melanoforoma's, xantoforoma's, erytroforoma's en iridoforoma's (Bagnara et al., 1968; 1979; Gregory et al., 1997; Heckers et al., 2012; Lewis et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Sommige chromatoforoma's die gedocumenteerd werden bij reptielen, bevatten meerdere types pigmentcellen en worden aangeduid als gemengde chromatoforoma's (Ryan et al., 1981; Gregory et al., 1997; Suedmeyer et al., 2007; Heckers et al., 2012; Lewis et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

Het doel van dit artikel is een praktisch overzicht te geven van de huidige kennis van chromatoforoma's bij reptielen met bijzondere aandacht voor de diagnostiek en behandeling.

VOORKOMEN VAN CHROMATOFOROMA'S BIJ REPTIELEN

Melanoforoma's en iridoforoma's komen bij reptielen vaker voor dan xantoforoma's en erytroforoma's (Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Melanoforoma's worden het vaakst beschreven bij slangen en hagedissen (Garner et al., 2004; Heckers et al., 2012; Bielli et al., 2015; Rivera et al.,

2015; Thompson et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Bij schildpadden worden chromatoforoma's zelden gerapporteerd en bij krokodilachtigen werden ze nog niet beschreven (Heckers et al., 2011; Bielli et al., 2015). Vooral bij dagactieve soorten, zoals baardagamen (*Pogona vitticeps*) lijken melanoforoma's vaak voor te komen (Heckers et al., 2012; Heckers en Aupperle, 2014).

Melanoforoma's bij reptielen zijn hoofdzakelijk tumoren van het integument en komen voornamelijk voor ter hoogte van de kop, coeloomholte, staart en poten (Garner et al., 2004; Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016) (Figuur 1). Orale melanoforoma's worden eveneens beschreven bij reptielen maar worden slechts sporadisch gerapporteerd (Heckers et al., 2012; Thompson et al., 2015).

Melanoforoma's bij reptielen worden algemeen beschouwd als zeer maligne neoplasieën die frequent metastaseren naar de nieren, lever, longen, darmen, coelomale vetlichamen, maag en het hart (Elkan, 1974; Garner et al., 2004; Sykes en Trupkiewicz, 2006; Heckers et al., 2012; Thompson et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

Iridoforoma's werden tot op heden voornamelijk beschreven bij hagedissen terwijl ze bij andere reptielen weinig of niet gerapporteerd worden (Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015; Lewis et al., 2015). Hoewel de meerderheid van iridoforoma's als benigne wordt beschouwd, werden maligne vormen met metastasen reeds beschreven bij onder andere baardagamen (*P. vitticeps*), een dwergbaardagame (*P. henrylawsoni*), een jemenkameleon (*Chamaeleo calyptratus*) en een steppevaraan (*Varanus exanthematicus*) (Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015; Lewis et al., 2015).

Vanwege de beperkte literatuurgegevens omtrent xantoforoma's en erythroforoma's bij reptielen zal de macroscopische en microscopische beschrijving zich beperken tot de twee meest voorkomende types chromatoforoma's, namelijk melanoforoma's en iridoforoma's.



Figuur 1. Unilaterale opzetting van de oogleden bij een groene leguaan (*Iguana iguana*) ten gevolge van de aanwezigheid van een cutaan hypomelanotisch melanoforoma.

PATHOGENESE

Het voorzien van een adequate UV-belichting speelt een cruciale rol in het management van in gevangenschap gehouden reptielen (Wilkinson, 2015; Judah en Nuttall, 2016). Zowel de kwaliteit als de intensiteit van het UV-licht heeft een belangrijke invloed op de gezondheid van deze dieren. Voornamelijk UVB-straling (golflengte: 280-320 nm) is belangrijk bij de synthese van vitamine D₃ die op haar beurt van belang is voor de calciumhuishouding. Wanneer de UV-belichting bij in gevangenschap gehouden reptielen inadequaat is, leidt dit dikwijls tot het optreden van vitamine D-deficiëntie met als gevolg het ontwikkelen van nutritionele secundaire hyperparathyroïdie (Hoppmann en Barron, 2007; Hellebuyck et al., 2012; Wilkinson, 2015; Judah en Nuttall, 2016). In een retrospectieve studie van Heckers en Aupperle (2014) werd echter gesuggereerd dat er een correlatie bestaat tussen de ontwikkeling van chromatoforoma's bij reptielen en artificiële UV-belichting. In de humane geneeskunde is er een ontegensprekelijk causaal verband aangetoond tussen het voorkomen van cutaan melanoom en het frequente gebruik van solaria (Boniol et al., 2012). Tot op heden ontbreken gerichte studies echter die de rol van artificieel UV-licht in de pathogenese van melanoforoma's bij reptielen bevestigen.

Chromatoforoma's recidiveren vaak na chirurgische excisie, vermoedelijk als gevolg van de invasieve groei in de verschillende huidlagen en omliggende weefsels die een volledige chirurgische verwijdering vaak bemoeilijkt (Garner et al., 2004; Suedmeyer et al., 2007; Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015). De aanwezigheid van lymfatische en/of vasculaire invasie en de aanwezigheid van metastasen worden bovendien vaak vastgesteld en vormen de meest betrouwbare indicatoren voor maligniteit van chromatoforoma's bij reptielen, gevolgd door een mitotische index van twee of meer mitosen per "high power field" (HPF), een uitgesproken cellulair pleomorfisme en



Figuur 2. Diffuus cutaan melanoforoma ter hoogte van de dorsale zijde van de staart bij een baardagame (*Pogona vitticeps*).



Figuur 3. Mucineus melanoforoma ter hoogte van de axillaire regio bij een baardagame (*Pogona vitticeps*).



Figuur 4. Cutaan iridoforoma ter hoogte van de dorsale middellijn bij een masobe gekko (*Paroedura masobe*).

een toegenomen aantal nucleoli (Heckers et al., 2012; Bielli et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

DIAGNOSE

Klinische presentatie en macroscopisch uitzicht

Melanoforoma's bij reptielen variëren gewoonlijk in grootte en kunnen afmetingen bereiken tot een paar centimeter in diameter. Macroscopisch manifesteren melanoforoma's zich meestal als een focale huidverdickening, al dan niet in combinatie met ulceratie of zwartverkleuring van de epidermis. Het zijn over het algemeen ronde, goed afgelijnde, subcutane massa's die dikwijls beweeglijk zijn bij palpatie (Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Melanoforoma's bij reptielen zijn vaak solitaire tumoren die een invasieve groei vertonen, maar multicentrische vormen werden eveneens beschreven (Garner et al., 2004; Suedmeyer et al., 2007; Strunk et al., 2009; Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Melanoforoma's kunnen zich ook presenteren als diffuse donkere plaques, die eveneens een multipel of multicentrisch voorkomen kunnen vertonen (Figuur 2) (Elkan, 1974; Leach et al., 1991; Irrizarry-Rovira et al., 2006; Suedmeyer et al., 2007; Simpson, 2008; Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

Melanoforoma's bij reptielen worden gekenmerkt door een zeer variabele graad van pigmentatie. Over het algemeen hebben klassieke melanoforoma's een donkerder uitzicht dan iridoforoma's (Garner et al., 2004; Irizarry-Rovira et al., 2006; Heckers et al., 2012; Bielli et al., 2015). Hypo- en amelanotische melanoforoma's worden gekenmerkt door een sterk variabele pigmentatie en kunnen zich presenteren als geel of roze gekleurde massa's (Strunk et al., 2009; Thompson et al., 2015). Het snijvlak van melanoforoma's na fixatie is meestal wit, grijs, zwart of een combinatie van zwart en wit. Mucineuze melanoforoma's worden onderscheiden door hun gelatineuze consistentie. Dit type melanoforoma zou minder fre-

quent metastaseren (Heckers et al., 2012; Bielli et al., 2015) (Figuur 3).

Iridoforoma's bij reptielen presenteren zich over het algemeen als ronde tot ovale, solitaire, witte, intradermale nodulen, die goed afgelijnd en stevig van consistentie zijn (Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015; Lewis et al., 2015) (Figuur 4). Multicentrische vormen van iridoforoma's ter hoogte van de huid en de mondholte werden beschreven bij een jemenkameleon (*C. calyptratus*) en een dwergbaardagame (*P. henrylawsoni*) (Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015). Ulceratie van de bovenliggende epidermis kwam voor bij een baardagame met een iridoforoma ter hoogte van het ventrale aspect van de staart (Heckers et al., 2012). De grootte van iridoforoma's bij reptielen varieert van minder dan een centimeter tot een paar centimeter in diameter (Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015). Lewis et al. (2015) beschreven een gemengd iridoforoma en xantoforoma bij een zesjarige jemenkameleon met metastasering van neoplastische xantoforen. De primaire tumor was gelokaliseerd ter hoogte van de rechtermandibula en had in tegenstelling tot andere iridoforoma's een gele kleur.

Cytologie

Cytologie van fijneaspiraten afkomstig van chromatoforoma's is een bruikbare diagnostische techniek om de waarschijnlijkheidsdiagnose van deze neoplastische aandoeningen bij reptielen vast te stellen. Cytologische bevindingen die consistent zijn met chromatoforoma's zijn onder andere individuele cellen of aggregaten van spoel- tot stervormige mononucleaire cellen, ronde tot ovale nuclei met fijnkorrelig tot vezelig chromatine, onduidelijk afgelijnde celwanden en een variabele hoeveelheid extra- en intracellulaire pigmentgranulen (Irizarry-Rovira et al., 2006; Simpson, 2008; Heckers et al., 2012; Bielli et al., 2015; Lewis et al., 2015; Rivera et al., 2015).

Om een definitieve diagnose van chromatoforoma's te bekomen en de verschillende types te differentiëren dient er gebruik gemaakt te worden van

histologisch onderzoek, al dan niet in combinatie met immunohistochemie en elektronenmicroscopie.

Histologie

De definitieve diagnose van de meeste cutane neoplasieën bij reptielen wordt gesteld door middel van histologisch onderzoek. Bovendien kan via histologie worden aangetoond of de randen van een biop of een geëxciseerde tumor vrij zijn van tumorcellen (Mauldin en Done, 2006).

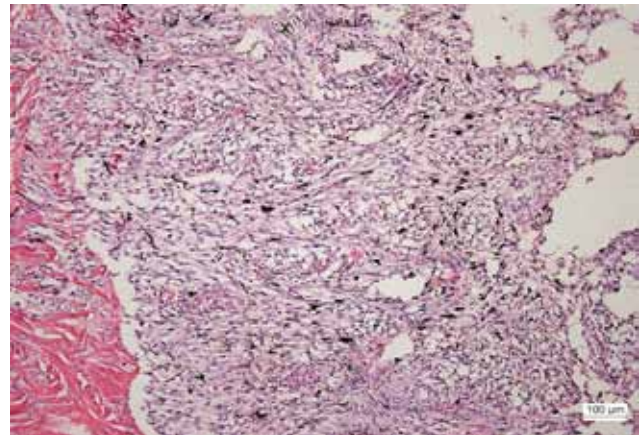
Melanoforoma's bij reptielen worden histologisch gekenmerkt door spoel- tot stervormige of polyhedrale cellen met een centraal gelegen ronde tot ovale kern en een matige hoeveelheid eosinofiel cytoplasma. De cellen hebben een sterk variabele graad van pigmentatie en er is een milde tot matige anisokaryose en anisocytose (Figuur 5 en 6). De mitose-index varieert gemiddeld van 0 tot 2 of meer mitosen per "high power field" (40x) (HPF). De tumoren vertonen dikwijls een infiltratieve groei naar de dieper gelegen dermis en subcutis toe. De microscopische kenmerken van de viscerale metastasen komen overeen met wat beschreven is voor cutane melanoforoma's (Irizarry-Rovira et al., 2006; Simpson, 2008; Heckers et al., 2012; Heckers en Aupperle, 2014; Bielli et al., 2015; Thompson et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

Bij a- en hypomelanotische melanoforoma's is het meest kenmerkende onderscheid respectievelijk een volledige afwezigheid en beperkte aanwezigheid van melaninekorrels in vergelijking met het klassieke melanoforoma (Thompson et al., 2015). Mucineuze melanoforoma's onderscheiden zich door de aanwezigheid van een basofiele "periodic acid-Schiff" (PAS)-positieve, mucineuze interstitiële matrix (Heckers et al., 2012; Bielli et al., 2015) (Figuur 7).

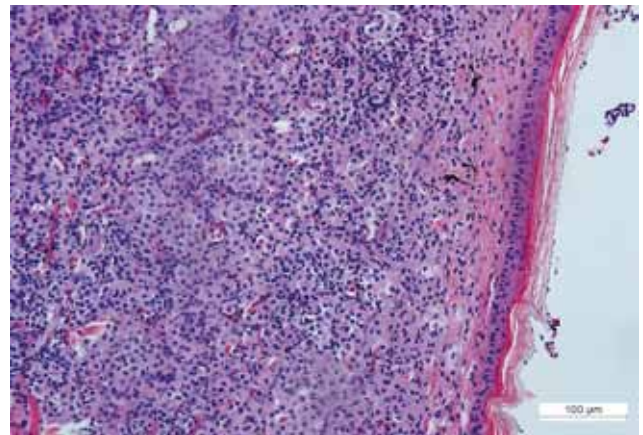
Iridoforoma's worden histologisch gekarakteriseerd door spoelvormige cellen die typisch olijfgroene tot bruine, intracytoplasmatische pigmentgranulen bevatten. Er is een mild tot matig pleomorfisme en de mitotische index varieert gemiddeld van 0 tot 2 mitosen per HPF. Iridoforoma's onderscheiden zich histologisch van andere chromatoforoma's door de aanwezigheid van dubbelbrekende intracytoplasmatische granulen die zichtbaar worden met behulp van gepolariseerd licht (Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015; Lewis et al., 2015).

Immunohistochemie

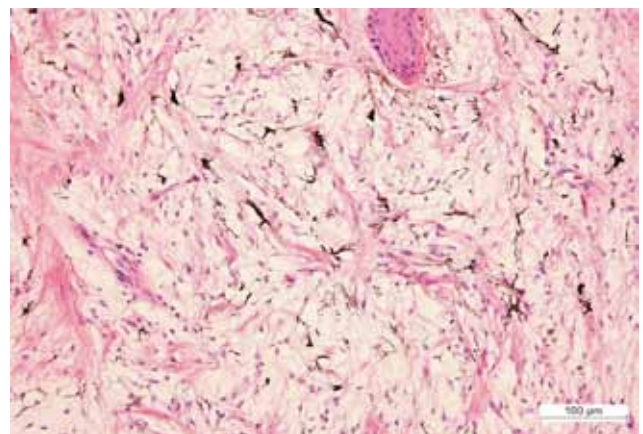
Bij zoogdieren wordt courant gebruik gemaakt van immunohistochemische merkers zoals Melan-A voor de diagnose van melanocytische tumoren en het gebruik van deze merker werd eveneens geëvalueerd om melanoforoma's en iridoforoma's afkomstig van reptielen te identificeren (Irizarry-Rovira et al., 2006; Heckers et al., 2011; Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015; Lewis et al., 2015; Thompson et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Vermits aangenomen wordt dat de verschillende chromatoforen afstam-



Figuur 5. Histologisch overzichtsbeeld van een melanoforoma bij een baardagame (*Pogona vitticeps*). De massa bestaat uit spoel- tot stervormige cellen met een centraal gelegen, ronde tot ovale kern en een matige hoeveelheid eosinofiel cytoplasma. Bemerkt de opvallende aanwezigheid van pigment. Huid, hematoxylineosine (HE)-kleuring.



Figuur 6. Histologisch overzichtsbeeld van een hypomelanotisch melanoforoma bij een groene leguaan (*Iguana iguana*). De massa bestaat uit spoelvormige cellen met een centraal gelegen, ronde tot ovale kern en variabele pigmentatie. Er is een matige anisokaryose en anisocytose. Huid, HE-kleuring.



Figuur 7. Histologische opname van een mucineus melanoforoma bij een baardagame (*Pogona vitticeps*). Bemerkt de aanwezigheid van de mucineuze, interstitiële matrix. Huid, HE-kleuring.

men van een gemeenschappelijke cel van oorsprong, wordt gesuggereerd dat melan-A-expressie aanwezig zou zijn bij de verschillende subtypes van chromatoforoma's bij reptielen (Bagnara et al., 1979; Irizarry-Rovira et al., 2006; Heckers et al., 2012; Lewis et al., 2015). Melan-A-immunoreactiviteit kan vooral nuttig zijn bij het differentiëren van amelanotische melanoforoma's ten opzichte van andere sarcoma's die bij reptielen kunnen aangetroffen worden (Heckers et al., 2012). Thompson et al. (2015) beschreven een oraal amelanotisch melanoforoma bij een boa constrictor (*Boa constrictor constrictor*) dat gekarakteriseerd werd door een volledige afwezigheid van melaninekorrels. Dit subtype werd gediagnosticeerd door middel van histologisch onderzoek en een positieve melan-A-immunohistochemie.

S-100 is een van de meest sensitieve immunohistochemische merkers voor melanocytair tumoren bij de mens. Eiwitten behorende tot de S-100-proteïnefamilie zijn onder normale omstandigheden aanwezig in cellen afkomstig van de neurale lijst, zoals melanocyten. S-100 blijkt echter niet altijd aanwezig te zijn in melanoforoma's bij reptielen. Bovendien komt S-100 soms ook tot expressie in andere neoplasieën bij reptielen, zoals fibrosarcoma's, myxoma's en myxosarcoma's (Heckers et al., 2012; Thompson et al., 2015).

Andere merkers die gebruikt worden voor de immunohistochemische identificatie van melanocytische neoplasieën bij de mens zijn PNL-2 en HMB-45. Beide merkers werden aangewend voor de diagnose van chromatoforoma's bij slangen met variabele resultaten (Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

Elektronenmicroscopie

Iridoforen worden elektronenmicroscopisch gekarakteriseerd door intracytoplasmatische reflecterende plaatjes die dicht opeen gestapeld zijn. Deze plaatjes worden echter door de meeste routinekleuringen voor elektronenmicroscopie gelyseerd, waardoor ze eerder als onregelmatige en ellipsvormige artefacten zichtbaar zijn (Heckers et al., 2012; de Brot et al., 2015; Lewis et al., 2015).

Xantoforen en erytrogenen worden elektronenmicroscopisch gekenmerkt door de aanwezigheid van pterinosomen. Dit zijn karakteristieke gelamelleerde pigmentorganellen omgeven door een drielaagige buitenste membraan met cytoplasmatische druppels die de ruimte tussen deze pterinosomen opvullen (Bagnara et al., 1979; Gregory et al., 1997; Lewis et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

BEHANDELING

Chirurgie

Een volledige chirurgische excisie wordt beschouwd als de voorkeursbehandeling voor cutane chromato-

foroma's bij reptielen en kan in sommige gevallen curatief zijn. Voornamelijk ten gevolge van de invasieve groei die een volledige excisie in vele gevallen onmogelijk maakt, wordt het optreden van recidieven echter vaak beschreven (Hernandez-Divers en Garner, 2003; Mauldin en Done, 2006; Suedmeyer et al., 2007; Heckers, 2012; Rivera et al., 2015; Thompson et al., 2015).

Lasertherapie

Lasertherapie wordt reeds gebruikt voor de behandeling van cutaan melanoom bij de mens en voor verschillende chirurgische procedures bij reptielen (Strobbe et al., 1997; Hernandez-Divers, 2002; Mauldin en Done, 2006). Lasertherapie als behandeling van chromatoforoma's bij reptielen werd echter nog niet gedocumenteerd. De meest gebruikte chirurgische lasers bij reptielen zijn de koolstofdioxide (CO₂)- en diodelasers (Hernandez-Divers, 2002; Johnson, 2003; Mauldin en Done, 2006; Raiti, 2008). Multipele, cutane papilloma's werden reeds succesvol verwijderd bij een bijtschildpad (*Chelydra serpentina serpentina*) door middel van CO₂-lasertherapie (Raiti, 2008). Het gebruik van lasertherapie heeft als voordeel dat het weefsel heel nauwkeurig gedissecteed kan worden met minimale beschadiging van het aangrenzend gezond weefsel. De variabele pigmentatie en keratinisatie van de huid bij reptielen kunnen het gebruik van lasertherapie echter bemoeilijken (Hernandez-Divers, 2002; Mauldin en Done, 2006). Het gebruik van lasertherapie vergt een gespecialiseerd instrumentarium en wordt steeds voorafgegaan door een definitieve diagnose bekomen door biopsie. Lasertherapie gaat immers gepaard met een aanzienlijke verstoring van de weefselarchitectuur van het verwijderde weefsel en wordt dus niet geschikt geacht voor het nemen van histologische weefselbiopten (Hernandez-Divers, 2002; Mauldin en Done, 2006). Daarentegen zou CO₂-lasertherapie in staat zijn bacteriën en tumorcellen in het operatieveld te vernietigen. Bovendien worden lymfevaten en zenuwuiteinden dichtgeschroeid, waardoor postoperatieve zwelling en pijn verminderen (Raiti, 2008).

Radiatietherapie

Radiatietherapie wordt reeds succesvol aangewend in de behandeling van gelokaliseerde tumoren bij dieren en mensen (Graham et al., 2004; Bergman et al., 2013). Over het gebruik van radiatietherapie bij reptielen is echter nog weinig bekend (Leach et al., 1991; Graham et al., 2004; Mauldin en Done, 2006; Strunk et al., 2009). Op basis van een beperkt aantal studies zouden reptielen deze vorm van therapie over het algemeen echter goed tolereren met een minimum aan bijwerkingen (Mauldin en Done, 2006). De behandeling van een maligne chromatoforoma met radiatietherapie na chirurgische excisie werd reeds

beschreven bij een kippen slang (*Spilotes pullatus*) (Leach et al., 1991). Lokale zwartverkleuring van de schubben ter hoogte van het bestraalde gebied werd waargenomen als complicatie van deze behandeling. Verder vertoonde de slang perioden van anorexie en prikkelbaarheid gedurende de radiatietherapie. De slang overleed tien maanden na het starten van de radiatietherapie. Strunk et al. (2009) beschreven het gebruik van radiatietherapie ter behandeling van een maligne chromatoforoma bij een baardagame. De agame overleed nog voor er een tweede behandeling kon uitgevoerd worden.

Alhoewel verder onderzoek nodig is met betrekking tot de therapeutische waarde ter behandeling van chromatoforoma's bij reptielen kan radiatietherapie overwogen worden als monotherapie maar kan het eveneens gecombineerd worden met chirurgie of chemotherapie om tot een optimaal behandelingsplan te komen (Leach et al., 1991; Graham et al., 2004).

Chemotherapie

Hoewel nog weinig bekend is over het gebruik van chemotherapeutica bij reptielen, zouden verschillende klassen van antineoplastische stoffen veilig zijn voor het gebruik bij reptielen (Graham et al., 2004; Kent, 2004). Een voorbeeld hiervan is intralesionale chemotherapie met cisplatine en carboplatine (Graham et al., 2004; Kent, 2004; Mauldin en Done, 2006). De meeste systemische chemotherapeutica zijn zowel immuno- als myelosuppressief, hetgeen kan resulteren in opportunistische infecties en ziekte (Graham et al., 2004; Mauldin en Done, 2006). Chemotherapie ter behandeling van chromatoforoma's bij reptielen werd nog niet beschreven.

STAGERING EN PROGNOSE

Algemeen geldt dat multicentrische, neoplastische aandoeningen en neoplasieën met een hoog metastatisch potentieel een systemische behandeling vergen. Daarentegen volstaat een vorm van lokale therapie vaak in geval van gelokaliseerde tumoren (Graham et al., 2004; Mauldin en Done, 2006). Vermits chromatoforoma's bij reptielen frequent gepaard gaan met uitgebreide metastasen, is lokale behandeling dikwijls ontoereikend om volledige remissie van chromatoforoma's bij reptielen te bekomen (Leach et al., 1991; Suedmeyer et al., 2007; Simpson, 2008; Strunk et al., 2009; Heckers et al., 2012).

Nadat een definitieve diagnose van een chromatoforoma bij een reptiel is gesteld, is het belangrijk om de patiënt te stageren door de invasiviteit van het neoplastisch proces te beoordelen. Het stageren van neoplastische aandoeningen bij reptielen gebeurt door middel van aanvullende onderzoeken, zoals radiografie, echografie, computertomografie, magnetische resonantiebeeldvorming en een uitgebreid hematolo-

gisch en biochemisch bloedonderzoek (Graham et al., 2004; Mauldin en Done, 2006). Op deze manier worden de omvang en invasiviteit van de tumor bepaald en wordt er getracht de aanwezigheid van eventuele metastasen aan te tonen of uit te sluiten. Aan de hand van de verkregen informatie kan er een prognose bepaald worden en een optimaal behandelingsplan opgesteld worden (Mauldin en Done, 2006).

Grootschalige studies die het belang van staging van neoplastische aandoeningen bij reptielen aantonen, ontbreken voorlopig.

DISCUSSIE

Dermatologische aandoeningen worden frequent gediagnosticeerd bij in gevangenschap gehouden reptielen. De hoge visibiliteit van cutane processen zal er ongetwijfeld toe bijdragen dat reptielen met deze aandoeningen sneller aangeboden worden in de praktijk en sneller opgemerkt worden tijdens routinematig uitgevoerd klinisch onderzoek (Hellebuyck et al., 2012). Chromatoforoma's en voornamelijk melanoforoma's dienen vanwege hun uitgesproken maligne karakter steeds gedifferentieerd te worden van andere dermatologische aandoeningen en tumoren van het integument bij reptielen. Cutane chromatoforoma's presenteren zich niet enkel als nodulaire massa's maar kunnen zich eveneens manifesteren als een diffuse infiltratie van de huid (Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016) (Figuur 2).

Op basis van de beschikbare overzichtsstudies en casestudies naar chromatoforoma's bij reptielen kan men afleiden dat melanoforoma's het vaakst voorkomen, gevolgd door iridoforoma's en gemengde chromatoforoma's (Elkan, 1974; Ryan et al., 1981; Leach et al., 1991; Irrizary-Rovira et al., 2006; Suedmeyer et al., 2007; Simpson, 2008; Strunk et al., 2009; Heckers et al., 2012; Bielli et al., 2015; de Brot et al., 2015; Lewis et al., 2015; Rivera et al., 2015; Thompson et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Er bestaat momenteel geen eenduidige verklaring voor de ogenschijnlijk hogere relatieve prevalentie van melanoforoma's dan van de andere chromatoforoma's bij reptielen. Er zou geen duidelijke geslachtspredilectie zijn en de gemiddelde leeftijd waarop chromatoforoma's gediagnosticeerd worden bij reptielen varieert sterk (Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Baardagamen en kousenbandslangen (*Thamnophis* sp.) lijken echter wel een speciespredispositie te vertonen voor wat betreft het ontwikkelen van chromatoforoma's (Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Sommige reptielensoorten, zoals baardagamen, worden op dit ogenblik echter proportioneel meer gehouden als huisdier hetgeen een vertekend beeld kan geven omtrent het bestaan van deze speciespredispositie.

De relatieve prevalentie van melanoforoma's bij reptielen lijkt lager te zijn dan de prevalentie van me-

lanocytische neoplasieën bij de klassieke huisdieren en de mens (Smith et al., 2002; Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Ongeacht de diersoort gaat de diagnose van melanocytische tumoren en andere pigmentceltumoren echter dikwijls gepaard met een gereserveerde prognose. Over het algemeen wordt de aandoening pas in een laattijdig stadium opgemerkt, waardoor chirurgische excisie zelden nog mogelijk is en metastasen dikwijls reeds aanwezig zijn bij initiële presentatie (Smith et al., 2002; Boniol et al., 2012; Orzan et al., 2015).

Bij de mens bestaat er een ondubbelzinnig causaal verband tussen de blootstelling aan zonlicht en het ontwikkelen van cutaan melanoom. De omvorming van melanocyten tot maligne melanoom zou het gevolg zijn van een complexe interactie tussen genetische factoren en het UV-spectrum van zonlicht (Jhappan et al., 2003; Boniol et al., 2012; Pfeifer en Besaratinia, 2012; Orzan et al., 2015). Epidemiologische studies suggereren dat een voorgeschiedenis van zonnebrand en een intermitterende blootstelling aan intens zonlicht, vooral tijdens de kindertijd en vroege adolescentie, predisponert tot de ontwikkeling van cutaan melanoom (Smith et al., 2002; Jhappan et al., 2003; Pfeifer et al., 2005; Boniol et al., 2012). Zo zou het gebruik van solaria geassocieerd zijn met een verdubbeling van het risico op cutaan melanoom bij de mens. Dit risico is positief gecorreleerd met het aantal zonnebanksessies en met een jonge leeftijd bij het initiële gebruik van solaria (Boniol et al., 2012). Er wordt aangenomen dat UVB-straling, de veroorzaker van zonnebrand, de hoogste carcinogene invloed heeft en overmatige blootstelling predisponert tot de ontwikkeling van niet-melanome huidkanker zoals basaal (BCC) en squameus celcarcinoom (SCC) (Pfeifer en Besaratinia, 2012). De ontwikkeling van SCC zou hoofdzakelijk gecorreleerd zijn met een cumulatieve blootstelling aan zonlicht terwijl BCC eerder geassocieerd wordt met een intense intermitterende blootstelling aan zonlicht (Lear en Smith, 1997; Rubin et al., 2005).

Bij reptielen wordt een causaal verband tussen de blootstelling aan artificieel UVB-licht en de ontwikkeling van chromatoforoma's, SCC en BCC bij reptielen, hetzij als uitlokkende factor, hetzij als faciliterende factor, eveneens gesuggereerd (Hannon et al., 2011; Heckers et al., 2012; Heckers en Aupperle, 2014; Hellebuyck et al., 2016). Enerzijds kunnen de relatieve hoeveelheid en intensiteit van het UV-licht te hoog zijn per oppervlakte-eenheid of is de afstand tussen de UV-bron en het dier te beperkt. Anderzijds kan een overmatige blootstelling aan artificieel zonlicht voorkomen bij in gevangenschap gehouden reptielen indien deze niet voldoende de kans krijgen om te schuilen (Adkins et al., 2003; Watson en Mitchell, 2014). Niettemin komen chromatoforoma's eveneens voor bij schemer- en nachtactieve reptielensoorten en ter hoogte van anatomische lokalisaties die weinig of niet blootgesteld worden aan UV-licht (Heckers et al.,

2012; Heckers en Aupperle, 2014; Bielli et al., 2015; Rivera et al., 2015; Thompson et al., 2015; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016) (Figuur 3). Aangezien het gebruik van artificieel UV-licht bij in gevangenschap gehouden reptielen meestal noodzakelijk is, zal verder onderzoek moeten uitwijzen of bepaalde vormen van artificieel UV-belichting een rol spelen in de pathogenese van chromatoforoma's en andere neoplasieën van het integument bij reptielen in gevangenschap.

Hoewel de voorziening van artificieel UV-belichting als essentieel beschouwd wordt bij het succesvol management van reptielen in gevangenschap, blijft optimale belichting sterk afhankelijk van het gebruikte type UV-bron en vormt het perfect afstemmen van de belichting op de specifieke noden van de betrokken reptielensoort een uitdaging (Adkins et al., 2003; Barten en Fleming, 2013; Watson en Mitchell, 2014; Wilkinson, 2015). Baines et al. (2016) stelden voor om op basis van het natuurlijke gedrag op het gebied van zonnebaden, dat naargelang de reptielensoort varieert, een zogenaamde fergusonzone aan de reptielen toe te kennen. Deze speciesspecifieke zones komen aldus overeen met een bepaalde UVB-range, gebaseerd op UV-indexmetingen in de natuur en kunnen, tenminste voor de soorten waarvoor ze beschreven werden, gehanteerd worden als referentie voor wat betreft de UVB-voorziening van reptielen in gevangenschap.

De keuze van een bepaald type UV-bron dient afgestemd te worden op de natuurlijke noden van de betrokken soort. De UVB-output van een lamp kan gemeten worden met behulp van een UVB-meter of UV-indexmeter (UVI) die het vermogen respectievelijk in $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ of UVI-eenheden uitdrukt. Indien de UVB-metingen uitgevoerd worden op verschillende afstanden ten opzichte van de UV-bron kan men de effectieve range van een bepaalde lamp berekenen (Barten en Fleming, 2013). Voor baardagamen (*Pogona* spp.) blijkt een UV-B range van 30-150 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ het meest geschikt; occasioneel zoeken ze een range op van 200-300 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$. Voor kameleons (*Chamaeleo* spp.) wordt een UVB-range van 15-33 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ gedurende twaalf uur per dag aanbevolen (Barten en Fleming, 2013; Baines et al., 2016). De conventioneel aanbevolen afstand tussen UV-bron en het dier bedraagt gemiddeld dertig centimeter. Voor de meeste commercieel beschikbare UVB-lampen worden specifieke minimum- en maximumafstanden aanbevolen door de producent. Bij het meten van de ideale afstand van de UV-bron ten opzichte van het dier moet er uiteraard rekening gehouden worden met de grootte van het dier (Adkins et al., 2003; Barten en Fleming, 2013). De lampen worden het beste verticaal gepositioneerd, aangezien UV-geïnduceerde fotodermatitis en keratoconjunctivitis gerapporteerd werden bij reptielen in gevangenschap ten gevolge van inadequate UV-belichting (Gardiner et al., 2009). Ongeacht de huidige mogelijkheden van de artificieel UV-voorziening bij reptielen in gevangenschap blijft het voorzien van natuurlijk zonlicht via buitenhuisvesting het meest

aangewezen. De betrokken reptielensoort en het klimaat blijven hierbij beperkende factoren. Zelfs in geval van tijdelijke of permanente mogelijkheid tot buitenhuisvesting dienen er steeds schaduwzones en/of schuilplaatsen voorzien te worden om oververhitting en overmatige blootstelling aan UV-licht te beperken (Adkins et al., 2003; Barten en Fleming, 2013).

Heckers et al. (2012) beschreven verschillende, goed gedifferentieerde chromatoforoma's met viscerale metastasen bij reptielen. Het waarnemen van cellulaire atypie bij histologisch onderzoek wordt daarom als een onbetrouwbare indicator voor maligniteit van chromatoforoma's bij reptielen beschouwd, dit in tegenstelling tot melanoma's bij de hond (Smith et al., 2002; Spangler en Kass, 2006; Bergman et al., 2013). Hoewel de mitotische index van chromatoforoma's bij reptielen enorm kan variëren, wordt in een overzichtsstudie van Heckers et al. (2012) een mitotische index van 2 of meer per HPF als een mogelijke prognostische indicator beschouwd (Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Terwijl de lokalisatie van melanoma's ter hoogte van de tenen, de mondholte en ter hoogte van de mucocutane juncties bij de hond als een negatief prognostische indicator beschouwd wordt, zou de primaire lokalisatie van deze tumoren bij reptielen geen betrouwbare prognostische factor zijn (Smith et al., 2002; Spangler en Kass, 2006; Bergman et al., 2013).

Verschillende immunohistochemische merkers worden bij zoogdieren aangewend om zwak gepigmenteerde, melanocytische neoplasmen te diagnosticeren (Smith et al., 2002; Ramos-Vara en Miller, 2011; Smedley et al., 2011; Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Het gebruik van deze merkers bij reptielen kent echter wisselvallige resultaten, waardoor ze niet routinematig worden aangewend. Verder onderzoek naar betrouwbare merkers ter differentiatie van chromatoforoma's bij reptielen is daarom noodzakelijk (Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

Metastasering van chromatoforoma's bij reptielen wordt frequent gezien ter hoogte van de lever, nieren en longen. Op basis van de huidige diagnostische methoden is het echter een uitdaging om metastasen antemortem op te sporen bij reptielen (Heckers et al., 2012; Muñoz-Gutiérrez et al., 2016). Frequent wordt de aanwezigheid van metastasen bij initiële presentatie daardoor gemist en is chirurgische excisie van de primaire tumor dikwijls niet curatief. Er moet bovendien rekening mee worden gehouden dat micrometastasen reeds aanwezig kunnen zijn maar vaak niet worden gedetecteerd door de beschikbare beeldvormingstechnieken (Muñoz-Gutiérrez et al., 2016).

Een vroegtijdige en correcte diagnose van chromatoforoma's is van doorslaggevend belang voor de therapeutische benadering en prognose van deze aandoeningen bij reptielen. Een volledige staging van het aangetaste reptiel met de nadruk op het aantonen of uitsluiten van metastasen, dient steeds nagestreefd te worden.

REFERENTIES

- Adkins, E., Driggers, T., Ferguson, G., Gehrmann, W., Gyimesi, Z., May, E., Klaphake, E. (2003). Ultraviolet light and reptiles, amphibians. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 13, 27-37.
- Aspengren, S., Hedberg, D., Sköld, H. N., Wallin, M. (2008). New insights into melanosome transport in vertebrate pigment cells. *International Review of Cell and Molecular Biology* 272, 245-302.
- Bagnara, J. T., Matsumoto, J., Ferris, W., Frost, S. K., Turner, W. A., Tchen, T. T., Taylor, J. D. (1979). Common origin of pigment cells. *Science* 203, 410-415.
- Bagnara, J. T., Taylor, J. D., Hadley, M. E. (1968). The dermal chromatophore unit. *The Journal of Cell Biology* 38, 67-79.
- Baines, F., Chattell, J., Dale, J., Garrick, D., Gill, I., Goetz, M., Swatman, M. (2016). How much UV-B does my reptile need? The UV-Tool, a guide to the selection of UV lighting for reptiles and amphibians in captivity. *Journal of Zoo and Aquarium Research* 4, 42.
- Barten, S. L., Fleming, G. J. (2013). Current herpetological husbandry and products. In: D. R. Mader, S. J. Divers (editors). *Current Therapy in Reptile Medicine and Surgery*. St Louis, Elsevier Health Sciences, 2-12.
- Bergman, P.J., Kent, M.S., Farese, J.P. (2013). Melanoma. In: S. J. Withrow, D. M. Vail, (editors). *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. St. Louis, MO: Elsevier/Saunders; p. 321-334.
- Bielli, M., Forlani, A., Nardini, G., Avallone, G. (2015). Mucinous melanophoroma in a northern red-bellied cooter (*Pseudemys rubriventris*). *Journal of Exotic Pet Medicine* 24, 71-75.
- Boniol, M., Autier, P., Boyle, P., Gandini, S. (2012). Cutaneous melanoma attributable to sunbed use: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal*, 345.
- Camus, M. S., Hyatt, M. W., Clauss, T. M., Berliner, A. L., Camus, A. C. (2011). Chromatophoroma in a crevice kelpfish (*Gibbonsia montereyensis*). *Veterinary Clinical Pathology* 40, 549-552.
- de Brot, S., Sydler, T., Nufer, L., Ruetten, M. (2015). Histologic, immunohistochemical, and electron microscopic characterization of a malignant iridophoroma in a dwarf bearded dragon (*Pogona henrylawsoni*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 46, 583-587.
- Elkan, E. (1974). Malignant melanoma in a snake. *Journal of Comparative Pathology* 84, 51-57.
- Gardiner, D. W., Baines, F. M., Pandher, K. (2009). Photodermatitis and photokeratoconjunctivitis in a ball python (*Python regius*) and a blue-tongue skink (*Tiliqua spp.*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 40, 757-766.
- Garner, M. M., Hernandez-Divers, S. M., Raymond, J. T. (2004). Reptile neoplasia: a retrospective study of case submissions to a specialty diagnostic service. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 7, 653-671.
- Graham, J. E., Kent, M. S., Théon, A. (2004). Current therapies in exotic animal oncology. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 7, 757-781.
- Gregory, C. R., Harmon, B. G., Latimer, K. S., Hafner, S., Campagnoli, R. P., McManamon, R. M., Steffens, W. L. (1997). Malignant chromatophoroma in a canebrake rattlesnake (*Crotalus horridus atricaudatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 28, 198-203.

- Hadley, M. E., Goldman, J. M. (1969). Physiological color changes in reptiles. *American Zoologist* 9, 489-504.
- Hannon D.E., Garner M.M., Reavill D.R. (2011). Squamous cell carcinomas in inland bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 21, 101-106.
- Heckers, K. O., Schmidt, V., Krastel, D., Hildebrandt, G., Kiefer, I., Pees, M. (2011). Malignant melanophoroma in a Hermann's tortoise (*Testudo hermanni*). A case report. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere* 39, 45.
- Heckers, K. O., Aupperle, H., Schmidt, V., Pees, M. (2012). Melanophoromas and iridophoromas in reptiles. *Journal of Comparative Pathology* 146, 258-268.
- Heckers, K. O., Aupperle, H. (2014). Pigment-forming tumors in reptiles: light regime and its dark sides. In: *Proceedings of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians*, 21th Annual Conference, Orlando, Florida, USA, Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians. 18-24 October, 2014, 31-35.
- Hellebuyck, T., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Martel, A. (2012). Dermatological diseases in lizards. *The Veterinary Journal* 193, 38-45.
- Hellebuyck, T., Ducatelle, R., Bosseler, L., Van Caelenberg, A., Versnaeyen, H., Chiers, K., Martel, A. (2016). Basal cell carcinoma in two Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 28, 750-754.
- Hernandez-Divers, S. M., Garner, M. M. (2003). Neoplasia of reptiles with an emphasis on lizards. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 6, 251-273.
- Hoppmann, E., Barron, H. W. (2007). Dermatology in reptiles. *Journal of Exotic Pet Medicine* 16, 210-224.
- Irizarry Rovira, A. R., Wolf, A., Ramos Vara, J. A. (2006). Cutaneous melanophoroma in a green iguana (*Iguana iguana*). *Veterinary Clinical Pathology* 35, 101-105.
- Jhappan, C., Noonan, F. P., Merlino, G. (2003). Ultraviolet radiation and cutaneous malignant melanoma. *Oncogene* 22, 3099-3112.
- Johnson, J. D. (2003). Laser removal of a palpebral melanoma in a green iguana. In: *Proceedings of the 10th Annual Meeting of the Association of Reptile and Amphibian Veterinarians*, Minneapolis, 41-42.
- Judah, V., Nuttall, K. (2016). Reptiles. In: *Exotic Animal Care and Management*. Nelson Education, 156-190.
- Kent M.S. (2004). The use of chemotherapy in exotic animals. *Veterinary Clinics Exotic Animal Practice* 7, 807-820.
- Leach, M. W., Nichols, D. K., Hartsell, W., Torgerson, R. W. (1991). Radiation therapy of a malignant chromatophoroma in a yellow rat snake (*Elaphe obsoleta quadrivittata*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 22, 241-244.
- Lear, J. T., Smith, A. G. (1997). Basal cell carcinoma. *Postgraduate Medical Journal* 73, 538-542.
- Lewis, N., Martinson, S., Wadowska, D., Desmarchelier, M. (2015). Malignant mixed chromatophoroma with cutaneous, pulmonary, and testicular metastases in a veiled chameleon (*Chamaeleo calyptrotus*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 25, 16-20.
- Ligon, R. A., McGraw, K. J. (2013). Chameleons communicate with complex colour changes during contests: different body regions convey different information. *Biology Letters* 9, 20130892.
- Martínez-Silvestre, A., Amat, F., Bargalló, F., Carranza, S. (2011). Incidence of pigmented skin tumors in a population of wild Montseny brook newt (*Calotriton arnoldi*). *Journal of Wildlife Diseases* 47, 410-414.
- Mauldin, G. N., Done, L. B. (2006). Oncology. In: *Reptile Medicine and Surgery*. Second edition, St Louis, Saunders-Elsevier, 299-322.
- Muñoz-Gutiérrez, J. F., Garner, M. M., Kiupel, M. (2016). Cutaneous chromatophoromas in captive snakes. *Veterinary Pathology* 53, 1213-1219.
- Orzan, O. A., Andru, A., Jecan, C. R. (2015). Controversies in the diagnosis and treatment of early cutaneous melanoma. *Journal of Medicine and Life* 8, 132.
- Pfeifer, G. P., You, Y. H., Besaratinia, A. (2005). Mutations induced by ultraviolet light. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 571, 19-31.
- Pfeifer, G. P., Besaratinia, A. (2012). UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer. *Photochemical and Photobiological Sciences* 11, 90-97.
- Raiti, P. (2008). Carbon dioxide (CO₂) laser treatment of cutaneous papillomas in a common snapping turtle (*Chelydra serpentina*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 39, 252-256.
- Ramos-Vara, J. A., Miller, M. A. (2011). Immunohistochemical identification of canine melanocytic neoplasms with antibodies to melanocytic antigen PNL2 and tyrosinase comparison with melan A. *Veterinary Pathology Online* 48, 443-450.
- Rivera, S., Crane, M. M., McManamon, R., Gregory, C. R. (2015). Surgical treatment of pulmonary melanophoroma in a bearded lizard (*Heloderma horridum exasperatum*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 46, 397-399.
- Rubin, A. I., Chen, E. H., Ratner, D. (2005). Basal-cell carcinoma. *New England Journal of Medicine* 353, 2262-2269.
- Ryan, MJ, Hill, DL, Whitney, G.D. (1981). Malignant chromatophoroma in a gopher snake. *Veterinary Pathology* 18, 827-829.
- Schartl, M., Larue, L., Goda, M., Bosenberg, M. W., Hashimoto, H., Kelsh, R. N. (2016). What is a vertebrate pigment cell? *Pigment Cell and Melanoma Research* 29, 8-14.
- Schmidt-Posthaus, H., Pugovkin, D., Wahli, T. (2005). Iridophoroma in a European grayling (*Thymallus thymallus*) in Switzerland. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 25, 36.
- Simpson, S. (2008). Pigmented cutaneous neoplasm in a central bearded dragon. In: *Proceedings of the Unusual and Exotic Pet Veterinarians Annual Conference*, Brisbane, 285-288.
- Singaravel, V., Gopalakrishnan, A., Vijayakumar, R., Raja, K., Asrafuzzaman, S. (2016). Occurrence of chromatophoroma or chromatophoromatosis in *Sardinella longiceps* (Valenciennes, 1847) from Tamilnadu, southeast coast of India. *Journal of Applied Ichthyology* 1, 6.
- Smedley, R. C., Lamoureux, J., Sledge, D. G., Kiupel, M. (2011). Immunohistochemical diagnosis of canine oral amelanotic melanocytic neoplasms. *Veterinary Pathology Online* 48, 32-40.
- Smith, S. H., Goldschmidt, M. H., McManus, P. M. (2002). A comparative review of melanocytic neoplasms. *Veterinary Pathology Online* 39, 651-678.
- Spangler, W. L., Kass, P. H. (2006). The histologic and epi-

- demiologic bases for prognostic considerations in canine melanocytic neoplasia. *Veterinary Pathology Online* 43, 136-149.
- Strobbe, L. J., Nieweg, O. E., Kroon, B. B. (1997). Carbon dioxide laser for cutaneous melanoma metastases: indications and limitations. *European Journal of Surgical Oncology* 23, 435-438.
- Strunk, A., Haney, S., Reavill, D., Baer, C. K. (2009). Malignant chromatophoroma in a bearded dragon (*Pogona vitticeps*). In: *Proceedings of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians, 16th Annual Conference*, Milwaukee, Wisconsin, USA, Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians, 8-15 August, 2009, 73-76.
- Suedmeyer, W., Bryan, J. N., Johnson, G., Freeman, A. (2007). Diagnosis and clinical management of multiple chromatophoromas in an eastern yellowbelly racer (*Coleler constrictor flaviventris*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 38, 127-130.
- Sykes IV, J. M., Trupkiewicz, J. G. (2006). Reptile neoplasia at the Philadelphia zoological garden, 1901-2002. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 37, 11-19.
- Teyssier, J., Saenko, S. V., van der Marel, D., Milinkovitch, M. C. (2014). Photonic crystals cause active colour change in chameleons. *Nature Communications* 6, 6368-6368.
- Thompson, K. A., Campbell, M., Levens, G., Agnew, D. (2015). Bilaterally symmetrical oral amelanotic melanoma in a boa constrictor (*Boa constrictor constrictor*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 46, 629-632.
- Vitt, L. J., Caldwell, J. P. (2001). Anatomy of amphibians and reptiles. In: *Herpetology: an Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. Second edition, San Diego, Academic Press, 33-76.
- Watson, M. K., Mitchell, M. A. (2014). Vitamin D and ultraviolet B radiation considerations for exotic pets. *Journal of Exotic Pet Medicine* 23, 369-379.
- Wilkinson, S. L. (2015). Reptile wellness management. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 18, 281-304.

Uit het verleden

DUIVEN MET DE HONDENKAR NAAR PARIJS (1830)

De vroegst bekende duivenwedstrijd in het Gentse werd in 1830 gehouden en had Parijs als losplaats. Er werden zeventig duiven ingezet. Dat was uitzonderlijk. Tot omstreeks 1840 - 1850 werd er meestal in Rijsel gelost. Parijs - Gent was voor die tijd een erg grote afstand. Het belangrijkste probleem was immers het transport naar een zo ver afgelegen losplaats. Er waren wel al regelmatige postkoetsdiensten, maar de duivenkorven konden onmogelijk meereizen met de immer overvolle en zwaar bepakte postkoetsen.

Geen nood echter, men dokterde toen een in onze ogen nogal extravagante oplossing uit. De korven werden met hondenkarren getransporteerd naar hun plaats van bestemming. Uiteraard moest er voor voedsel en water gezorgd worden, zowel voor de trekhonden als voor de wedstrijdduiven. Onnodig hierbij te melden dat de tocht meerdere dagen in beslag nam.

De wedstrijd werd gewonnen door drie duiven toebehorend aan een zekere J. Wauters. Ze landden op 26 juli 1830 nagenoeg gelijktijdig op hun til en ze zouden er ongeveer drie uur over gedaan hebben.

Of deze details allemaal juist zijn weten we niet. We moeten ons baseren op de doorgaans zeer betrouwbare auteur Prosper Claeys (1834 - 1910) die dit verhaal neerschreef. In elk geval had die wedstrijd in dat jaar plaats. Daarvan getuigt een medaille met de vermelding 'Erepijs voor drie duiven in drie uur uit Parijs weergekeerd', de naam van de eigenaar, jaar en datum.

Pas met de aanleg van nationale en internationale spoornetten werden duivenvluchten op grote afstand en met grote aantallen mogelijk. Zo haalt Claeys een vlucht uit Vendôme (Dept. Loir-et-Cher) in 1906 aan. Niet minder dan 26.000 Belgische duiven werden daar toen gelost. Honderdvijftig garnizoensoldaten kregen als opdracht zo snel mogelijk tien manden te openen aan elke zijde van elk van hen opgesteld.

Bron: Claeys, P. (1909). Concours de pigeons. 1830. In: *Medailles Gantoises Modernes*, Gent, C. Vyt, p. 128-129.

Evaluation of the ruminal function of Belgian dairy cows suspected of subacute ruminal acidosis

Evaluatie van de ruminale functie bij Belgische melkkoeien verdacht van subacute pensacidose

¹F. Lessire, ²E. Knapp, ²L. Theron, ³J.L. Hornick, ¹I. Dufrasne, ²F. Rollin

¹University of Liège, Faculty of Veterinary Medicine, FARAH, 6 chemin de la Ferme, Quartier Vallée, 3, 4000 Liège 1, Belgium

²University of Liège, Faculty of Veterinary Medicine, Clinical Department of Production Animals, Quartier Vallée 2, avenue de Cureghem 7d, 4000 Liège 1, Belgium

³University of Liège, Faculty of Veterinary Medicine, FARAH, Quartier Vallée, 3, avenue de Cureghem 10, 4000 Liège 1, Belgium

flessire@ulg.ac.be

ABSTRACT

Subacute ruminal acidosis (SARA) has been considered a major pathology in high producing dairy herds for years. These findings were corroborated by several studies in Europe. However, different feeding practices and herds' production levels are found in Southern Belgium. This study aimed to ascertain whether dairy cows of several herds from the south of Belgium (Wallonia) with a suspicion of SARA really did present too low ruminal pH values. Twenty-four herds were visited and 172 cows were sampled using an oropharyngeal device to collect ruminal fluid, i.e. Geishauser probe. On the samples, three tests were performed: pH measurement, methylene blue reduction test and microscopic evaluation of protozoa vitality. Based on these analyses, no cows demonstrated pH values lower than 5.5 and, only ten cows could be considered at risk for SARA. By contrast, in eighteen cows, pH values higher than 7.0 were measured and ruminal inactivity was suspected. In this study, ruminal alkalosis appeared to be more frequently observed than SARA.

SAMENVATTING

Sinds jaren wordt subacute pensacidose (SARA) beschouwd als een belangrijk probleem op hoogproductieve melkveebedrijven. Meerdere studies uitgevoerd in Europa bevestigen dit. Er zijn echter belangrijke verschillen in de productie en de voeding van melkvee in Wallonië. Het doel van deze studie is na te gaan of de melkkoeien op Waalse bedrijven verdacht van SARA, werkelijk een te lage zuurtegraad (pH) van de pensinhoud hebben.

Vierentwintig melkveebedrijven werden bezocht en van 172 koeien werd pensvocht afgenomen via een slokdarmsonde, i.e. sonde van Geishauser. Van elk staal werd de pH-waarde bepaald, de methyleenblauw-reductietest werd uitgevoerd en de beweeglijkheid van de protozoa werd microscopisch beoordeeld. Gebaseerd op die analyses had geen enkele geteste melkkoe een penspH lager dan 5,5. Slechts tien melkkoeien konden in aanmerking komen als risicodieren voor SARA. Daarentegen werd bij achttien dieren vastgesteld dat de pH hoger was dan 7,0 en dat hun pensflora onvoldoende actief was. Uit deze studie blijkt dat pensalkalose meer voorkomt dan SARA op hedendaagse Waalse melkveebedrijven.

INTRODUCTION

For years, subacute ruminal acidosis (SARA) has been considered a major disease affecting high producing dairy herds. Nevertheless, this concept has been more and more questioned with the help of new technologies, which continuously record the rumi-

nal pH (Kleen and Denwood, 2013). Diagnosis is based on pH determination on ruminal fluid usually obtained by rumenocentesis. Yet, ruminal pH varies during the day due to ruminal fermentation (Oetzel, 2007; Plaizier et al., 2008). As a consequence, diagnosis levels are controversial (Nordlund, 2003; Enemark et al., 2004) and several authors consider a long du-

ration drop under 5.8 or 5.5 more important than a low pH value of short duration (Gozho et al., 2005; Al Zahal et al., 2007). On the other hand, field investigations cannot apprehend drop duration, so they consider SARA evidence when ruminal pH value is lower than 5.5, whatever the duration might be. Between 5.5 and 5.8, animals are considered at risk. Many studies have been published to assess SARA prevalence. In high producing herds, which receive high concentrate diets, SARA prevalence can reach 40% in one third of the studied herds in the United States (Garrett et al., 1997). In another study of Oetzel (2004), 20% of the sampled cows were detected as acidotic and 23% were considered being at risk. However, it must be kept in mind that feeding practices, which differ from one country to another, have a key impact on SARA development. In intensive dairy cattle industry in Italy, out of ten herds with a total of 3,490 cows producing more than 10,000 kg milk/year, three herds were considered to be demonstrating SARA and five other ones were diagnosed at risk (Morgante et al., 2007). These herds received a totally mixed ration (TMR), of which the composition was in compliance with NRC (2001) recommendations for crude protein, NDF and ADF concentrations. In a Dutch study based on 197 cows of 18 dairy herds producing 10,000 kg milk/year, 13.6% of the sampled cows demonstrated pH values < 5.5 while 16.8% had pH values between 5.5 and 5.8 (Kleen et al., 2009). Those herds received a TMR composed of grass silage, maize silage and concentrates, providing nutrients in proportion considered secure regarding SARA. In only one herd, 38% of the animals was positive for SARA. In Ireland, ruminal fluid sampling was performed on 114 grazing cows, of which the average yearly milk production was 8,114 kg: 11 % demonstrated pH values lower than 5.5, while 42% had ruminal pH values between 5.5 and 5.8 (O'Grady et al., 2008). These cows were mainly fed spring grass supplemented 2 kg of concentrates maximum. In Southern Belgium, feeding practices and milk production are different from these published results; however, up till now, no study has been conducted to quantify SARA prevalence in Belgium. Despite this fact, in Belgium, it is very common to blindly complement dairy cows' diet with sodium bicarbonate to prevent ruminal acidosis. In this context, the present study aimed to verify whether dairy cows of several herds from the South of Belgium (Wallonia), where SARA was suspected, really did present low ruminal pH values indicating SARA, and whether sodium bicarbonate addition in their diet was really advisable.

MATERIALS AND METHODS

Farm selection and cow production data

Twenty-four farms were investigated in Wallonia at the request of the farmers and/or the veterinarians who expected a potential risk of SARA based on

lameness prevalence, poor milk production, low fat and low fat-to-protein ratio in milk. The milk yield on a 305-day basis was $8,898 \pm 1,044$ kg (mean \pm SD) with 95 ± 43 cows per exploitation. Seven farms were equipped with an automatic milking system. Production, days in milk (DIM), milk yield (MY; kg), milk fat % (F), milk protein % (P), F/P ratio (F/P) and performances were obtained by the National Dairy Herd Improvement.

Ruminal fluid collection and analysis

Out of the 24 investigated farms, 172 cows (162 Holstein and 10 Brown Swiss) were sampled from 2011 to 2012 for evaluation of the ruminal function. At least five cows per herd were selected on basis of DIM (< 150), or low F (< 3.2%), or $F/P \leq 1$ or at the farmer's request.

As the duration of low pH is impossible to estimate in field conditions, the pH determinations were completed with the Methylene Blue Reduction Time (MBRT) test and with the examination of rumen protozoa easily performed in farms. Furthermore, milk production and milk composition were recorded on the tested cows.

Ruminal fluid was sampled four to eight hours after the distribution of the TMR using a Geishauser oropharyngeal probe, preventing saliva contamination. The pH was immediately measured by a portable pH Meter (VWR, pH100, Liège, Belgium), and the values were reduced by 0.35 as proposed by Duffield et al. (2004) because of higher pH values in reticulum sampling than with rumenocentesis. The redox potential was evaluated by MBRT as described by Rosenberger (1981). The results were classified in three categories: discoloration within less than three minutes: high redox potential; three to six minutes: medium redox potential and low redox potential for discoloration taking more than six minutes. The protozoa number and mobility were assessed by optical microscopy. For standardization, it was decided to grade the microscopy results from 1 to 5 as detailed in Table 1.

Clinical Scoring

As SARA is usually considered a herd level pathology, health scores were assessed on several animals of the same herd.

The health scores were determined as described by Edmonson et al. (1989) for body condition (BCS) and by Zaaijer and Noordhuizen (2003) for ruminal fill (RF), fecal consistency (FC) and undigested fraction in feces (UF) in producing dairy cows. The locomotion scores (LS) were recorded according to Sprecher's grading scale (Sprecher, 1997) from 1 (normal gait) to 5 (severe lameness). All evaluations were made by the same operator.

Table 1. Criteria for grading microscopic examination of rumen protozoa following grid following Kleen et al. (2009). Mobility: was estimated by the strength of protozoa movement and by the length of their track. Good: rapid movement from one side to the other of the microscopic field. Poor: slow or no motion from one side to the other, only low oscillatory motion observed.

Grade	Size	Number	Mobility
1	LMS	++	Good
2	LMS	++	Poor
3	L/MS	+ / ++	Poor
4	MS	+	Poor
5	S	+	Poor

LMS: grading size for protozoa: L- large, M: medium, S: small. Number: ++: protozoa clearly visible in the sample. +: few protozoa visible in the sample.

Feed

The composition of the TMR allocated to the cows was transcribed from the balance on the feeder wagon. The concentrates allocated at milking were added. The composition of the feeds provided on the day of the visit was collected. The nutritional values based on NIRS analysis were compared to the production needs. Dutch units (VEM, DVE and OEB) were used to assess nutritional values. Silages were examined regarding their preservation (absence or presence of macroscopic moulds and temperature in the depth of the silage). The length of fibers was assessed using the Penn State Particle Separator (PSPS) as described by Kononoff and Heinrichs (2003). It was not possible to use the PSPS when liquid feeds were added to the TMR (nine farms).

Statistical Analysis

All results are presented as means \pm SD. Descriptive statistical analysis (proc univariate) and t-test were performed using the SAS program (version 9.1-SAS Institute). The description of fed rations include mean \pm SD, minimum and maximum values observed in the studied herds.

The t-test was used to compare the mean values of group 1 presenting pH values $<$ 5.8 with group 2, of which the pH values were $>$ 5.8. A second t-test was performed to evaluate the effect of adding bicarbonate by comparing farms using bicarbonate (BF) to prevent SARA and farms, which did not use it (NBF). A Chi-square test was performed to test the equality of distribution of MBRT values classified as normal (reduction time $<$ 6 minutes) and high (reduction time $>$ 6 minutes) in BF and NBF.

RESULTS

The mean characteristics of the rations are exposed in Table 2. The cows received 20.5 kg DM daily (minimum: 17.5 kg – maximum: 25.4 kg) on average.

Rations were mainly composed of forages including maize silage (mean: 6.5 kg DM/day, minimum: 0 kg; maximum: 9 kg), grass silage (mean: 5.6 kg DM/day; minimum: 0 kg; maximum: 8.7 kg) and beet pulp silage (mean: 2.4 kg DM/day; minimum: 0 kg; maximum: 3.5 kg) representing 14.5 kg DM. The rest of the diet was composed of concentrates (commercial mixtures, cereals, dry pulps, brewers, by-products). One farm (herd 17) did not include maize silage and another one (herd 8) did not include grass silage. The forage percentage in the TMR was calculated on all farms, considering the physical structure of the feed, e.g. brewers and dried beet pulps were recorded as concentrates, while fodder beets were recorded as forage. Based on this classification, the mean forage proportion was 70% with a minimum of 46% in herd 17 and a maximum of 82% in herd 13. An average quantity of concentrates of 6.4 kg (minimum: 3.6 kg – maximum: 11.2 kg) completed the diet. The average proportions of fibers evaluated by PSPS were the following: 53% in the first sieve (fiber length $>$ 19 mm), 22% in the second one (fiber length $>$ 8 mm) and 25% in the pan. Sodium bicarbonate (150 g per cow) was added to the ration of five herds (H2, 5, 9, 10 and 15).

Health scores were evaluated on average on 40% of the animals in each herd. The average production of the scored animals (DIM: 116 ± 77) was 30.4 ± 6.0 kg/cow/day, F%: 3.9 ± 0.6 and P%: 3.4 ± 0.2 (Table 3). The mean BCS, RF, CF, UF and LS were respectively 2.6 ± 0.4 , 2.8 ± 0.4 , 2.7 ± 0.3 , 1.5 ± 0.4 and 2.0 ± 0.6 and were put in relationship with their production level. Of 24 herds, five (21%) recorded mean BCS $>$ 3 and four herds included overweight cows with a BCS higher than three despite DIM below 170 days. One herd showed BCS of 3.2 for DIM $>$ 212. On the contrary, insufficient body condition was noticed in five farms with mean BCS $<$ 2.5. In one herd, the animals were really lean (BCS = 1.6 ± 1.2) and produced 36.0 ± 7.6 kg milk, while receiving a TMR with nutritional characteristics allowing a production of 32 kg milk. Relative ruminal impaction was detected in eight herds (33 %) with RF $>$ 3; poor fiber digestion was detected in ten herds (42%) with UF $>$ 2 and lameness was detected in 14 farms with LS $>$ 2.

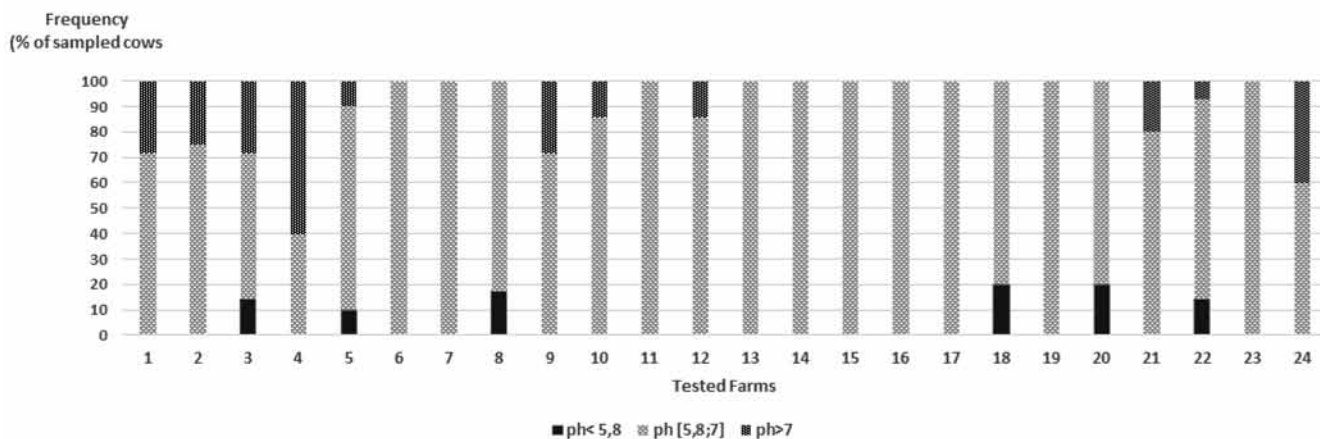


Figure 1. Distribution of low (<5.8), normal (5.8-7) and high (>7) ruminal pH within the 24 herds.

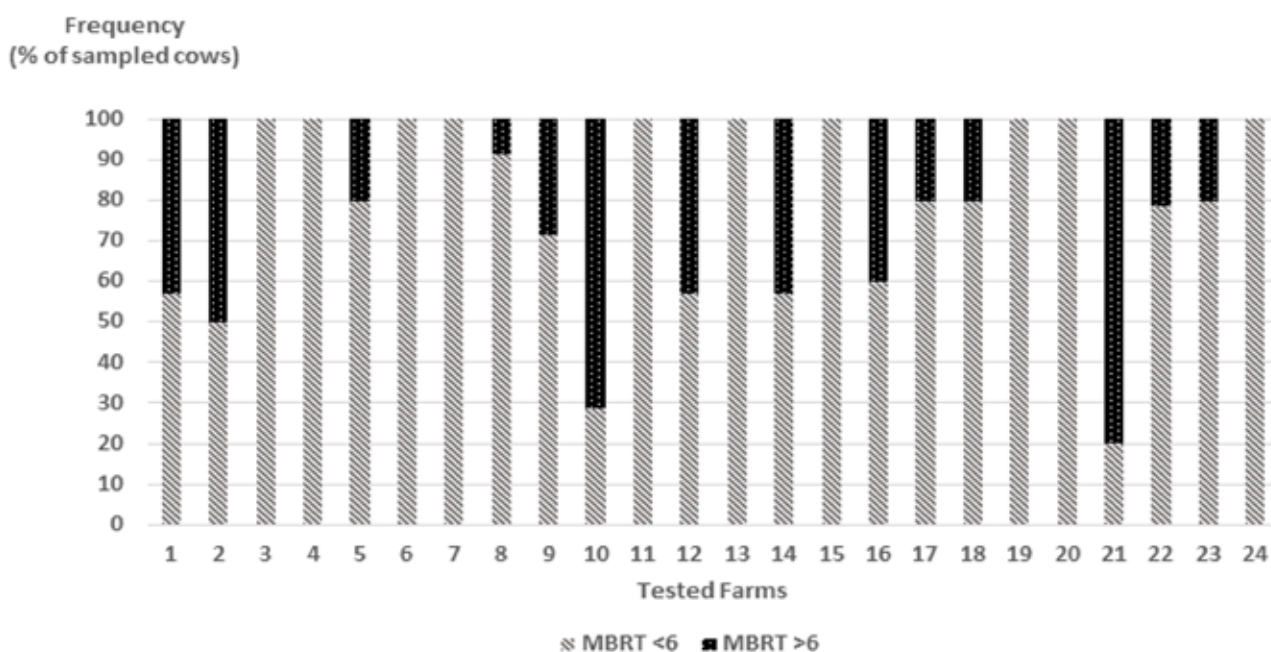


Figure 2. Distribution of normal (reduction time < 6 minutes) and high (reduction time > 6 minutes) methylene blue reduction time in the 24 tested herds.

The results of the individual samplings are presented in Table 4. Among the sampled animals, MY, F% and P% were 33.3 ± 8.9 kg, 3.5 ± 0.7 % and 3.3 ± 0.3 %, respectively. The F/P ratio was 1.1 ± 0.2 . The mean DIM and BCS were 106 ± 84 and 2.6 ± 0.6 , respectively.

The mean ruminal pH value was 6.5 ± 0.4 . Ten animals on 172 (5.8 %) had a pH < 5.8. No result was < 5.5. The distribution of low pH values was the following: 1/5 sampled animals in H18 and H20, 4/23 in H8, 1/7 in H3, 2/14 in H22 and 1/10 in H5. In other herds, no pH value lower than 5.8 was measured. Considering a herd positive for SARA when 25% of the cows presented ruminal pH < 5.5 or at risk for pH values < 5.8, no herd was positive or at risk. On the contrary, in 18 cows (10%), pH was higher than 7. In four out of the five herds supplemented with sodium bicarbonate, ruminal alkalosis (pH > 7) was reported in 25% of the sampled cows in H2, 10% in H5, 29% in H9 and 14%

in H10. The relative proportions of low and high pH values within the herds are shown in Figure 1. The mean MBRT was 4.1 ± 3.0 minutes. In five out of 172 cows (3%), a value < 1 minute indicated a highly active bacterial flora. In 23 samples (14%), no reduction of MB occurred, demonstrating a relative bacterial inactivity. Results of MBRT were categorized in two classes: class 1 included values of MBRT < 6 minutes while class 2 involved values of MBRT > 6 minutes. The relative distribution of MBRT within the herds is shown in Figure 2.

The mean microscopic score (MSc) was 1.35 ± 0.70 . The disappearance of large protozoa was observed in seven samples (five samples from H8, one from H11 and one from H22).

In H8, on 23 sampled animals, abnormal findings in ruminal fluid were detected in nine animals (41%): four with low pH values (one combining low pH and high MSc, one low pH and no discoloration), one

with no discoloration of MB and four cows with MSc equal to four and more.

In herds supplemented with sodium bicarbonate, the milk P % and the milk urea were significantly higher (3.5 ± 0.2 in BF vs 3.2 ± 0.3 in NBF; $p < 0.001$; 270 ± 62 mg/L in BF vs 241 ± 71 mg/L in NBF; $p < 0.05$). The discoloration of MB was slower in BF (5.7 ± 3.3 minutes versus 3.8 ± 2.9 minutes in NBF). A Chi-square test was performed to test the equality of the distribution of MBRT values classified as normal (reduction time < 6 minutes) and high (reduction time > 6 minutes) in BF and NBF. High MBRT-values were more frequent on BF-farms ($p < 0.01$) (Figure 2). The pH also tended to be higher (6.60 ± 0.46 in BF versus 6.47 ± 0.40 in NBF; $p < 0.1$).

DISCUSSION

In this study, the evaluation of the ruminal function was required by the farmer or the veterinarian on the basis of suspected SARA. Low MY, low F% and low F/P in milk may be linked to SARA (Nocek, 1997; Enemark et al., 2004; Enjalbert, 2006; Mulligan et al., 2006; Toni et al., 2011). The sampled cows were selected on the basis of these criteria but no pH value was lower than 5.5. Ruminal acidosis could not be diagnosed in any herd. Only ten animals (5.8%) presented values between 5.5 and 5.8 and could be considered at risk for SARA.

Low milk yield was the usual complaint of the visited farmers. This relative lack of production could be due to several factors. The observed health scores suggest management failures. The body condition scores were not optimal for MY in eleven farms (in five farms: score > 3 and in six farms: score < 2.5). Ruminal impaction likely due to the long fiber proportion was observed in 33% of the visited farms. Poor digestion was noticed on ten farms out of 24. The high pH (> 7) largely observed in the sampled cows was probably linked to impaired digestion and ruminal dysfunction (Mouriño et al., 2001; Kozloski et al., 2008). Moreover, a poor silage quality regarding conservation and nutritional values was reported in five out of 24 farms and might have reduced the nutritional value of the diet. Lameness was a major problem as more than half of the herds presented high LS (LS > 2). This factor has been reported as impacting the productivity of animals (Juarez et al., 2003; Archer et al., 2010). The housing of the animals was therefore examined: the cowsheds demonstrated discomfort inducing competition between animals in some farms. Abnormal eating and rumination behavior are well-known to be related to lameness and discomfort, and to influence ruminal fermentations and pH and hence, the production levels (Stone, 2004).

On the other hand, the addition of sodium bicarbonate influenced ruminal fermentation inducing a relative increase in pH and slowing down MBRT. High ruminal pH observed in the sampled cows could

Table 2. Main nutritional characteristics of the diet of the tested herds.

Herd	TMR	% Forages	KVEM	DVE	OEB	MY expected
1	18.2	74	17.1	1773	46	26.0
2	19.1	86	17.2	1355	415	26.1/25
3	19.9	57	18.8	1543	-15	29.2/28
4	17.5	82	16.8	1501	228	25.4
5	20.7	69	20.2	2048	336	32.4
6	21.0	74	19.6	1662	704	31
7	21.0	76	19.0	1565	609	30/28.5
8	19.4	68	16.6	1487	517	25.0
9	19.5	71	18.4	1652	165	28.5
10	18.0	70	16.9	1546	111	25.6
11	20.7	71	19.1	1841	284	30.2
12	17.5	68	15.0	1354	176	21.6
13	20.8	82	19.2	1503	244	30.3/28
14	21.1	56	19.4	1933	425	30.5
15	23.0	68	22.2	2122	648	36.4
16	22.2	72	21.5	1994	429	34.9
17	22.3	46	20.5	2027	302	32.8
18	22.1	67	20.0	1833	589	32
19	24.4	74	22.0	2172	658	36
20	25.4	76	23.8	2340	363	39.5
21	21.4	63	20.1	1792	490	32.1
22	20.7	62	19.6	1684	104	31
23	21.1	63	20.5	2078	471	33
24	21.5	65	20.0	1877	268	32

TMR: totally mixed ration (kg DM). DM: dry matter. KVEM: net energy (Dutch system), DVE and OEB respectively intestine and ruminal degradable proteins (Dutch system). MY expected: milk yield expected regarding the energy provided by the ration. Should the protein supply be the limiting factor, the milk yield based on the protein supply is indicated as a second figure.

Table 3. Production values and health scores of the tested herds.

Herd	MY	F%	P%	DIM	BCS	RF	FC	UF	LS
1	27.0 ± 9.4	4.1 ± 0.9	3.6 ± 0.3	188 ± 133	2.8 ± 0.7	2.4 ± 0.8	2.7 ± 0.6	2.0 ± 0.8	2.8 ± 0.7
2	27.4 ± 7.6	3.9 ± 0.6	3.6 ± 0.4	156 ± 119	2.4 ± 0.7	2.9 ± 0.7	2.5 ± 0.5	1.7 ± 0.5	2.7 ± 0.7
3	30.5 ± 7.6	3.7 ± 0.8	3.3 ± 0.3	144 ± 91	3.3 ± 0.7	3.3 ± 0.7	2.4 ± 0.5	2.4 ± 0.5	1.8 ± 0.6
4	25.4 ± 5.9	4.3 ± 0.6	3.6 ± 0.5	169 ± 119	2.9 ± 0.5	2.9 ± 0.6	3.0 ± 0.3	1.9 ± 0.3	2.0 ± 0.9
5	34.8 ± 11.3	3.8 ± 0.6	3.6 ± 0.5	209 ± 147	2.8 ± 0.6	2.6 ± 0.7	2.5 ± 0.6	2.3 ± 0.5	2.4 ± 0.8
6	28.2 ± 7.7	4.1 ± 0.6	3.6 ± 0.3	154 ± 121	3.1 ± 0.8	3.0 ± 0.6	2.9 ± 0.4	1.8 ± 0.5	2.5 ± 1.1
7	26.2 ± 8.0	4.3 ± 0.5	3.6 ± 0.4	165 ± 138	3.1 ± 0.5	3.2 ± 0.7	2.5 ± 0.6	2.5 ± 0.6	2.6 ± 0.8
8	26.8 ± 8.2	3.8 ± 2.7	3.2 ± 0.3	212 ± 159	3.2 ± 0.6	2.6 ± 0.7	2.6 ± 0.6	2.0 ± 0.0	2.6 ± 1.3
9	35.0 ± 7.3	3.8 ± 0.4	3.3 ± 0.3	143 ± 121	2.8 ± 0.6	2.8 ± 0.4	2.4 ± 0.6	MD	1.5
10	26.0 ± 7.8	4.0 ± 0.6	3.5 ± 0.4	156 ± 139	3.0 ± 0.5	3.6 ± 0.5	2.3 ± 0.5	1.0 ± 0.0	2.0 ± 0.7
11	29.3 ± 7.7	4.0 ± 0.5	3.3 ± 0.3	150 ± 100	2.7 ± 0.7	3.0 ± 0.7	3.0 ± 0.6	2.7 ± 0.6	1.9 ± 0.8
12	28.5 ± 8.1	3.4 ± 0.6	3.3 ± 0.3	175 ± 98	2.5 ± 0.7	3.2 ± 0.7	2.4 ± 0.5	3.5 ± 0.6	2.3 ± 0.8
13	26.7 ± 8.2	3.0 ± 0.6	3.2 ± 0.4	170 ± 123	2.3 ± 0.7	2.6 ± 0.8	2.5 ± 0.5	2.2 ± 0.2	2.0 ± 0.8
14	23.5 ± 8.6	4.8 ± 0.7	3.5 ± 0.3	189 ± 124	2.7 ± 0.6	3.0 ± 0.7	2.8 ± 0.4	2.0 ± 0.6	2.4 ± 0.8
15	30.2 ± 7.7	3.7 ± 0.6	3.3 ± 0.3	86 ± 95	2.9 ± 0.3	3.2 ± 0.4	2.5 ± 0.7	MD	1.4 ± 0.5
16	33.4 ± 7.2	3.7 ± 0.5	3.2 ± 0.3	102 ± 50	2.4 ± 0.4	3.0 ± 0.4	3.1 ± 0.2	3.9 ± 0.3	2.0 ± 0.8
17	36.0 ± 7.6	3.3 ± 0.5	3.3 ± 0.2	102 ± 55	1.6 ± 0.2	2.6 ± 0.5	2.9 ± 0.3	3.0 ± 0.3	3.0 ± 0.7
18	38.0 ± 6.0	3.6 ± 0.6	3.2 ± 0.2	85 ± 29	2.8 ± 0.6	2.5 ± 0.5	2.5 ± 0.5	1.8 ± 0.5	1.8 ± 0.8
19	29.4 ± 8.2	3.9 ± 0.7	3.2 ± 0.5	92 ± 48	2.8 ± 0.5	2.6 ± 0.5	2.4 ± 0.5	1.7 ± 0.5	1.8 ± 0.6
20	37.5 ± 9.9	3.7 ± 0.6	3.2 ± 0.4	121 ± 52	2.5 ± 0.6	2.6 ± 0.5	2.4 ± 0.4	1.4 ± 0.5	2.4 ± 1.0
21	33.2 ± 5.1	3.9 ± 0.5	3.4 ± 0.2	148 ± 47	2.7 ± 0.6	2.5 ± 0.5	2.7 ± 0.5	1.8 ± 0.4	1.9 ± 0.8
22	26.1 ± 12.1	3.9 ± 0.6	3.5 ± 0.4	210 ± 143	2.4 ± 0.7	2.7 ± 0.5	2.8 ± 0.3	1.6 ± 0.4	1.4 ± 0.6
23	34.7 ± 11.0	3.8 ± 0.5	3.4 ± 0.3	102 ± 72	2.6 ± 0.5	2.7 ± 0.4	3.0 ± 0.4	3.1 ± 0.5	2.5 ± 1.0
24	29.7 ± 5.5	4.0 ± 0.3	3.6 ± 0.3	101 ± 45	3.1 ± 0.5	2.7 ± 0.5	3.0 ± 0.0	1.7 ± 0.5	2.0 ± 0.9

Values are means ± SD. Production values (MY: milk yield, F%: milk fat percentage, P%: milk protein percentage, DIM: days in milk) were reported by the Herd National Improvement at the time of the sampling. Health scores (BCS: body condition score, RF: ruminal fill, FC: fecal consistency, UF: undigested fraction and LS: locomotion score) were determined in each herd by the same operator. MD: missing data.

alter the ruminal function and impair the performance of the cows. An increase in P% was noticed in the BF. Similar effects of sodium bicarbonate supplementation on P% have not been reported in the literature (Erdman et al., 1982; Kennelly et al., 1999; Khorasani and Kennelly, 2001). However, in compliance with the results of this study, the association of high concentrate and buffer supplementation has been described as influencing ruminal fermentation pattern causing a decline in (acetate + butyrate) to propionate ratio (Khorasani and Kennelly, 2001). According to these authors, adding high concentrate and buffer supplementation has a moderate impact on lactose production, but also has an impact on the amino-acid production, which is privileged by the increased propionate concentration to the detriment of gluconeogenesis. As a result, the milk protein % is increased. A similar process could be incriminated in the present study. The high urea level recorded on BF farms was possibly linked to the shift in bacterial population reflected by the high MBRT.

The herds involved could be considered efficient as their average milk yield (8,898 ± 1,044 kg) was higher than the mean registered in Southern Belgium (7,638 kg per cow on a 305 days basis). Despite the high nutritional requirements linked to this production level, the feed was mainly composed of forages. Grass silage was included in all the rations but one (herd 8)

and maize silage was another major component. A high proportion of fibers in the rations was confirmed by the results of PSFS with a majority of fibers (53%) measuring > 19 mm. Long fibers were mainly provided by grass silage. The concentrate level (on average 31%, minimum: 14% - maximum: 52%) was within the recommendations of NRC (2001) (maximum: 65%) in all the exploitations. These feeding practices prevent SARA (Stone, 2004; Mulligan et al., 2006). Therefore, the systematic addition of sodium bicarbonate in the cows' diet appeared inappropriate on the examined herds.

To improve the productivity of the visited herds, the main advice could be to improve the forage quality and to detect lame cows more efficiently. Introducing highly fermentable carbohydrates in the cows' diet could help improving ruminal fermentation.

CONCLUSION

Regarding these results, ruminal evaluation did not confirm SARA suspicion, while on the opposite, relative ruminal flora inactivity and high ruminal pH seemed far more common.

No relation could be demonstrated between F% or F/P ratio and ruminal pH values. Systematically linking low fat syndrome and SARA is hazardous.

Table 4. Ruminal parameters and body condition scores of sampled cows from the 24 tested herds.

Herd	N	DIM	LN	BCS	pH	MBRT	MS
1	7	112 ± 85	2.3 ± 1.0	2.8 ± 0.9	6.8 ± 0.3	7.8 ± 4.3	1.1 ± 0.4
2	8	174 ± 86	2.6 ± 1.7	2.3 ± 0.4	6.9 ± 0.5	6.8 ± 3.1	1.1 ± 0.4
3	7	112 ± 85	3.7 ± 1.8	3.0 ± 0.0	6.6 ± 0.5	1.1 ± 0.4	1.3 ± 0.8
4	5	145 ± 88	3.6 ± 2.1	3.0 ± 0.0	7.0 ± 0.4	4.0 ± 1.1	2.0 ± 0.0
5	10	145 ± 109	3.2 ± 1.2	2.8 ± 0.2	6.3 ± 0.4	4.3 ± 2.8	1.8 ± 0.4
6	7	69 ± 41	2.4 ± 0.7	1.3 ± 0.5	6.3 ± 0.2	3.0 ± 0.4	1.4 ± 0.8
7	11	52 ± 37	2.3 ± 0.3	2.9 ± 0.5	6.3 ± 0.3	3.1 ± 2.5	1.0 ± 0.0
8	23	111 ± 73	2.4 ± 0.9	2.9 ± 0.5	6.4 ± 0.5	3.6 ± 2.0	2.1 ± 1.3
9	9	143 ± 120	2.9 ± 1.7	MD	6.9 ± 0.3	5.8 ± 2.6	1.0 ± 0.0
10	7	82 ± 37	1.3 ± 0.6	2.8 ± 0.3	6.7 ± 0.2	8.5 ± 2.7	1.9 ± 0.4
11	6	111 ± 115	3.5 ± 0.8	3.2 ± 0.8	6.4 ± 0.3	2.3 ± 0.8	1.7 ± 1.6
12	7	119 ± 63	4.8 ± 1.7	2.3 ± 0.5	6.7 ± 0.4	5.3 ± 3.6	1.0 ± 0.0
13	5	111 ± 159	2.8 ± 1.8	2.3 ± 0.4	6.7 ± 0.3	2.0 ± 0.9	1.0 ± 0.0
14	7	177 ± 202	2.8 ± 1.8	MD	6.5 ± 0.3	5.9 ± 3.7	1.0 ± 0.0
15	5	22 ± 25	2.8 ± 1.5	2.6 ± 0.1	6.0 ± 0.2	1.4 ± 0.5	1.0 ± 0.0
16	5	60 ± 31	2.4 ± 0.8	2.5 ± 0.3	6.3 ± 0.4	4.1 ± 4.2	1.0 ± 0.0
17	5	86 ± 44	2.6 ± 1.5	1.6 ± 0.2	6.2 ± 0.3	4.6 ± 1.5	1.0 ± 0.0
18	5	62 ± 34	2.4 ± 0.9	2.7 ± 0.4	6.4 ± 0.5	3.1 ± 1.9	1.2 ± 0.4
19	5	62 ± 14	2.8 ± 1.6	2.5 ± 0.7	6.2 ± 0.1	1.6 ± 0.5	1.0 ± 0.0
20	5	86 ± 36	1.8 ± 1.1	1.8 ± 0.4	6.3 ± 0.3	1.8 ± 0.5	1.0 ± 0.0
21	5	106 ± 49	3.2 ± 1.3	2.3 ± 0.4	6.6 ± 0.4	8.2 ± 4.1	1.0 ± 0.0
22	14	107 ± 37	2.0 ± 1.1	2.0 ± 0.6	6.3 ± 0.4	4.3 ± 3.8	1.4 ± 1.2
23	5	95 ± 62	3.6 ± 2.3	2.3 ± 0.4	6.4 ± 0.2	3.1 ± 2.1	1.0 ± 0.0
24	5	99 ± 32	2.6 ± 2.3	2.9 ± 0.6	6.7 ± 0.4	2.9 ± 1.3	1.0 ± 0.0

Values ± SD. Abbreviations: N: number of sampled cows. DIM: days in milk; LN: lactation number, BCS: body condition score; MBRT: methylene blue reduction time; MS: ruminal microscopic score; MD: missing data.

According to this study, the regular use of sodium bicarbonate in Walloon dairy farms is questioned. In case of low production or low fat syndrome, more attention should be paid to silage and housing quality as well as to the detection, prevention and treatment of lame cows.

REFERENCES

- Al Zahal, O., Kebreab, E., France, J., McBride, B.W. (2007). A mathematical approach to predicting biological values from ruminal pH measurements. *Journal of Dairy Science* 90, 3777-3785.
- Archer, S C, Green, M J, Huxley, J.N. (2010). Association between milk yield and serial locomotion score assessments in UK dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93, 4045-4053.
- Duffield, T., Plaizier, J.C., Fairfield, A., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., Wilson, J., Aramini, J., McBride, B. (2004). Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87, 59-66.
- Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T., Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72, 68-78.
- Enemark, J.M.D., Jørgensen, R.J., Kristensen, N.B. (2004). An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds. *Veterinary Research Communications* 28, 687-709.
- Enjalbert, F. (2006). Assessment of nutritional adequacy in dairy cows through diet characteristics and animal responses. Twenty-fourth World Buiatrics Congress, Nice, France, 15-19 October, 2006, 180-190.
- Erdman R.A., Hemken R.W., Bull L.S. (1982). Dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide for early postpartum lactating dairy cows: effects of production, acid-based metabolism, and digestion *Journal of Dairy Science* 65, 712-731.
- Garrett, E.F., Nordlund, K.V., Goodger, W.J., Oetzel, G.R. (1997). A cross-sectional field study investigating the effect of periparturient dietary management on ruminal pH in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80 (Suppl. 1), 169.
- Gozho, G.N., Plaizier, J.C., Krause, D.O., Kennedy, A.D., Wittenberg, K.M. (2005). Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *Journal of Dairy Science* 88, 1399-1403.
- Juarez S.T, Robinson P.H., De Peters E.J., Price E.O. (2003). Impact of lameness on behavior and productivity of lactating Holstein cows. *Applied Animal Behaviour Science* 83, 1-14.
- Kennelly, J.J., Robinson, B., Khorasani, G.R. (1999). Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in early-lactation holstein cows. *Journal of Dairy Science* 82, 2486-2496.
- Khorasani, G.R., Kennelly, J.J. (2001). Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in late-

- lactation holstein cows. *Journal of Dairy Science* 84, 1707-1716.
- Kleen, J.L., Hooijer, G.A., Rehage, J., Noordhuizen, J.P.T.M. (2009). Subacute ruminal acidosis in Dutch dairy herds. *Veterinary Record* 164, 681-684.
- Kleen, J.L., Denwood M. (2013). Analysis of ruminal variation in a group of dairy cows recorded by indwelling ruminal pH probes. In: Göran Dalin (editor). *Uppsala. ICPD Book of Abstracts*, 26.
- Kononoff, P.J., Heinrichs, A.J. (2003). The effect of reducing alfalfa haylage particle size on cows in early lactation. *Journal of Dairy Science* 86, 1445-1457.
- Kozloski, G.V., Lima, L.D., Cadorin Jr R. L., Bonnacarrère Sanchez, L.M., Senger, C.C.D., Fiorentini, G., Härter, C.J. (2008). Microbial colonization and degradation of forage samples incubated in vitro at different initial pH. *Animal Feed Science and Technology* 141, 356-367.
- Morgante, M., Stelletta, C., Berzaghi, P., Gianesella, M., Andrighetto, I. (2007). Subacute rumen acidosis in lactating cows: An investigation in intensive Italian dairy herds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 91, 226-234.
- Mouriño, F., Akkarawongsa, R., Weimer, P.J. (2001). Initial pH as a determinant of cellulose digestion rate by mixed ruminal microorganisms in vitro. *Journal of Dairy Science* 84, 848-859.
- Mulligan, F.T., O'Grady, L., Rice, D.A., Doherty, M.L. (2006). A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science* 96, 331-353.
- National Research Council (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. Seventh¹ revised edition, National Academy of Science, Washington DC.
- Nocek, J.E. (1997). Bovine acidosis: implications on laminitis. *Journal of Dairy Science* 80, 1005-1028.
- Nordlund, K.V. (2003). Herd-based diagnosis of subacute ruminal acidosis. Preconvention seminar 7: dairy herd problem investigation strategies. In: *Proceedings of the 36th Annual Conference of the American Association of Bovine Practitioners*. Columbus, OH, USA.
- Oetzel, G.R. (2004). Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 20, 651-674.
- Oetzel, G.R. (2007). Subacute ruminal acidosis in dairy herds: physiology, pathophysiology, milk fat responses, and nutritional management. *American Association of Bovine Practitioners, 40th Annual Conference*. University of Winconsin, Vancouver BC, Canada, 89-119.
- O'Grady, L., Doherty, M.L., Mulligan, F.J. (2008). Subacute ruminal acidosis (SARA) in grazing Irish dairy cows. *The Veterinary Journal* 176, 44-49.
- Plaizier, J.C., Krause, D.O., Gozho, G.N., McBride, B.W. (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *The Veterinary Journal* 176, 21-31.
- Rosenberger G. (1981). *Clinical Examination of Cattle*. Parey/WB Saunders, Berlin, 453.
- Stone W.C. (2004). Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 87, 13-26.
- Sprecher, D.J., Hostetler, D.E., Kaneene, J.B. (1997). A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 47, 1179-1187.
- Toni, F., Vincenti, L., Grigoletto, L., Ricci, A., Schukken, Y.H. (2011). Early lactation ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk production, and survival. *Journal of Dairy Science* 94, 1772-1783.
- Zaaijer, D., Noordhuizen, J.P.T.M. (2003). A novel scoring system for monitoring the relationship between nutritional efficiency and fertility in dairy cows. *Irish Veterinary Journal* 56, 145-156.

Sole prednisolone therapy in canine meningoencephalitis of unknown etiology

Monotherapie met prednisolone bij honden met meningo-encefalitis van onbekende oorsprong

¹I. Cornelis, ¹L. Van Ham, ²S. De Decker, ³K. Kromhout, ⁴K. Goethals, ³I. Gielen, ¹S. Bhatti

¹Department of Small Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

²Clinical Science and Services, The Royal Veterinary College, University of London, Hawkshead Lane, North Mymms, Hatfield, Hertfordshire AL9 7TA, United Kingdom

³Department of Veterinary Medical Imaging and Orthopedics, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

⁴Department of Comparative Physiology and Biometrics, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

Ine.Cornelis@Ugent.be

A BSTRACT

Meningoencephalitis of unknown etiology (MUE) is a frequently diagnosed and often fatal disease in veterinary neurology. The aim of this retrospective study was to assess the efficacy of three different sole prednisolone treatment schedules in dogs diagnosed with MUE. The dogs were diagnosed clinically with MUE based on previously described inclusion criteria, and treated with a three-, eight- or eighteen-week-tapering prednisolone schedule. Thirty eight dogs were included in the study. Seventeen, fifteen and six dogs received the three-, eight- and eighteen-week tapering schedule, respectively. Overall, 37% of the dogs died or were euthanized because of MUE, and a significant difference in survival time was seen between the three treatment schedules. Surprisingly, the highest number of dogs that died because of MUE was seen in the eight-week treatment schedule (56%), followed by the three-week (26%) and eighteen-week (0%) treatment schedule. Based on the results of this study, no definitive conclusions can be drawn regarding the ideal prednisolone dosing protocol for dogs diagnosed with MUE. However, a more aggressive and immunosuppressive treatment protocol might lead to a better outcome.

SAMENVATTING

Meningo-encefalitis van onbekende oorsprong is een vaak gediagnosticeerde neurologische aandoening die meestal fataal afloopt. Het doel van deze retrospectieve studie was het evalueren van drie behandelingsschema's enkel bestaande uit prednisolone, gedoseerd in een afbouwend schema van drie, acht of achttien weken. De diagnose werd gesteld aan de hand van in de literatuur beschreven klinische criteria. Zevenendertig honden werden in de studie opgenomen, waarvan er zeventien, vijftien en zes respectievelijk het gedurende drie-, acht- en achttien-weken afbouwend schema toegediend kregen. Er werd een significant verschil waargenomen in overlevingstijd tussen de drie schema's. Zevenendertig % van de honden in de studie stierf of werd geëthanaseerd wegens de aandoening. Verrassend genoeg werd de hoogste mortaliteit vastgesteld in de groep die behandeld werd met het acht weken afbouwend schema (56%), gevolgd door het drie weken (26%) en het achttien weken afbouwend schema (0%). Gebaseerd op deze resultaten kunnen er geen definitieve conclusies getrokken worden voor wat betreft het ideale cortisonebehandelingsschema voor honden met meningo-encefalitis van onbekende oorsprong, maar een meer agressief en immunosuppressief schema zou kunnen leiden tot een lagere mortaliteit.

INTRODUCTION

Meningoencephalitis of unknown etiology (MUE) is a group of non-infectious central nervous system diseases with a likely multifactorial pathogenesis (Coates et al., 2014). Making a definitive diagnosis requires histopathological examination of central nervous tissue, but a presumptive antemortem clinical diagnosis can be achieved based on a combination of neurological examination results, magnetic resonance imaging (MRI) findings and cerebrospinal fluid (CSF) abnormalities (Coates et al., 2014). The exact etiology and pathophysiology of MUE are currently unknown, but immunosuppressive drugs are considered to be the cornerstone of the medical treatment of the disease. Several treatment protocols with different associated long-term survival times have been reported, whereby treatment with glucocorticosteroids only is generally associated with shorter survival times (Munana and Luttgen, 1998; Jung et al., 2007; Granger et al., 2010; Flegel et al., 2011) than combination therapy with other immunosuppressive therapies, including cytosine arabinoside, cyclosporine, leflunomide, lomustine, azathioprine, mycophenolate mofetil or radiation therapy (Munana and Luttgen, 1998; Jung et al., 2007; Coates et al., 2007; Granger et al., 2010; Flegel et al., 2011; Beckmann et al., 2015; Barnoon et al., 2016). However, in a clinical setting, adding more expensive immunosuppressive therapies to the glucocorticoid protocol might be financially impossible. In a recently published prospective trial in dogs with MUE, an overall median survival time of 602 days has been reported for dogs receiving immunosuppressive doses of glucocorticosteroids starting at a dose of 1 mg/kg twice daily, supporting the use of monotherapy with glucocorticosteroids in the treatment of MUE (Mercier and Barnes Heller, 2015). Therefore, the aims of this study were to retrospectively evaluate the efficacy of three different prednisolone treatment protocols that were historically used (three-, eight- and eighteen-week-tapering schedule) in dogs diagnosed with MUE. In the study, it was assumed that a longer survival time would be achieved with a longer and more immunosuppressive treatment protocol.

MATERIALS AND METHODS

The electronic medical database of Ghent University, Small Animal Department was searched between March 2006 and September 2014. Owner contact was performed in October 2014. Adapted inclusion criteria were used (Granger et al., 2010), considering dogs suitable for inclusion if the following data were available: (1) signalment, (2) localization by neurological examination, (3) inflammatory CSF analysis, (4) intracranial MR and/or CT imaging results, (5) negative infectious disease testing, and (6) long-term follow-up through research of medical records or through telephone contact with the owner or referring veterinarian. Neurological status was recorded at the time of admission and further on a daily basis. The results were recorded daily in a computer program, if the dog was hospitalized. The outcome was defined as successful if dogs were not showing the previously reported neurological signs or if improvement was seen according to the owner or referring veterinarian. An unsuccessful outcome was defined as death or euthanasia because of disease progression or if no change in neurological signs was seen. Relapse was defined as a sudden deterioration of the neurological status after an initial improvement after diagnosis and initiation of treatment. All dogs were only receiving glucocorticosteroids as immunomodulating therapy, and a tapering prednisolone treatment schedule consisting of three, eight or eighteen weeks was used (Table 1). The dogs treated with the three-, eight-, eighteen-week schedule were diagnosed between March 2006 and March 2010, January 2009 and August 2012, and January 2010 and September 2014, respectively. The eighteen-week treatment schedule was started with an immunosuppressive dose of prednisolone, being 3 mg/kg/day, whereas the eight-week schedule was started at an immunosuppressive dose of 2 mg/kg/day. The three-week tapering schedule was started with an anti-inflammatory dose of 1 mg/kg/day. It was recorded whether dogs survived their initial treatment protocol and whether a relapse in neurological signs (sudden deterioration after initial improvement) was seen during treatment together with the associated changes made to the prednisolone schedule. Survival time (ST)

Table 1. Tapering dosing schedules for oral prednisolone treatment.

Three weeks	Eight weeks	Eighteen weeks
1 week 1 mg/kg q24h	2 weeks 1 mg/kg q12h	3 weeks 1.5 mg/kg q12h
1 week 0.5 mg/kg q24h	2 weeks 0.5 mg/kg q12h	6 weeks 1 mg/kg q12h
1 week 0.25 mg/kg q24h	2 weeks 0.5 mg/kg q24h	3 weeks 0.5 mg/kg q12h
	2 weeks 0.25 mg/kg q24h	3 weeks 0.5 mg/kg q24h
		3 weeks 0.25 mg/kg q24h

Table 2. Overview of the most important diagnostic findings in the included cases.

Case number	Breed	TNCC (WBC/ μ l)	CT	MRI	Description imaging findings	Prednisolone schedule (weeks)	Survival Time (days)
1	American Staffordshire terrier	165	Yes	No	No lesion visible	3	2190
2	American Staffordshire terrier	52.25	No	Yes	No lesion visible	3	1167
3	Boston terrier	24	No	Yes	Disseminated	8	1460
4	Boston terrier	15	No	Yes	Disseminated	8	30
5	Chihuahua	30	No	Yes	Focal forebrain	8	8
6	Chihuahua	9	No	Yes	Disseminated	18	730
7	Chihuahua	16.5	No	Yes	Focal cerebellum	18	70
8	German shepherd	300	No	Yes	Disseminated	8	10
9	Miniature schnauzer	30.25	No	Yes	Focal forebrain / thalamus	8	778
10	French bulldog	22	Yes	No	Disseminated	3	61
11	French bulldog	66	No	Yes	Focal brainstem	8	1275
12	French bulldog	25	No	Yes	Multifocal brainstem and forebrain	18	365
13	Golden retriever	118	Yes	No	No lesion visible	3	370
14	Golden retriever	20	No	Yes	Focal brainstem	3	1095
15	Golden retriever	42.6	No	Yes	Disseminated	18	120
16	Labrador retriever	209	No	Yes	Disseminated	3	1095
17	Labrador retriever	1189	No	Yes	Disseminated	8	150
18	Maltese terrier	74	Yes	No	No lesion visible	3	2190
19	Maltese terrier	66	Yes	No	Disseminated	3	2310
20	Maltese terrier	12.4	Yes	No	Disseminated	3	2035
21	Maltese terrier	800	Yes	No	Disseminated	3	2
22	Maltese terrier	21	No	Yes	Disseminated	8	13
23	Maltese terrier	64	No	Yes	Disseminated	8	84
24	Maltese terrier	96.25	No	Yes	Disseminated	8	180
25	Maltese terrier	120	No	Yes	Disseminated	8	1275
26	Maltese terrier	15	No	Yes	No lesion visible	18	730
27	Maltese terrier	50	No	Yes	Multifocal brainstem and forebrain	18	365
28	Pug	217	Yes	No	Disseminated	3	185
29	Pug	52.25	Yes	No	Disseminated	3	1095
30	Shih tzu	82.5	Yes	Yes	Disseminated	3	1921
31	Shih tzu	55	No	Yes	No lesion visible	8	72
32	Tervueren shepherd	27	No	Yes	Disseminated	8	210
33	Weimaraner	110	No	Yes	Disseminated	8	72
34	West Highland white terrier	33	Yes	No	No lesion visible	3	730
35	West Highland white terrier	500	No	Yes	Disseminated	8	545
36	Yorkshire terrier	33	Yes	No	Disseminated	3	2490
37	Yorkshire terrier	143	Yes	No	Disseminated	3	2490
38	Yorkshire terrier	500	Yes	No	Disseminated	3	6205

TNCC = total nucleated cell count; WBC = white blood cells; CT = computed tomography; MRI = magnetic resonance imaging.

was defined as time from diagnosis to death or euthanasia. A semiparametric cox model (hazard analysis) was fitted to the data to detect differences in survival time between the three treatment groups. All statistic tests were performed using S-Plus. For all analyses, a value of $P < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

Thirty-eight dogs met the inclusion criteria. Breeds represented included Maltese terrier (n=10), Yorkshire terrier (n=3), Golden retriever (n=3), Chihuahua (n=3), French bulldog (n=3), Pug (n=2), Labrador retriever (n=2), West Highland white terrier (n=2), Shih tzu (n=2), Boston terrier (n=2), American

Staffordshire terrier (n=2) and four other individual breeds. The most commonly presented neurologic signs were abnormal behavior (n=19), altered mentation (n=18) and central vestibular signs (n=19). Brain imaging (CT and/or MRI) was available in all cases. Thirteen dogs (34%) only underwent CT imaging, 24 dogs (63%) only underwent MR imaging and one dog (3%) underwent both CT and MR imaging. No lesion was visible in seven dogs (18%), based on CT (n=4) or MR (n=3) imaging. As required by the inclusion criteria, total nucleated cell count of the CSF was above reference limits (> 5 WBC/ μ l after cisternal collection) in all cases with counts ranging from 9-1189 WBC/ μ l (median: 55 WBC/ μ l). An overview of the most important diagnostic findings can be consulted in Table 2.

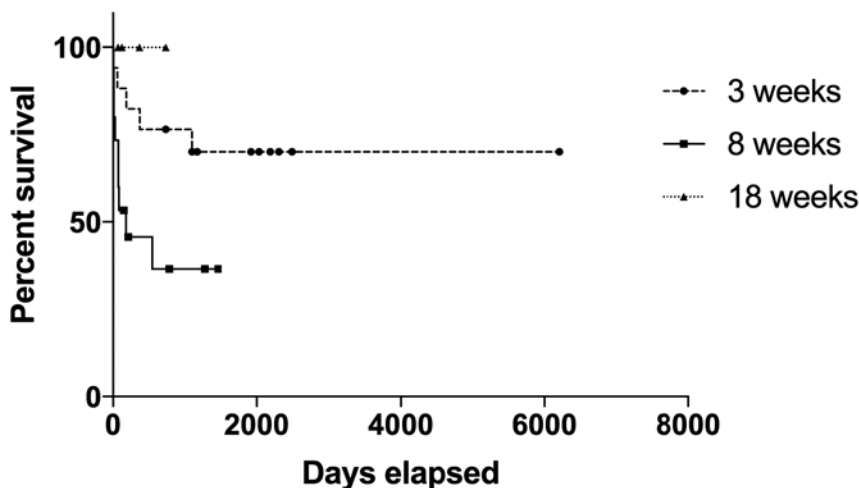


Figure 1. Kaplan-meier survival curve comparing survival times in the three treatment groups. Dogs that were still alive at the time of data capture or died because of unrelated causes, were censored for survival analysis.

Seventeen (45%), 15 (39%), and 6 (16%) dogs received the three-, eight-, and eighteen-weeks prednisolone treatment schedule, respectively. In eight dogs (21%), this therapy was combined with phenobarbital for treatment of seizures. There was a significant difference in ST between the three treatment groups ($P=0.028$) (Figure 1). Overall, 24 dogs (63%) had a successful outcome, 22 of those dogs were alive at the time of data capture. The remaining two dogs were euthanized because of other reasons 730 and 1167 days after their diagnosis, respectively, and both dogs were not receiving any immunomodulating medication at the time of euthanasia. Fourteen dogs (37%) had an unsuccessful outcome, and died or were euthanized because of MUE. The median survival time (MST) could not be calculated for the group of dogs receiving the three-week and eighteen-week tapering prednisolone schedule, as more than 50% of those dogs were alive at the time of data capture. The

MST for the dogs treated with the eight-week tapering schedule, was 180 days. Five dogs died or were euthanized (one in the three-week group and four in the eight-week group) during their treatment schedule. No changes were made to their schedules. Ten dogs (26%) showed a relapse in neurological signs. Four of those dogs did so after terminating their three-week tapering schedule, three dogs after terminating their eight-week treatment schedule, two dogs during their eight-week schedule (after three and six weeks), and one dog after terminating the eighteen-week schedule. If the relapse was seen after termination of the treatment schedule, the same schedule was initiated again ($n=7$), and the dose was increased again to the starting dose if a relapse was seen before termination of the tapering schedule ($n=3$). There was no significant difference in relapse rates between the three treatment schedules ($P=0.886$). An overview of the results can be found in Table 3.

Table 3. Summary of survival, relapse and MST in dogs within the treatment groups.

	Three weeks	Eight weeks	Eighteen weeks
Number of dogs	17	15	6
Dead	5 (2NR)	9	0
Alive	10	6	6
Deceased cases			
During protocol	1	4	0
After protocol	4	5	0
Relapsed cases	4	5	1
During protocol	0	2	1
After protocol	4	3	0
Median survival time	-	180 days	-

NR = not related (dog died for a reason unrelated to MUE)

DISCUSSION

Thirty-eight dogs diagnosed with MUE received oral prednisolone therapy in three different tapering schedules. Overall, 37% of dogs were euthanized because of MUE. The survival curves for the three treatment schedules were significantly different. Surprisingly, the highest mortality rate was seen in the eight-week (immunosuppressive) treatment group (56%), followed by the three-week (anti-inflammatory) (28%) and the eighteen-week (immunosuppressive) treatment (0%) schedule. Possible explanations might be that (1) all dogs at the institution historically received the three-week treatment protocol when a suspicion of non-infectious encephalitis was made. However, as a possibly immune-mediated origin has recently been reported in the literature, dogs diagnosed with MUE admitted with severe neurological signs may have received a longer, more immunosuppressive (eight-week) treatment schedule and (2) the eighteen-week tapering schedule was only introduced in the last four years of inclusion, so the recently included cases in the present study might still have deceased in the following weeks to months, probably having falsely (positively) influenced the results.

In the literature, the MST in dogs diagnosed with MUA and receiving sole prednisolone therapy ranges from 28 - 357 days (Granger et al., 2010), 91 - 329 days (Flegel et al., 2011) and 602 days (Mercier and Barnes Heller, 2015). As more than 50% of the dogs were alive or censored for outcome calculations at the time of data capture, no overall MST could be calculated in the presented study. However, the MST was 180 days in the eight-week treatment group, which appears to be the group with the highest percentage of deceased and relapsed dogs. Further prospective studies should be performed, including more dogs receiving the more immunosuppressive treatment schedules, although comparing immunosuppressive and anti-inflammatory treatment protocols for a presumed immune-mediated disease can cause ethical dilemma.

Pitfalls in the current study are the lack of histopathological confirmation of all cases, the low number of cases and the relatively high percentage of dogs that was diagnosed using CT imaging (34%). However, 18% of the dogs had no visible lesion on CT or MR imaging, which is comparable to the 7% for MRI and 14% for CT described previously (Granger et al., 2010). Prednisolone therapy is associated with common side effects. In order to overcome these effects, other immunosuppressive drugs can be added to the protocol. Looking at the side effects of the prednisolone treatment was beyond the scope of this article, as not all of them were systematically recorded; moreover, these effects are difficult to trace back through telephone contact with the owner or referring veterinarian.

To conclude, the overall prognosis for dogs diagnosed with MUE and treated with sole prednisolone therapy is guarded. Almost 40% of dogs will succumb due to the disease. A long and immunosuppressive treatment schedule is advised, although side effects might be significant.

LITERATURE

- Barnoon I., Shamir M.H., Aroch I., Bdolah-Abram T., Srugo I., Konstantin L., Chai O. (2016). Retrospective evaluation of combined mycophenolate mofetil and prednisone treatment for meningoencephalomyelitis of unknown etiology in dogs: 25 cases (2005 – 2011). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 26, 116-124.
- Beckmann K., Carrera I., Steffen F., Golini L., Kircher P.R., Schneider U., Bley C.R. (2015). A newly designed radiation therapy protocol in combination with prednisolone as treatment for meningoencephalitis of unknown origin in dogs: a prospective pilot study introducing magnetic resonance spectroscopy as monitor tool. *Acta Veterinaria Scandinavica* 31, 57-71.
- Coates J.R., Barone G., Dewey C.W., Vitale C.L., Holloway-Azene N.M., Sessions J.K. (2007). Procarbazine as adjunctive therapy for treatment of dogs with presumptive antemortem diagnosis of granulomatous meningoencephalomyelitis: 21 cases (1998-2004). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21, 100-106.
- Coates, J.R., Jeffery, N.D. (2014). Perspectives on meningoencephalitis of unknown origin. *The Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice* 44, 1157-1185.
- Flegel T., Boettcher I.C., Matiasek K., Oevermann A., Doherr M.G., Oechtering G., Henke D. (2011). Comparison of oral administration of lomustine and prednisolone alone as treatment for granulomatous meningoencephalomyelitis or necrotizing encephalitis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 238, 337-345.
- Granger N., Smith P.M., Jeffery N.D. (2010). Clinical findings and treatment of non-infectious meningoencephalomyelitis in dogs: a systematic review of 457 published cases from 1962 to 2008. *The Veterinary Journal* 184, 290-297.
- Jung, D.I., Kang, B.T., Park, C., Yoo, J.H., Gu, S.H., Jeon, H.W., Kim, J.W., Heo, R.Y., Sung, H.J., Eom, K.D., Woo, E.J., Park, H.M. (2007). A comparison of combination therapy (cyclosporine plus prednisolone) with sole prednisolone therapy in 7 dogs with necrotizing meningoencephalitis. *Journal of Veterinary Medical Science* 69, 1303-1306.
- Mercier M. and Barnes Heller H.L. (2015). Efficacy of glucocorticoid monotherapy for treatment of canine meningoencephalomyelitis of unknown etiology: a prospective study in 16 dogs. *Veterinary Medical Science* 1, 16-22.
- Munana, K.R., Luttgen, P.J. (1998). Prognostic factors for dogs with granulomatous meningoencephalomyelitis: 42 cases (1982-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 12, 1902-1906.

Therapeutic ultrasound as an aid in tibial fracture management in a dog

Therapeutisch ultrageluid als ondersteuning bij de behandeling van een tibiafractuur bij een hond

J. Heremans, E. de Bakker, B. Van Ryssen, Y. Samoy

Vakgroep Medische Beeldvorming van de Huisdieren en Orthopedie van de Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

yves.samoy@ugent.be

ABSTRACT

A six-year-old, male, neutered Bernese mountain dog was presented with acute left hind limb lameness. Based on the symptoms, orthopedic examination and radiographic evaluation, a cranial cruciate ligament rupture was diagnosed. Surgical treatment with TTA Rapid was performed with good result. At two weeks postoperatively, the dog developed a fracture of the proximal tibia, due to excessive activity. Conservative treatment consisting of a splint and rest was advised. Physiotherapeutic ultrasonography and exercises were started to stimulate bone healing. After eight sessions, the dog was clinically much better, and radiographs showed a good evolution with a clear callus. Follow-up controls confirmed the progressive evolution.

SAMENVATTING

Een zes jaar oude, mannelijke, gecastreerde Berner sennenhond werd aangeboden met de klacht van acuut manken ter hoogte van de linkerachterpoot. Op basis van de symptomen, het orthopedisch onderzoek en radiografieën werd een voorstekruisbandruptuur vastgesteld. Er werd een TTA-rapid-ingreep uitgevoerd, met goed resultaat. Twee weken postoperatief trad een fractuur van de proximale tibia op door overdreven activiteit van de hond. Conservatieve therapie bestaande uit een spalk en hokrust werd geadviseerd. Omdat dit geen beterschap bracht, werd fysiotherapie met ultrageluid en oefeningen gestart om de botheling te stimuleren. Na acht sessies was de hond klinisch beter en ook de radiografieën toonden een goede evolutie met duidelijke callus. Follow-up controles bevestigden de gunstige evolutie.

INTRODUCTION

Rupture of the cranial cruciate ligament is one of the most common causes of hind limb lameness in dogs (Canapp, 2007; Comerford et al., 2011). During the last thirty years, the prevalence has more than doubled (Griffon et al., 2010). In humans, the most common cause is trauma, but in dogs, it occurs mostly due to degeneration of the cranial cruciate ligament (Canapp, 2007; Ichinohe et al., 2015). The exact etiopathogenesis is yet unknown (Comerford et al., 2011). In about 40% of all cases, a rupture of the contralateral cranial cruciate ligament is also present (Fossum et al., 2013).

A frequently used treatment for this disease is an osteotomy technique, as there are: tibial plateau level-

ing osteotomy (TPLO), tibial tuberosity advancement (TTA) (Boudrieau, 2009; Fossum et al., 2013) and TTA Rapid (Samoy et al., 2015).

Complications of these techniques occur in 20 to 59% of cases (Boudrieau, 2009; Griffon et al., 2010). Bone related problems (tibial tuberosity-, fibular- or tibial fracture) occur in 4.9 to 7.1% of all cases (Boudrieau, 2009). Less complications occur if the number of technical problems decreases, for example with a more experienced surgeon (Boudrieau, 2009).

Bone healing can be supported by using ultrasound (Mosselmans et al., 2013). Initially, ultrasound was used to obtain a thermal effect on tissue (Millis and Levine, 2014), and was believed to have a negative effect on fracture healing (Watson, 2008; Millis and Levine, 2014). High doses were thought to delay



Figure 1. 1. Lateral view of the left stifle with swelling of the stifle joint cranially and caudally, 2. osteophytes at the distal patella, 3. the fabellae, 4. the tibial plateau, 5. lowering of the popliteus bone. A cranial displacement of the tibia cannot be noticed. (Photo: referring veterinarian).



Figure 2. Lateral view of the right stifle showing no abnormalities. (Photo: referring veterinarian).

callus formation and postpone its calcification. Demineralization, subperiosteal damage or pathological fractures were considered as consequences of the use of ultrasound. However, later on, it has been demonstrated that ultrasound can stimulate physiological processes without thermal effect, for example bone healing (Millis and Levine, 2014).

The effect of ultrasound is dose-dependent (Watson, 2008). Pulsed ultrasound with low intensity (LIPUS) is an example of mechanical energy going through tissues as acoustic pressure waves (Claes and

Willie, 2007). Depending on the density of the tissue, the ultrasound wave is absorbed and depending on the tissue absorption capacity, an effect occurs. The higher the amount of proteins and the lower the amount of water in the tissue, the higher the absorption of the ultrasound wave. Therefore, tendons, ligaments, fascia, joint capsules and scar tissue have the best absorption capacity. Bone also contains a lot of proteins and a small amount of water, but a large part of the waves is reflected at the bone surface (Watson, 2008). Thus, ultrasound is not capable of stimulating intact bone or a callus in the remodeling phase. It does stimulate the inflammation phase and the phase during which the softer callus is formed, as well as the formation of periosteal bone (Claes and Willie, 2007) by increasing osteoblast marker expression at both low (1,5 MHz) and high (3 MHz) frequencies (Monden et al., 2015). Hence, LIPUS ensures formation of a bigger callus and a faster return to the original bone strength. In addition, it influences all types of cells that play an important role in bone healing, such as osteoblasts, osteoclasts, chondrocytes and mesenchymal stem cells. Moreover, LIPUS influences the permeability of the cellular membrane and causes a higher cellular activity (Claes and Willie, 2007).

CASE REPORT

A six-year-old, male, neutered Bernese mountain dog was presented with acute lameness on the left hind limb. Trauma was unknown.

Physical examination revealed no abnormalities. On orthopedic examination, the dog was severely lame on the left hind limb (8/10). Palpation and manipulation revealed a severe swelling of the left stifle joint. The cranial drawer sign and tibial compression test were clearly positive and a mild click was noticed.

Radiographs of the left stifle showed joint effusion, osteophytes at the distal patella, the fabellae and the tibial plateau and lowering of the popliteus bone (Figure 1). Cranial displacement of the tibia could not be detected. The right stifle showed no abnormalities on orthopedic and radiographic examination (Figure 2).

Bilateral hip dysplasia was also diagnosed on radiography. Degenerative changes in the right hip were worse than in the left hip. Since the dog never had any related complaints, the degeneration was considered to be subclinical hip dysplasia (Figure 3).

Based on these findings, the dog was diagnosed with an acute cranial cruciate ligament rupture on the left stifle and subclinical bilateral hip dysplasia.

Initially, a conservative treatment with non-steroidal, anti-inflammatory drugs (NSAIDs) Cimicoxib (Vétoquinol, France) 2 mg/kg BID and Hill's™ j/d (Hill's Pet Products, USA) was started. Because of the unsatisfying results one week after conservative treatment, surgical treatment was advised. A tuberositas tibiae advancement (TTA) Rapid technique was



Figure 3. Cranio-caudal view of the hips and stifle joints. Clear hip dysplasia can be noticed, right is worse than left. (Photo: referring veterinarian).



Figure 4. Postoperative radiograph of the left stifle. 1. A fissure coming from the “maquet” hole is seen, 2. which required a screw for stability. (Photo: referring veterinarian).

performed (Samoy et al., 2015). During the operation, a complete rupture of the cranial cruciate ligament and an intact meniscus were seen. A 10.5/25 cage was used (width 10.5 mm, length 25 mm), followed by the application of hydroxyl-apatite bone paste. On postoperative radiographs, a fissure could be seen, originating from the “maquet” hole (Figure 4). Because of this complication, a 2.4-mm-position screw was placed to fix the bone. After surgery, restricted movement was advised, as well as cold-pack application for ten minutes four times a day for three days, the administration of NSAIDs for three weeks, antibiotics for five days and the supplement Kynosil® (Bioradix, Belgium), at 10 ml once a day.

One week later, the dog was examined by the referring veterinarian for a first follow-up visit. The first days after surgery, a positive evolution was noticed. Moderate lameness (5/10), moderate swelling of the joint and a mild periarticular crepitation in flexion were found. An almost normal stifle range of motion was present.

Five days later, the veterinarian was consulted again after the dog had escaped into the garden. He was acute lame on his left hind limb, sometimes without weight-bearing. Radiographs showed an avulsion fracture of the tibial tuberosity and a fissure of the proximal tibia (Figure 5).

Because of the minimal displacement and clinical presentation, the referring veterinarian opted for



Figure 5. Radiograph of the left stifle twelve days post surgery. 1. A distal fracture of the tibial tuberosity and 2. a fissure at the proximal tibia can be noticed. (Photo: referring veterinarian).



Figure 6. Radiograph of the left stifle, six weeks after ultrasound therapy. A clear callus is seen (arrows). (Photo: referring veterinarian).



Figure 7. Radiograph of the left stifle, three months after ultrasound therapy. A perfect callus with remodeling is visible (arrows). (Photo: referring veterinarian).

age rest. One week later, a splint was placed, which slipped down several times. Because conservative treatment was not successful, the dog was referred to the Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, where it was advised to start physiotherapeutic ultrasonography to stimulate the bone healing process. At that time, the dog was still lame on the left hind limb with minimal support on that leg. Eight sessions with ultrasound (pulsed rate (frequency $\frac{1}{4}$), 3 MHz, 0,35 W/cm², 19 minutes) and physiotherapeutic exercises were planned (first week four sessions, second week two sessions and third week two session). A help'em up™ dog harness helped to perform the therapeutic exercises.

The exercises consisted of cavaletti walks (ten repetitions), circle walks with the affected limb towards the centre (five minutes) and balance board. From the third week on (seventh session), slope walking with the affected limb alternating downhill an uphill was started to improve respectively weight bearing and muscle buildup. After the second session, easy home exercises were started as well. They consisted of balance board exercises (five minutes a day) and circle walks (five minutes a day). In a later stage, slope walking was also introduced as a home exercise.

At session three, the dog showed improved weight-bearing on the left hind limb. After eight sessions, a good evolution could be seen, but continuation of the same home exercises was recommended.

Six weeks later, moderate lameness (4/10) on the left hind limb was still visible, but was considered normal for this revalidation period. Palpation revealed moderate muscle atrophy and mild swelling of the stifle joint, with a normal range of motion. At the medial side, a hard swelling could be palpated. This callus tissue at the fracture site was clearly demonstrated on radiography (Figure 6). The continuation of the administration of the dietary supplement Kynosil® (Bioradix, Belgium) was advised at 10 ml once a day.

Three months post physiotherapy, a very mild lameness (2/10) on the left hind limb was noted, but not visible to the owners. Radiographs showed a perfect callus with remodeling (Figure 7).

Six months after physiotherapy, the dog was doing very well and the owners didn't notice any lameness anymore. Supplementation of Kynosil® (Bioradix, Belgium) (10 ml once a day) and Hill's™ j/d (Hill's Pet Products, USA) were to be continued. There were no signs of problems at the contralateral stifle joint or the hips.

DISCUSSION

Diseases in the stifle joint are a common cause of hind limb lameness in dogs. Cranial cruciate ligament rupture is the primary problem in this joint, especially in medium and large breed dogs, whether or not combined with meniscal tears (Jerram and Walker, 2003; Canapp, 2007; Comerford et al., 2011).

The dog in this case had the typical characterization of breed, age and activity for cranial cruciate ligament injury. It was a middle-aged, large breed dog, which was quiet and without a lot of exercise (Jerram en Walker, 2003; Witsberger et al., 2008; Comerford et al., 2011). It was not clear if this lack of exercise played a role in the development of the cranial cruciate ligament rupture.

Trauma was not known when the acute lameness occurred. Degenerative rupture is the most common cause of cranial cruciate ligament rupture and has a multifactorial nature, which is not yet fully clarified (Comerford et al., 2011). A possible explanation could be that the subclinical hip dysplasia creates an chronic overload of the stifle, causing the cruciate ligament to tear. However, this is very difficult to prove and requires more research.

Radiographs were made to assess the degree of osteoarthritis (Jerram and Walker, 2003) and to perform preoperative measurements for TTA Rapid surgery (Fossum et al., 2013; Samoy et al., 2015). The regions where osteophytes were seen in the present case, for example the distal patella, the fabellae and the region of attachment of the cranial cruciate ligament on the tibia, are similar to the regions described by Jerram and Walker (2003). A cranial displacement of the tibia was not noticeable. Even when a complete cranial cruciate ligament rupture is present, the cranial displacement is not always clearly visible. Therefore, a tibial compression test should be performed during radiography (Jerram en Walker, 2003).

Conservative treatment was started, although in large breed dogs, the treatment is often not sufficient to resolve the pain and inflammation caused by the ruptured cruciate ligament (Fossum et al., 2013).

Because of the unsatisfying results of the conservative therapy in the present case, surgical treatment was performed using an earlier version of the TTA Rapid technique. In this version, a “maquet” hole is created at the bottom of the osteotomy, with the intension to cope with the advancement forces (Ramirez et al., 2015; Samoy et al., 2015; Marques and Ibanez, 2016). However, it has been demonstrated that it may function as a stress-riser, increasing the risk of tibial fracture. Nowadays, only osteotomy is performed without creating a “maquet” hole in the tibia (Y. Samoy, personal communication, 2015).

Complications that may occur with any surgical technique, are infection, insufficient stabilization, meniscal damage and osteoarthritis (Fossum et al., 2013). Meniscal damage can be prevented by performing a meniscal release during surgery (Samoy et al., 2015). More specific complications of osteotomy techniques are patellar desmopathy (Fossum et al., 2013; Samoy et al., 2015) or problems with the osteosynthetic material (Cosenza et al., 2015). An example of a complication occurring specifically with TTA Rapid is fracture of the tibia, whereby the risk is higher if the technique with the “maquet” hole is used (Samoy et al., 2015).

In this case, a fracture of the tibial crest and a fissure of the proximal tibia occurred, because of undesired excessive activity after surgery. Placing a splint was not sufficient, so other treatment methods had to be considered: surgery or alternative conservative treatment. Surgery was not the best option in this case, because the fracture was already two weeks old, it was only slightly displaced and the dog still showed some weight-bearing. Ultrasound therapy was started. It has been demonstrated that ultrasound can increase vascularization and the callus formation, and a quicker return to the previous strength of the bone can be achieved (Claes and Willie, 2007; Mosselmans et al., 2013). This is caused by an effect on the permeability of the cellular membrane and by a higher cellular activity. Moreover, there is an increase in protein production, fibroplasia and a better synthesis of collagen, which contributes to a quicker healing and recovery.

However, this case report has a few limitations. First of all, there was no control group or animal to compare the evolution of healing with. Whether ultrasound therapy was the only reason why the bone regeneration happened so fast and smoothly, is hard to tell, since all exercises involving weight-bearing have a positive effect on bone healing (Wolff, 1986). However, in both the human and the veterinary literature, it has been well-described that ultrasound therapy has a beneficial influence on bone regeneration; hence, it can be assumed that it had at least some effect (Claes and Willie, 2007; Mosselmans et al., 2013).

A second limitation is that there was no objective method available to determine the degree of lameness. Ideally, a pressure plate examination should be performed to evaluate improvement of the limb function. Since this technique was not available, lameness evaluation was mostly done by an experienced veterinarian.

The long-term evaluation at six months was made using an owner telephone questionnaire. Since the perception of lameness by the owner may differ from the objectively perceived degree of lameness, there may be some bias here. However, the dog had not clinically deteriorated since the last veterinary consultation; hence if lameness was present, it may only have been to a very mild degree.

CONCLUSION

Osteotomy techniques are gaining more and more popularity when it comes to cranial cruciate ligament treatment. Although osteotomy techniques have been shown superior to lateral surgery techniques (Murphy et al., 2014), they may result in severe postoperative complications, especially when postoperative restrictions are not followed. Surgical correction of these complications is often necessary, but in minimally displaced cases, physiotherapeutic ultrasound can be a valid alternative in the treatment protocol.

REFERENCES

- Boudrieau R.J. (2009). Tibial plateau leveling osteotomy or tibial tuberosity advancement? *Veterinary Surgery* 38, 1-22.
- Canapp S.O. (2007). The canine stifle. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 22, 195-205.
- Claes L., Willie B. (2007). The enhancement of bone regeneration by ultrasound. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 93, 384-398.
- Comerford E.J., Smith K., Hayashi K. (2011). Update on the aetiopathogenesis of canine cranial cruciate ligament disease. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 24, 91-98.
- Cosenza G., Reif U., Martini F.M. (2015). Tibial plateau levelling osteotomy in 69 small breed dogs using conically coupled 1.9/2.5 mm locking plates. A clinical and radiographic retrospective assessment. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 28, 347-354.
- Fossum T.W., Dewey C.W., Horn C.V., Johnson A.L., MacPhail C.M., Radlinsky M.G., Schulz K.S., Willard M.D. (2013). *Small Animal Surgery*. Fourth edition, Elsevier Mosby, St. Louis, p. 1323-1343.
- Griffon D. J. (2010). A review of the pathogenesis of canine cranial cruciate ligament disease as a basis for future preventive strategies. *Veterinary Surgery* 39, 399-409.
- Ichinohe T., Kanno N., Harada Y., Yogo T., Tagawa M., Soeta S., Amasaki H., Hara Y. (2015). Degenerative changes of the cranial cruciate ligament harvested from dogs with cranial cruciate ligament rupture. *The Journal of Veterinary Medical Science* 77 (7), 761-770.
- Jerram R.M., Walker A.M. (2003). Cranial cruciate ligament injury in the dog: pathophysiology, diagnosis and treatment. *New Zealand Veterinary Journal* 51 (4), 149-158.
- Marques D.R.C., Ibanez J.F. (2016). Maquet and TTA technique combination for the treatment of cranial cruciate ligament rupture in dog. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 29, 98.
- Millis D.L., Levine D. (2014). *Canine Rehabilitation and Physical Therapy*. Second edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, p. 328-341.
- Monden K., Sasaki H., Yoshinari M., Yajima Y. (2015). Effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) with different frequency on bone defect healing. *Journal of Hard Tissue Biology* 24, 189-198.
- Mosselmans L., Samoy Y., Verleyen P., Herbots P., Van Ryssen B. (2013). Toepassingen van ultrageluid in de diergeneeskunde. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 82, 103-111.
- Murphy S.M., Chandler J.C., Brouman J.D., Bond L. (2014). A randomized prospective comparison of dogs undergoing tibial advancement or tibial plateau leveling osteotomy for cranial cruciate ligament rupture. In: Vezzoni, A., Taravella, E. (Editors). *Seventeenth ESVOT Congress 2014, Venice (Italy)*, p. 203-205.
- Ramirez J., Barthélémy N., Noël S., Claeys S., Etchepareborde S., Farnir F., Balligand M. (2015). Complications and outcome of a new modified Maquet technique for treatment of cranial cruciate ligament rupture in 82 dogs. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 28, 339-346.
- Samoy Y., Verhoeven G., Bosmans T., Van der Vekens E., de Bakker E., Verleyen P., Van Ryssen B. (2015). TTA Rapid: Description of the technique and short term clinical results of the first 50 cases. *Veterinary Surgery* 44, 474-484.
- Watson T. (2008). Ultrasound in contemporary physiotherapy practice. *Ultrasonics* 48, 321-329.
- Witsberger T.H., Villamil J.A., Schultz L.G., Hahn A.W., Cook J.L. (2008). Prevalence of and risk factors for hip dysplasia and cranial cruciate ligament deficiency in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 232, 1818-1824.

Fysaire dysplasie van de femurkop bij een jonge golden retriever

Femoral capital physeal dysplasia in a young Golden retriever

K.J.M. Van Hoof, E. Van der Vekens, Y. Samoy, E. de Bakker, E. Stock

Vakgroep Medische Beeldvorming van de Huisdieren en Orthopedie van de kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

Elke.VanderVekens@UGent.be

SAMENVATTING

Een één jaar oude, mannelijke, gecastreerde golden retriever werd aangeboden met chronisch progressieve symptomen van manken en pijn op de achterhand. Op orthopedisch onderzoek werden spieratrofie van de achterpoten vastgesteld, uitgesproken pijnreactie bij extensie van de heupen en crepitatie ter hoogte van beide heupgewrichten. Een ventro-dorsale radiografie van de heupen toonde een heterogeen aspect met radiolucente zones van beide femurhalzen. Er was bilateraal een craniale verplaatsing van de femurhals ten opzichte van de femurkop zichtbaar ten gevolge van een fractuur ter hoogte van de groeiplaat. De diagnose van bilaterale, fysaire dysplasie van de femurkop werd gesteld. Er werd een bilaterale femurkop en -halsexcisie uitgevoerd, waarna de hond fysio- en hydrotherapie onderging.

De diagnose van fysaire dysplasie van de femurkop kan gemist worden door de subtiele radiografische bevindingen in de beginfase. Desalniettemin is een correcte diagnose in een vroeg stadium essentieel, gezien de behandelingsopties bij verdere progressie van de aandoening afnemen.

ABSTRACT

A one-year-old, male, neutered Golden retriever was presented with chronic progressive symptoms of pain and lameness of the hind limbs. Orthopedic examination revealed muscle atrophy of both hind limbs, severe pain reaction at passive extension of the hips and crepitation on palpation of the coxofemoral joints. A ventrodorsal radiograph of the hips showed a heterogeneous appearance with the presence of osteolytic areas of both femoral necks. There was a bilateral cranial displacement of the femoral neck in respect to the head with a fracture through the physeal plate. Bilateral slipped capital femoral epiphysis disease was diagnosed. A bilateral femoral head and neck excision was performed, followed by physio- and hydrotherapy.

The diagnosis of femoral capital physeal dysplasia may be missed because of the subtle radiographic changes in the first stadia of the disease. An early diagnosis is of major importance because treatment options decrease with progression of the condition.

INLEIDING

Het volledig of gedeeltelijk loskomen van de proximale, femorale epifyse is bij honden meestal het gevolg van een trauma dat resulteert in een salter-harris-type I-fractuur door de proximale groeiplaat van de femur (Moores et al., 2004). Toch is reeds een aantal gevallen beschreven waarbij een dergelijk letsel gezien werd zonder voorafgaand trauma (Lee, 1976; Dupuis et al., 1997; Moores et al., 2004). Men spreekt dan van “slipped capital femoral epiphysis disease”

of “capital physeal dysplasia” (CPD) (Moores et al., 2004; Dennis et al., 2010; Guiot et al., 2015).

Gelijkaardige aandoeningen werden onder andere reeds beschreven bij mensen, varkens en katten (Vollmar et al., 1987; Loder et al., 2000; McNicholas et al., 2002).

Bij honden werden verschillende risicofactoren, zoals geslacht, ras, leeftijd en gewicht aangehaald, maar de exacte etiologie en pathogenese zijn nog steeds niet volledig bekend (Moores et al., 2004). Een vertraagde enchondrale ossificatie ter hoogte van de



Figuur 1. Ventro-dorsale opname van de heupen van de golden retriever op de leeftijd van elf maanden, waarop volgende milde afwijkingen reeds zichtbaar zijn: zones met een verminderde opaciteit in beide femurhalzen, “slipping” van de femurkop ten opzichte van de femurhals rechts en bilaterale spieratrofie (Radiografie genomen door de verwijzende dierenarts).



Figuur 2. Ventro-dorsale radiografie van de heupen op een leeftijd van dertien maanden. Volgende afwijkingen zijn zichtbaar: links is er een fractuur ter hoogte van de proximale, femorale groeiplaat en een heterogeen aspect van de femurhals met gedeeltelijke botresorptie. De rechterfemurkop is cranio-lateraal verplaatst ten opzichte van het acetabulum en de femurhals is op zijn beurt craniaal verplaatst ten opzichte van de femurkop. Er is ook uitgesproken spieratrofie zichtbaar.

groeiplaat, of osteochondrose, wordt verondersteld een rol te spelen in de pathogenese (Olsson en Ekman, 2002).

Gezien CPD verward kan worden met een traumatische groeiplaatfractuur van de proximale femur, is nauwkeurig onderzoek van de patiënt nodig om een correcte diagnose te kunnen stellen. Factoren die in de richting van CPD kunnen wijzen zijn het typische signalement van een jonge, mannelijke, gecastreerde hond met traag progressieve symptomen, zoals manken zonder voorafgaand trauma, pijn rond het heupgewricht en spieratrofie ter hoogte van de achterhand. Wanneer de aandoening vermoed wordt, volgt een radiografisch onderzoek (Moores et al., 2004). De meest karakteristieke afwijking op een gewone ventro-dorsale opname, een opname in kikkerhouding of een schuine ventro-dorsale opname is een variabele graad van verplaatsing of ‘weggliden’ van de femurkop (Dennis et al., 2010).

Hoe vroeger de aandoening onderkend wordt, hoe gevarieerder de behandelingsopties zijn. Bij acute gevallen met minimale, secundaire veranderingen kan er gekozen worden voor minimaal invasieve of open chirurgische fixatie, terwijl er bij chronische gevallen eerder geopteerd wordt voor het plaatsen van een heupprothese of het toepassen van een femurkop en -halsexcisie (Dupuis et al., 1997; Moores et al., 2004; Guiot et al., 2015).

CASUSBESPREKING

Een tien maanden oude, mannelijke, gecastreerde golden retriever vertoonde koorts, mankheid en pijn op de achterhand. Bij de eigen dierenarts werden radiografieën van de heupen genomen waarop milde afwijkingen te zien waren ter hoogte van de heupgewrichten: een heterogeen aspect van beide femurhalzen met kleine, ronde, radiolucente zones en een milde, cranio-laterale verplaatsing van de rechterfemurkop (‘slipping’). Bovendien was er bilaterale spieratrofie zichtbaar (Figuur 1). Er werd een behandeling opgestart met 4 mg/kg cimicoxib (Cimalgex, Vétquinol, Frankrijk) éénmaal daags gedurende vier weken gesupplementeerd met 2 mg/kg tramadol (Tramadol, I.C.C. B.V., Nederland) indien pijn werd geconstateerd. Ondanks de therapie verergerden de symptomen progressief. De hond werd aangeboden op de Faculteit Diergeneeskunde te Merelbeke, Universiteit Gent, op de leeftijd van dertien maanden.

Op orthopedisch onderzoek was een extreme spieratrofie van beide achterpoten zichtbaar. De hond liep met beide tarsi bijna tegen elkaar en vertoonde een waggelende gang. Bij extensie van de heupen kon er een erge pijnreactie uitgelokt worden en zowel rechts als links kon een duidelijke crepitatie gevoeld worden.

De radiografieën van de heupen werden op de Faculteit Diergeneeskunde te Merelbeke herhaald. Op de ventro-dorsale opname van de heupen was er een

erge bilaterale spieratrofie van de achterpoten zichtbaar (Figuur 2). Ter hoogte van het linker coxofemorale gewricht zat de femurkop nog op zijn plaats in het acetabulum, maar de femurhals vertoonde een uitgesproken craniale verplaatsing ten opzichte van de femurkop ('slipping'). De femurhals vertoonde ook een sterke vernauwing door uitgesproken botresorptie ("apple core appearance") en sclerose van de volledige, proximale metafyse van de femur. Bovendien was er craniaal een matige hoeveelheid onregelmatige nieuwbeenvorming aanwezig. De rechterfemurkop was cranio-lateraal verplaatst ten opzichte van het acetabulum en de femurhals was op zijn beurt caudaal verplaatst ten opzichte van de femurkop. Ook de femurhals vertoonde aan de rechterzijde een heterogeen aspect met matige tot uitgesproken botresorptie en sclerose ter hoogte van de volledige proximale metafyse van de femur.

Op basis van de bevindingen op de ventro-dorsale opname van de heupen, gecombineerd met de afwezigheid van trauma, kon de diagnose van bilaterale CPD met een verplaatste, pathologische fractuur van beide femurhalzen gesteld worden. Differentiaaldiagnosen die men in het achterhoofd moet houden bij een dergelijke casus zijn aseptische necrose van de femurkop, heupdysplasie, osteomyelitis en fracturen ter hoogte van de epifyse, femurhals of acetabulum (Dupuis et al., 1997; Isola et al., 2010).

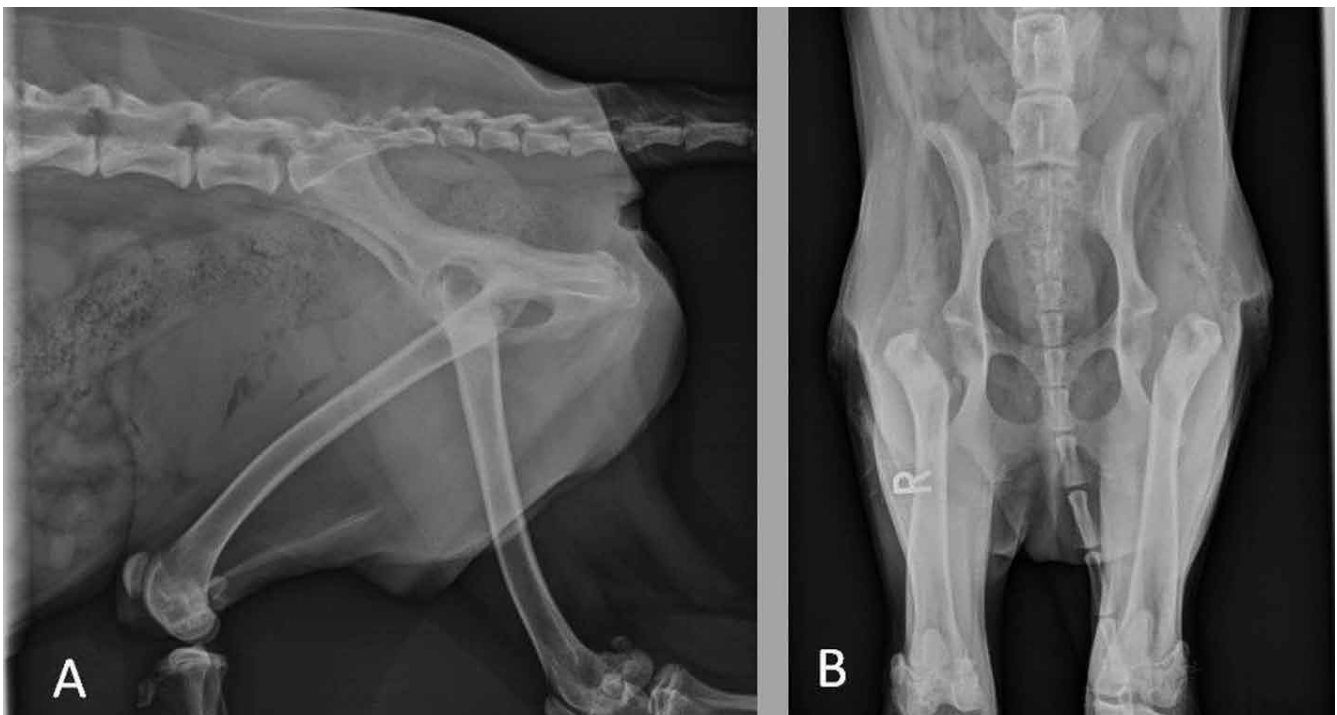
Als behandeling werd een bilaterale femurkop en -halsexcisie uitgevoerd, gezien het chronische karakter van de letsels. Het rechterheupgewricht werd cranio-lateraal benaderd. Na opening van het gewricht

kon gezien worden dat de femurkop los in het acetabulum zat. Deze werd eerst verwijderd en daarna vond de excisie van de femurhals plaats. De benadering en bevindingen voor het linkerheupgewricht waren dezelfde als voor het rechterheupgewricht. Er werd postoperatief opnieuw een ventro-dorsale radiografie van de heupen genomen om de complete excisie van femurkoppen en -halzen te bevestigen (Figuur 3).

De femurkop en -hals werden beiderzijds histopathologisch onderzocht. De belangrijkste bevindingen waren zones met sterke fibrose en necrotisch bot, osteoclasten die geassocieerd kunnen worden met botresorptie en clusters van chondrocyten. Vooral dit laatste is een typisch histopathologisch kenmerk van CPD (Agamanolis et al., 1985; Loder et al., 2000).

Na de operatie werd er een medicamenteuze therapie met 3 mg/kg cimicoxib opgestart, éénmaal daags, gedurende drie weken. Als bijkomend analgeticum werd er gekozen voor 2 mg/kg tramadol driemaal daags, dat gedurende enkele dagen na de operatie toegediend werd. Er werd ook een antibioticumtherapie opgestart met 12 mg/kg amoxicilline-clavulaanzuur (Clavaseptin, Vétoquinol S.A., Frankrijk) tweemaal daags gedurende een week.

Zeven dagen na de operatie werd gedurende drie weken fysiotherapie uitgevoerd, waarna ook wekelijks hydrotherapie werd toegepast. De hydrotherapie werd gedurende drie maanden wekelijks en daarna tweewekelijks verdergezet, in combinatie met stretchoefeningen thuis. Acht maanden na de operatie was de hond mank vrij.



Figuur 3. Postoperatieve radiografieën van de heupen. A. Postoperatieve, laterale opname van het bekken en de laatste lumbale wervels. B. Postoperatieve ventro-dorsale opname van de heupen.

Tabel 1. Overzicht van beschreven gevallen van SCFE.

Aantal	Ras	Geslacht	Leeftijd	Bron
2	Sheltie	MC	12,5 - 14 maanden	Dupuis et al., 1997
4	Labrador retriever (3), kruising (1)	O (3), V (1)	3 - 6 maanden	Lee, 1976
3	Labrador-retriever, sint-bernard, Engelse bullterriër	MC, M, V	6 - 10 maanden	Moore et al., 2004
15	Bordercollie (3), rottweiler (2), flat-coated retriever, golden-retriever, Italiaanse spinone, leonberger, Berner sennenhond, poedel, airdaileterriër, labrador-retriever, sint-bernard, kruising	M (7), MC (4), V (3), VC (1)	6 - 30 maanden	Gemmill et al., 2012

M: mannelijk, V: vrouwelijk, C: gesteriliseerd, O: onbekend

DISCUSSIE

In de literatuur is er weinig beschreven over CPD bij honden, wat doet vermoeden dat het een relatief zeldzame aandoening is (Tabel 1). Het is echter mogelijk dat deze aandoening ondergediagnosticeerd wordt, aangezien het lijkt op een traumatische salter-harris-type I-fractuur ter hoogte van de proximale groeiplaat van de femur. Om een onderscheid tussen beide te maken, is samen met een grondige evaluatie van de radiografische veranderingen, de aan- of afwezigheid van trauma in de anamnese belangrijk (Moore et al., 2004). Een van de belangrijkste radiografische afwijkingen, het verplaatsen van de femurhals ten opzichte van de femurkop of de 'slipping' van de femurkop, kan het beste gezien worden op een ventro-dorsale opname in kikkerhouding (Dennis et al., 2010). De groeiplaat is vaak verwijd en onregelmatig, de femurhals kan een heterogeen aspect vertonen en in meer chronische gevallen kan een versmalling van de femurhals ten gevolge van botresorptie opgemerkt worden (Dennis et al., 2010).

De golden retriever in de onderhavige casuïstiek vertoont grote gelijkenissen met de honden beschreven in de studies van Lee (1976), Dupuis et al. (1997) en Moore et al. (2004). In de literatuur wordt beschreven dat de honden tussen de drie en veertien maanden oud zijn wanneer de symptomen voor het eerst duidelijk worden. De meerderheid is mannelijk, maar gezien het kleine aantal honden kan deze bevinding niet als significant beschouwd worden (Lee, 1976). Labrador retrievers lijken gepredisposeerd, al is het totaal aantal honden beschreven in de literatuur te laag om van een rasprevalentie te spreken (Lee, 1976; Dupuis et al., 1997; Moore et al., 2004). Sterilisatie van voornamelijk immature dieren lijkt eveneens een predisponerende factor te zijn (Moore et al., 2004), aangezien dit resulteert in een vertraagde sluiting van de groeiplaten, waardoor ook de proximale groeiplaat van de femur gedurende een langere periode vatbaar zou kunnen zijn voor schade door in-

werkende krachten (Salmeri et al., 1991; Dupuis et al., 1997; Moore et al., 2004).

CPD werd eveneens beschreven bij katten (Craig, 2001). Het gaat net zoals bij honden om een relatief weinig voorkomende aandoening waarbij osteolyse van de femurhals ontstaat die secundair kan leiden tot een femurhalsfractuur zonder voorafgaand trauma (Verschoore et al., 2011). Bij katten wordt naast de term CPD ook de term metafysaire osteopathie gebruikt om de aandoening te benoemen (Adagra et al., 2015). De aandoening komt vooral voor bij jonge, mannelijke, gesteriliseerde katten van grotere rassen (Craig, 2001; Verschoore et al., 2011). Bij deze dieren lijkt chondrodysplasie van de proximale femorale groeiplaat aan de basis te liggen van de etiologie (Burke, 2003). Genetische factoren, endocriene aandoeningen, voedingsfactoren en obesitas lijken ook een rol te spelen (Craig, 2001). Bij honden kon nog geen oorzakelijk verband aangetoond worden tussen overgewicht en CPD, aangezien de lichaamsconditiescore van honden nog te weinig weergegeven wordt. De typische radiografische tekenen die bij katten met metafysaire osteopathie waargenomen kunnen worden, zijn grotendeels te vergelijken met deze die bij honden met CPD gezien worden (Bennett, 1994).

De behandelingsopties bij honden met CPD hangen af van de chroniciteit van de aandoening. In een acuut stadium kunnen open reductie- en interne fixatietechnieken toegepast worden. Een stabiele fixatie met accurate anatomische uitlijning resulteert meestal in een goede functie van het lidmaat, hoewel complicaties, zoals occasionele avasculaire necrose van de femurkop of frequenter voorkomende osteoartrose zich op lange termijn kunnen voordoen (DeCamp et al., 1989; Gibson et al., 1991; Gemmill et al., 2012). Om het vasculaire netwerk dat de femurkop en -hals voorzorgt, zo weinig mogelijk te verstoren en resorptie van de femurhals te vermijden, kan een gesloten reductie plaatsvinden onder fluoroscopie begeleiding (Guiot et al., 2015). Indien er reeds remodelling van de femurhals heeft plaatsgevonden, wordt er vaak ge-

kozen voor excisie van de femurkop en -hals in plaats van fixatietechnieken (Dupuis et al., 1997; Moores et al., 2004). Toch zijn de functionele resultaten van een femurkop en -halsexcisie vaak suboptimaal, zeker bij grote rassen (Off en Matis, 2010; Gemmill et al., 2012). Gemmill et al. (2012) toonden in een beperkte studie aan dat in gevallen waarin remodelling van de femurhals reeds plaatsgevonden heeft, een heupprothese vaak betere functionele resultaten geeft dan een femurkop en -halsexcisie. Zelfs na een femurkop en -halsexcisie kan het plaatsen van een heupprothese zorgen voor een beter functioneel herstel (Fitzpatrick et al., 2012).

CONCLUSIE

Fracturen ter hoogte van de proximale, femorale groeiplaat zijn meestal van traumatische oorsprong (Lee, 1976). Fysaire dysplasie is een eerder zeldzame aandoening bij honden, maar dient zeker in de lijst met differentiaaldiagnosen opgenomen te worden wanneer een jonge hond met heuppijn aangeboden wordt zonder een voorafgaand trauma. Dit geldt in het bijzonder voor grote rassen. Een grondige anamnese en een nauwkeurig klinisch en radiografisch onderzoek moeten samen met het signalement kunnen leiden tot het stellen van een correcte, vroege diagnose. Ondanks de vaak uitgesproken veranderingen op de radiografieën zijn er verschillende therapieën mogelijk met een goede prognose. Welke behandelingsoptie er gekozen wordt, hangt af van de chroniciteit van de aandoening, de kostprijs en de mogelijke complicaties van elke operatie.

REFERENTIES

- Adagra C., Spielman D., Adagra A., Foster D.J. (2015). Metaphyseal osteopathy in a British Shorthair cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 17, 367-370.
- Agamanolis D., Weiner D.S., Lloyd J.K. (1985). Slipped capital femoral epiphysis: a pathological study I. A light microscopic and histochemical study of 21 cases. *Journal of Pediatric Orthopedics* 5, 40-46.
- Bennett D. (1994). The musculoskeletal system. In: Chandler E.D., Gaskell C.J., Gaskell R.M. (Editors). *Feline Medicine and Therapeutics*. Second edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, p. 173-233.
- Burke J. (2003). Physeal dysplasia with slipped capital femoral epiphysis in a cat. *Canadian Veterinary Journal* 44, 238-239.
- Craig L.E. (2001). Physeal dysplasia with slipped capital femoral epiphysis in 13 cats. *Veterinary Pathology* 38, 92-97.
- DeCamp C.E., Probst C.W., Thomas M.W. (1989). Internal fixation of femoral capital physeal injuries in dogs: 40 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 194, 1750-1754.
- Dennis R., Kirberger R.M., Barr F., Wrigley R.H. (2010). Appendicular skeleton. In: Dennis R., Kirberger R.M., Barr F., Wrigley R.H. (2010). *Handbook of Small Animal Radiology and Ultrasound*. Second edition, Saunders Ltd, London, p. 51-83.
- Dupuis J., Breton L., Drolet R. (1997). Bilateral epiphysiolysis of the femoral heads in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 210, 1162-1165.
- Fitzpatrick N., Pratola L., Yeadon R., Nikolaou C., Hamilton M., Farrell M. (2012). Total hip replacement after failed femoral head and neck excision in two dogs and two cats. *Veterinary Surgery* 41, 136-142.
- Gemmill T.J., Pink J., Clarke S.P., McKee W.M. (2012). Total hip replacement for the treatment of atraumatic slipped femoral capital epiphysis in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 53, 453-458.
- Gibson K.L., VanEe R.T., Pechman R.D. (1991). Femoral capital physeal fractures in dogs: 34 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 198, 886-890.
- Guiot L.P., Demianiuk R.M., Déjardin L.M. (2015). Fractures of the femur. In: Tobias K.M., Johnston S.A. (2015). *Veterinary Surgery: Small Animal*. Volume 1, Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, p. 865-905.
- Isola M., Meggiolaro S., Ratto A., Crestani D., Furlan C., Gallo E., Petterino C. (2010). Clinical-pathological findings in two cats with slipped capital femoral epiphysis. *Comparative Clinical Pathology* 19, 107-113.
- Lee R. (1976). Proximal femoral epiphysal separation in the dog. *Journal of Small Animal Practice* 11, 669-679.
- Loder R.T., Aronsson D.D., Dobbs M.B., Weinstein S.L. (2000). Slipped capital femoral epiphysis. *Journal of Bone and Joint Surgery* 82, 1170-1188.
- McNicholas W.T., Wilkens B.E., Blevins W.E., Snyder P.W., McCabe G.P., Applewhite A.A., Lavery P.H., Breuer G.J. (2002). Spontaneous femoral capital physeal fractures in adult cats: 26 cases (1996-2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 221, 1731-1736.
- Moores A.P., Owen M.R., Fewst D., Coe R.J., Brown P.J., Butterworth S.J. (2004). Slipped capital femoral epiphysis in dogs. *Journal of Small Animal Practice* 45, 602-608.
- Off W., Matis U. (2010). Excision arthroplasty of the hip joint in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 5, 297-305.
- Olsson S.-E., Ekman S. (2002). Morphology and physiology of the growth cartilage under normal and pathologic conditions. In: Sumner-Smith G. (Editor). *Bone in Clinical Orthopaedics*. Thieme, Stuttgart, p. 117-155.
- Salmeri K.R., Bloomberg M.S., Scruggs S.L., Shille V. (1991). Gonadectomy in immature dogs: effects on skeletal, physical, and behavioural development. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 198, 1193-1203.
- Verschoore E., De Bakker E., Van der Vekens E., Van Ryssen B. (2011). Metafysaire osteopathie van de femur bij een Britse korthaar. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 80, 339-342.
- Vollmar H., Radschat H., Bollwahn W. (1987). The pathogenesis of epiphysiolysis in swine. *Tierärztliche Praxis* 15, 149-154.

Contemporary outbreaks of different avipoxviruses in Humboldt penguins of wild animal park Planckendael and in chickens of commercial poultry farms in Belgium

Gelijktijdige uitbraken van verschillende avipoxvirussen bij humboldtpinguïns in dierenpark Planckendael en bij kippen van commerciële pluimveebedrijven in België

¹V.R.A.P. Reddy, ²F. Vercammen, ¹I. Trus, ¹H.J. Nauwynck

¹Department of Virology, Parasitology and Immunology, Laboratory of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

²Centre for Research and Conservation-Royal Zoological Society of Antwerp, Koningin Astridplein 26, B-2018 Antwerp, Belgium

Reddy.Vishwanatha@ugent.be

ABSTRACT

In the present study, the first outbreak of a penguinpox virus (PPV) in Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*) and four outbreaks of fowlpox virus (FPV) in layer chickens are reported. Clinically, cutaneous wart-like growths were observed around the eyes in four juvenile Humboldt penguins and cutaneous nodular lesions in the comb, wattles, around the eyes and other unfeathered skin parts of layer chickens. Histopathology (FPV and PPV), electron microscopy (PPV), virus isolation (FPV) and PCR amplification (FPV and PPV) confirmed that both isolates were avipoxviruses (APVs). According to the phylogenetic analysis of the partial P4b core protein gene, the Belgian Humboldt PPV clustered with sequences of free-range (domestic and synanthrope bird species) and wild bird species of the United States and Europe (99 - 100% homology), and all four Belgian FPV isolates clustered with FPV isolates of chickens, turkeys, canary and FPV attenuated live vaccines from all over the world (100% homology).

SAMENVATTING

In de huidige studie worden de eerste uitbraak van een pinguïnpokkenvirus (PPV) bij humboldtpinguïns (*Spheniscus humboldti*) en een aantal uitbraken van pluimveepokkenvirus (FPV) bij legkippen beschreven. Huidgezwollen zoals wratten werden waargenomen ter hoogte van de ogen bij vier jonge humboldtpinguïns en cutane nodulaire laesies op de kam, lellen en op onbevederde huid alsook rond de ogen van legkippen. Histopathologie (FPV en PPV), elektronenmicroscopie (PPV), virusisolatie (FPV) en PCR-amplificatie (FPV en PPV) bevestigden dat beide isolaten behoren tot het genus avipoxvirus (APV). Volgens de fylogenetische analyse van het P4b-kerneiwitgen kunnen enerzijds de Belgische humboldt PPV's gegroepeerd worden met sequenties van vrije uitloop en wilde vogelsoorten van de Verenigde Staten en Europa (99-100% homologie) en anderzijds alle Belgische FPV-isolaten geclusterd worden met FPV-isolaten van kippen, kalkoenen, kanaries (scharrel- en wilde dieren) en verzwakte levende vaccins uit de hele wereld (100% homologie).

INTRODUCTION

Poxviruses in birds are classified within the family *Poxviridae*, subfamily *Chordopoxvirinae* and genus *Avipoxvirus* (APV) (<http://www.ictvonline.org>). APVs are the largest and most complex viruses known. Like other poxviruses, APVs are oval to brick-shaped enveloped viruses, which measure about 270 × 350 nm. APVs contain a linear double stranded DNA with

260,000 to 375,000 nucleotides, which encode more than 250 proteins (Gubser et al., 2004; Jarmin et al., 2006). APVs are known to infect at least 278 of the approximately 9,800 bird species. However, it is believed that all avian species are susceptible (Kane et al., 2012; Karstad, 1971; Van Riper and Forrester, 2007). At present, ten species are officially accepted under the genus *Avipoxvirus* (<http://www.ictvonline.org>), but most probably, many more unnamed APV

Table 1. Avian poxvirus outbreaks in Belgium during the period 2012 -2014: description and virus detection.

Identification	Date	Affected animals	Vaccination history	Gross lesions on CAMs		PCR		
				Pock lesions	Thickening	Material for DNA extraction	Result	GenBank accession number
14PL151	04/09/2014	Humboldt penguin	Not vaccinated	–	Not observed	Tissue lesions	+	KT343756
12PL020	11/01/2012	Chicken	Not vaccinated	+	Severe	Tissue lesions	+	KT343757*
12PL386	22/11/2012	Chicken	Vaccinated	+	Severe	Tissue lesions	+	KT343757*
12PL401	13/12/2012	Chicken	Not vaccinated	+	Severe	Tissue lesions	+	KT343757*
13PL034	07/02/2013	Chicken	Not vaccinated	+	Severe	Tissue lesions	+	KT343757*

*The nucleotide sequences of all FPV isolates were identical, hence a single nucleotide sequence was submitted (KT343757) to GenBank.

species or strains exist, as new isolates are continuously discovered from a wide variety of avian species (Boyle, 2007; Gyuranecz et al., 2013).

APVs are highly contagious and are transmitted via arthropod vectors or by direct contact with infectious particles or birds (Kane et al., 2012). Information on the pathogenesis of APV infections is usually derived from the prototype fowlpox virus (FPV), which infects chickens and turkeys. The FPV is a slowly spreading virus, which may lead to proliferative lesions that result in the formation of wart-like projections on the unfeathered parts of the body (cutaneous form) or fibrino-necrotic and proliferative lesions in the mucous membrane of the upper respiratory and digestive tracts (diphtheritic form) (Tripathy and Reed, 2003). The mortality rate is higher in the diphtheritic form than in the cutaneous form, and can reach up to 50% in young birds (Tripathy and Reed, 2003). Mortality rates are higher in canaries and finches (80 to 100%) than in chickens and turkeys (Weli and Tryland, 2011).

Worldwide, APV infections cause huge economic losses in poultry industry by lower body growth, drop in egg production and higher mortality (Gyuranecz et al., 2013; Tripathy and Reed, 2003). The effects of APV on wild bird species are also severe. APV infection in wild birds may lead to increased predation on the affected birds, trauma, secondary infections and death (Gyuranecz et al., 2013; Kane et al., 2012). APVs are risk factors for the decline of bird species in various islands and archipelagos, and conservation of endangered bird species. APV-infected, wild migratory birds pose a risk for zoos and aviaries (Gyuranecz et al., 2013).

Penguins are aquatic, flightless birds, living mainly on the southern hemisphere of the earth, especially in Antarctica. Based on the integrated taxonomic information system (ITIS), 19 species of penguins exist worldwide. Penguins are kept in captivity for exhibition, especially Humboldt penguins (*S. humboldti*). At present, most penguin species are threatened, according to the international union for conservation of nature. Infectious diseases are one of the important reasons for the vulnerability of penguin populations.

Earlier, poxvirus infections have been reported in penguin species of South Africa (*S. demersus*), Brazil, Argentina and islands of South America and North America (*S. magellanicus*). The poxvirus infection has also been observed in Humboldt (*S. humboldti*) and Gentoo penguins (*Pygoscelis papua*). In addition, the pox-like wart growth has been reported in Rockhopper (*Eudyptes chrysocome*) and Galapagos penguins (*Spheniscus mendiculus*) (Carulei et al., 2009; Gyuranecz et al., 2013; Kane et al., 2012; Niemeyer et al., 2013; Offerman et al., 2014).

The traditional laboratory diagnosis of APV is carried out by histopathologic examination, electron microscopy, virus isolation on chorioallantoic membrane (CAM) and serological analysis. In the last 15 years, molecular biological techniques like polymerase chain reaction (PCR) have been used for routine diagnosis. The partial P4b core protein gene of 578-base pairs (bp) is a highly conserved pan-genus marker of APVs and is commonly used for diagnosis (Gyuranecz et al., 2013; Huw Lee and Hwa Lee, 1997; Lüschoew et al., 2004; Manarolla et al., 2010; Niemeyer et al., 2013).

In Belgium, APV outbreaks have been rarely reported. However, in the period 2012 – 2014, an outbreak in four juvenile Humboldt penguins (*S. humboldti*) in wild animal park Planckendael and four outbreaks in Belgian commercial layer chickens were observed. Hence, the aim of the present study was to investigate these APV cases. The following laboratory investigations and examinations were performed: histopathology, electron microscopy, virus isolation and genetic characterization of the partial P4b core protein gene (pan-genus marker of APVs).

MATERIALS AND METHODS

Description of APV outbreaks

During the period from January 11th 2012 to September 4th 2014, a total of five APV outbreaks were recorded in the Flanders region of Belgium. One out-

break in four juvenile Humboldt penguins (*S. humboldti*) at the wild animal park Planckendael and four outbreaks in commercial poultry farms (Table 1).

Case history – penguins

A total of 71 Humboldt penguins (*S. humboldti*) (63 adults [26 males and 37 females] and 8 juveniles [6 males and 2 females]) were housed in wild animal park Planckendael, Flanders, Belgium. The adult penguins were born in zoos in Belgium, the Netherlands, France, the UK, Czech Republic, Germany, Sweden and Switzerland. On August 20th 2014, one male juvenile Humboldt penguin showed cutaneous wart-like lesions of \pm 2 mm diameter on the eyelids and subsequently, in another two male and one female juvenile penguins (Figure 1). Lesions were not observed in other skin parts of the infected juvenile Humboldt penguins. The penguins had not been vaccinated against avian pox. The infected juvenile Humboldt penguins were completely recovered on September 25th 2014.

Case history – fowl

Four outbreaks of pox disease occurred in layer chickens of commercial poultry farms during the period 2012 - 2013 in Flanders, Belgium. The veterinarian observed mainly cutaneous pox lesions in the comb, wattles, around the eyes and unfeathered skin parts of chickens of commercial layers. The detailed histories of the individual outbreaks were not recorded. According to the clinical lesions and hosts involved, fowlpox was considered as etiological agent. Vaccination against FPV was only performed on one (12PL 386) of the four farms (live attenuated vaccine) (Table 1).

The collected lesions of both penguins and chickens were submitted to the Laboratory of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University for diagnosis.

Histopathology

For histopathological examination, the lesions of the penguins and chickens were fixed in 10% buffered formalin and further embedded in paraffin, sectioned at 4 μ m and stained with hematoxylin and eosin.

Electron microscopy

The poxvirus in the crust lesion of the first infected male juvenile penguin was visualized with negative staining electron microscopy using 1% phosphotungstic acid.

Virus isolation on CAM

The tissue lesions of the penguin outbreak and all four chicken outbreaks were stored at -70°C until use. Twenty-percent-tissue homogenates were prepared and centrifuged from one penguin isolate and all four chicken isolates. Hundred μ l of the supernatant of the tissue homogenate was inoculated on the CAM of ten-days-old, embryonated SPF eggs. The inoculated eggs were incubated at 37°C for seven days and then examined for pocks on the CAM. Five passages were performed for the penguin sample and one passage was performed for all four chicken samples.

DNA extraction and PCR amplification

DNA was extracted from 200 μ l of a 20% suspension of lesions from affected penguins and chickens,



Figure 1. Nodular wart-like lesions on the eyelids of Humboldt penguins (*S. Humboldtii*) at wild animal park Planckendael, Belgium.

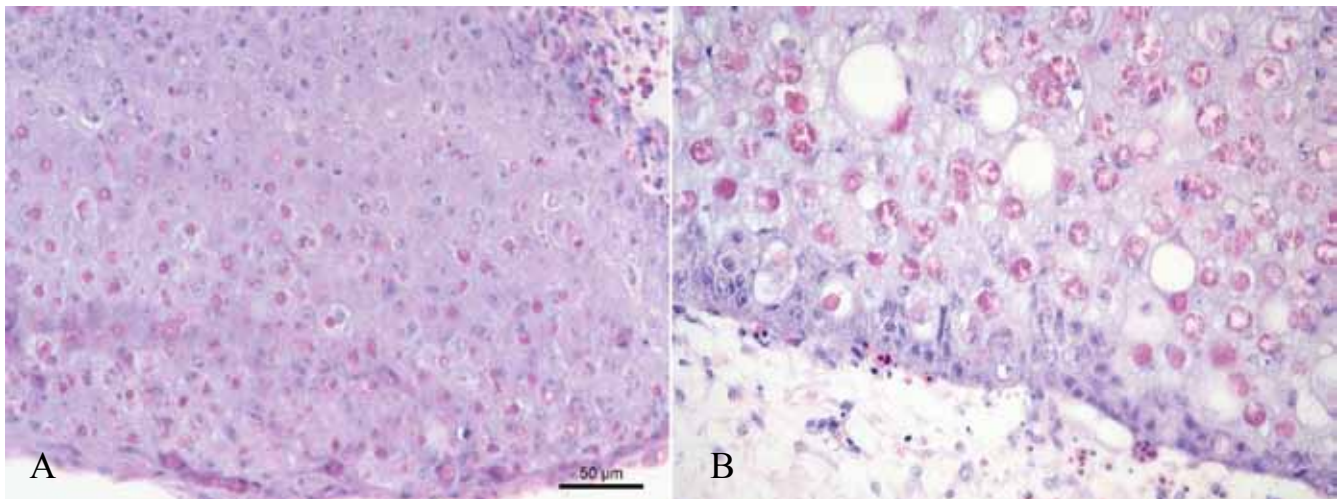


Figure 2A. Cutaneous crust lesions in a Humboldt penguin and 2B. chicken showing distended cytoplasm in epithelial cells with ballooning degeneration and large intracytoplasmic eosinophilic inclusions surrounded by a clear halo, consistent with Bollinger bodies. Hematoxylin and eosin staining.

and CAM of chickens using the QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany) following the manufacturer's guidelines with a final DNA elution volume of 60 µl. The DNA concentration was measured by NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, USA) and DNA samples were stored at -80°C until analysis. PCR was performed using Agilent's Herculase II fusion DNA polymerase (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA). DNA amplification was carried out in a final volume of 50 µl PCR reaction mixtures containing 10 µl of 5X Herculase II reaction buffer, 0.5 µl of 25 mM each deoxynucleoside triphosphate (dNTP) mix, 0.5 µl Herculase fusion DNA polymerase, 1.25 µl of each forward (10 µM) and reverse primers (10 µM), 5 µl of dimethyl sulphoxide (DMSO), 10 µl of template DNA and 21.5 µl of nuclease-free water.

The APV specific PCR was performed using a primer pair described by Huw Lee and Hwa Lee (1997) based on partial P4b sequence of FPV strain HP444 (forward primer: 5'-CAGCAGGTGCTAAACAA-CAA-3'; reverse primer: 5'-CGGTAGCTTAACGCC-GAATA-3'). Amplification was performed after initial denaturation for two minutes at 95°C for 35 cycles, and consisted of 15 seconds denaturation at 95°C, one minute annealing at 55°C, and 30 seconds extension at 72°C. A final extension step was performed for 15 minutes at 72°C. Then, 5 µl of the amplified PCR products were separated by 2% agarose gel electrophoresis and stained with ethidium bromide. PCR products of P4b gene with the specific size were purified by Macherey-Nagel kit (Macherey-Nagel GmbH, Duren, Germany), and both strands were sequenced by GATC Biotech AG (Konstanz, Germany).

Phylogenetic analysis of partial P4b gene sequence

Multiple sequence alignments were performed (primer sequences were excluded) using the ClustalW plug-in in the MEGA software version 5.2.2, followed

by manual editing (Tamura et al., 2011). Phylogenetic trees were constructed using the maximum-likelihood method. The substitution model was determined for partial P4b gene. The bootstrap values were determined from 1000 replicates of the original data. Nucleotide sequence identities were determined using the p-distance model. The partial P4b sequence of the Humboldt penguins and the chickens were compared to 90 sequences of different avian species.

GenBank accession number

The partial nucleotide sequence of the 4b core protein gene of juvenile Humboldt PPV was deposited in the GenBank database with accession number KT343756 (Table 1). The partial nucleotide sequences of the 4b core protein gene of the Belgian FPV isolates were identical, and therefore, a single nucleotide sequence was submitted to the GenBank with accession number KT343757 (Table 1).

RESULTS

Outbreak investigation

The present study was based on the pox lesions collected from juvenile Humboldt penguins of wild animal park Planckendael (one outbreak) and laying hens of commercial poultry farms (four outbreaks) during routine diagnostics through the period 2012 - 2014 in Belgium.

Histopathology

The histopathological evaluation of the skin lesions of both penguins and chickens revealed evidently swollen cells, which were characterized by large intracytoplasmic, pale eosinophilic inclusion bodies surrounded by a clear halo (Bollinger bodies) (Figure 2).

Electron microscopy

The electron microscopy revealed oval and brick shaped virus particles from a male juvenile penguin crust lesion. The morphology of the virus particles was consistent with APV.

Virus isolation on CAM

Macroscopically, the CAMs inoculated with the penguin samples did not show typical pock lesions even after five passages. All the chicken samples gave typical pock lesions on the CAMs after the first passage (Table 1).

PCR, sequencing and phylogenetic analysis of partial P4b gene

APV specific DNA was detected in the infected penguin and chicken samples. The size of the amplified products of the partial P4b gene was in agreement with the size (578bp) of the FPV published nucleotide sequences in GenBank (Lüschow et al., 2004; Manarolla et al., 2010). The Tamura's 3-parameter model with gamma distribution sites was used for the construction of a maximum likelihood phylogenetic tree of the partial 4b gene (Figure 3). According to the phylogenetic classification of Jarmin et al. (2006), the partial P4b gene sequence of the Belgian Humboldt (*S. humboldti*) poxvirus was grouped into clade B and the fowlpox virus into clade A. The partial P4b gene sequence of Belgian *S. humboldti* PPV clustered (cluster 1) with many poxvirus sequences of wild bird species of the USA and Europe in subclade B1 (100% homology). The partial P4b sequences of poxviruses from the *S. humboldti* penguin of Wisconsin zoo, the common bullfinch of a Belgian zoo and aviaries and the canary Fort Dodge vaccine were other important sequences of cluster1 of subclade B1 (100 - 99% homology). According to the partial P4b gene sequence, the poxviruses from *S. magellanicus* (Brazil and Argentina) and *S. demersus* (South Africa) penguins did not cluster (subclade A2, A3 and B1 [cluster 3]) with the poxvirus of the Belgian *S. humboldti* penguins (< 89 % homology). The partial P4b gene sequences of the Belgian fowlpox viruses clustered all together and also with the worldwide turkey, canary and fowl pox sequences, and most of the commercially available attenuated fowlpox vaccine (Diftosec CT [Merial], Nobilis Variole W [Intervet], Websters [Fort Dodge] and TAD pocken VAC) sequences in subclade A1 (100% homology).

DISCUSSION

In this study, the first outbreak of PPV in Humboldt penguins of wild animal park Planckendael, Belgium, and four outbreaks of FPV in chickens of Belgian commercial poultry farms are reported. Fur-

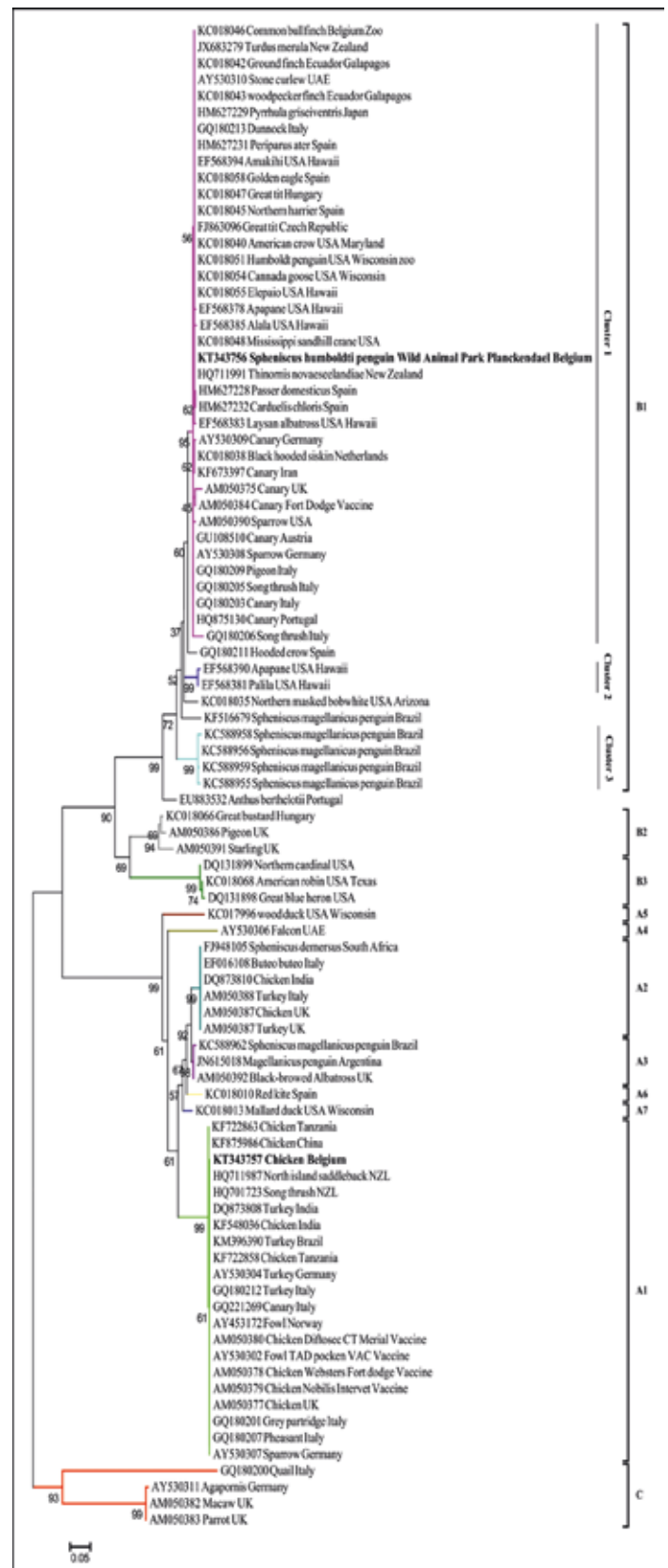


Figure 3. Maximum likelihood phylogenetic tree based on the pan-genus marker partial P4b core protein gene. Boot strap values (n = 1000 replicates) of <70% are not shown. Humboldt penguin and fowlpox partial P4b sequences (bold) were obtained during this study and aligned with 90 avian poxvirus sequences representing 11 different clades (A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, B1, B2, B3 and C) available in GenBank.

ther, the partial P4b gene sequence of PPV and FPV were phylogenetically characterized.

In the juvenile Humboldt penguins and the chickens, typical, cutaneous pox lesions were observed. The pox lesions of the penguins and chickens were consistent with other published reports of pox cases (Hansen, 1999; Kane et al., 2012; Rampin et al., 2007; Van Riper and Forrester, 2007; Weli and Tryland, 2011). The clinical observations were confirmed by histopathological examination and evaluation (PPV and FPV), electron microscopy (PPV) and virus isolation on the CAM of embryonated eggs (FPV). Even after five passages, no lesions were observed with material from the juvenile Humboldt penguins. The absence of pock lesions or less growth has been commonly observed in some of the APV strains, mainly from wild bird species (Krone et al., 2004; Manarolla et al., 2010; Tripathy and Reed, 2003).

The partial P4b gene amplification products of the expected size (578bp) were obtained from both the penguin and chicken samples in this study confirming the value of this PCR for APV infections (Gyuranecz et al., 2013; Ha et al., 2013; Huw Lee and Hwa Lee, 1997; Lüschoew et al., 2004; Manarolla et al., 2010; Niemeyer et al., 2013). According to the phylogenetic analysis of the partial P4b gene, the majority of APVs can be separated into three major clades: A (fowlpox virus), B (canarypox virus) and C (psittacinepox virus) (Gyuranecz et al., 2013; Jarmin et al., 2006). In the narrowest sense, subclade A1 is formed by fowlpox viruses and subclade B1 strictly comprises the canary poxviruses, which are further differentiated into three clusters (Gyuranecz et al., 2013; Niemeyer et al., 2013).

Based on the partial P4b gene sequence, the Belgian Humboldt PPV (*S. Humboldti*) was grouped in cluster 1 under subclade B1. Poxvirus of *S. Humboldti* was not grouped with poxviruses of *S. magellanicus* and *S. demersus*. It is possible that the poxviruses of subclade B1, cluster 1, may not be able to infect the *S. magellanicus* and *S. demersus* penguin species and vice versa (Carulei et al., 2009; Gyuranecz et al., 2013; Kane et al., 2012; Niemeyer et al., 2013; Offerman et al., 2014).

Although the poxvirus induced lesions completely healed in the *S. Humboldti* penguins of Planckendael wild animal park, it is important to discover and eliminate the source of the poxvirus infection in Planckendael wild animal park. The PPV outbreak occurred in August 2014, summer season in Belgium. This timing is in line with earlier APV outbreaks, where APV has been observed in penguins and great tits of Argentina and the UK, in the summer season (Kane et al., 2012; Lawson et al., 2012). There are two important factors that could contribute to the seasonal outbreak of APVs. During the summer period, the arthropod vectors may have mechanically transmitted the virus from infected wild and free-range birds to the penguins (Lawson et al., 2012). Otherwise, the car-

rier wild migratory birds may have directly transmitted infection to the penguins, as they passed over the Planckendael wild animal park. Based on the danger of cross species jumps of APVs, more surveillance and epidemiological studies should be performed on APVs in free-range and wild bird species in the natural avifauna of Belgium.

Infections with FPV are recurrently appearing in poultry farms of Europe (Lüschoew et al., 2004). Based on the partial P4b gene sequences, all the FPV isolates of Belgium were clustered in subclade A1 (100% nucleotide homology). In this subclade A1, FPV isolates of chickens, turkeys, canaries, and attenuated live vaccines from all over the world were present (Ha et al., 2013; Lüschoew et al., 2004; Manarolla et al., 2010). This indicates that FPV entered Belgium in the past, leading to current outbreaks.

At present, attenuated live vaccines are available against fowlpox, canarypox, pigeonpox and quailpox, but not against penguinpox. Although the vaccines have contributed to the prevention of pox disease in the different species, it is not known to what degree the currently available vaccines may give protection in Belgian penguin species.

In this study, one of the FPV outbreaks was observed in the vaccinated flock. There are many reasons for vaccination failure in fowlpox disease outbreaks. One of the important reasons is the drop of vaccination efficacy, and it is associated with the integration of reticuloendotheliosis virus (REV) into the FPV genome (Davidson et al., 2008; Fatunmbi and Reed, 1996; Singh et al., 2000; Tadese et al., 2008). Several authors have reported that the REV integration into the FPV genome has contributed to the increase of virulence in field outbreaks (Fatunmbi and Reed, 1996; Garcia et al., 2003). Thus, genetic characterization of the REV region is important to understand the pathogenesis and the virulence factors of the PPV and FPV isolates of the present study.

Even though the pan-genus marker partial P4b gene has been commonly used for phylogenetic analysis and classification of APVs, it is yet not understood whether certain amino acid sequences of the P4b gene products may be involved in host tropism and specificity. Host tropism and specificity determinants of APVs may be very complex because the genome size is large (260 to 365 kb) and complex in nature. More investigations on the whole genome sequences of emerging APVs may provide interesting information on the host tropism and specificity.

In conclusion, the present study exemplifies that a rapid and precise diagnostic approach easily leads to the identification of re-emerging poxviruses. Due to the frequent recurrence of APV infections, it is worth studying the molecular and cellular basis of the induction of lesions in penguin and fowlpox viruses both in vitro and in vivo. Better insights will pave the way to develop strategies for minimizing the formation of proliferative pox lesions.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Indian Council of Agricultural Research (ICAR, Pusa, New Delhi-110012 (29-1/2009-EQR/Edn)). Vishwanatha Reddy and Hans Nauwynck are members of the BELVIR consortium (IAP, phase VII) sponsored by Belgian Science Policy Office (BELSPO). The authors acknowledge Lieve Sys and Magda De Keyzer for their excellent technical assistance.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- Boyle, D.B. (2007). Genus avipoxvirus. In: Andrews, B.M., Axel, S., Olaf, W. (Editors). *Poxviruses*. Basel, Switzerland, 217-251.
- Carulei, O., Douglass, N., Williamson, A.L., (2009). Phylogenetic analysis of three genes of Penguinpox virus corresponding to Vaccinia virus G8R (VLTF-1), A3L (P4b) and H3L reveals that it is most closely related to Turkeypox virus, Ostrichpox virus and Pigeonpox virus. *Virology Journal* 6, 52.
- Davidson, I., Shkoda, I., Perk, S., (2008). Integration of the reticuloendotheliosis virus envelope gene into the poultry fowlpox virus genome is not universal. *Journal of General Virology* 89, 2456-2460.
- Fatunmbi, O.O., Reed, W.M., (1996). Evaluation of a commercial modified live virus fowl pox vaccine for the control of "variant" fowl poxvirus infections. *Avian Diseases* 40, 582-587.
- Garcia, M., Narang, N., Reed, W.M., Fadly, A.M., (2003). Molecular characterization of reticuloendotheliosis virus insertions in the genome of field and vaccine strains of fowl poxvirus. *Avian Diseases* 47, 343-354.
- Gubser, C., Hué, S., Kellam, P., Smith, G.L., (2004). Poxvirus genomes: a phylogenetic analysis. *Journal of General Virology* 85, 105-117.
- Gyuranecz, M., Foster, J.T., Dán, Á., Ip, H.S., Egstad, K.F., Parker, P.G., Higashiguchi, J.M., Skinner, M.A., Höfle, U., Kreizinger, Z., Dorrestein, G.M., Solt, S., Sós, E., Kim, Y.J., Uhart, M., Pereda, A., González-Hein, G., Hidalgo, H., Blanco, J.M., Erdélyi, K., (2013). Worldwide phylogenetic relationship of avian poxviruses. *Journal of Virology* 87, 4938-4951.
- Ha, H.J., Alley, M., Howe, L., Gartrell, B., (2013). Evaluation of the pathogenicity of avipoxvirus strains isolated from wild birds in New Zealand and the efficacy of a fowlpox vaccine in passerines. *Veterinary Microbiology* 165, 268-274.
- Hansen, W. (1999). General field procedures and diseases of birds. In: Friend M., J.C., F. (Editors) *Field Manual of Wildlife Diseases*. Madison, Wisconsin, 163-170.
- Huw Lee, L., Hwa Lee, K., (1997). Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of fowl poxvirus infection. *Journal of Virological Methods* 63, 113-119.
- Jarmin, S., Manvell, R., Gough, R.E., Laidlaw, S.M., Skinner, M.A., (2006). Avipoxvirus phylogenetics: identification of a PCR length polymorphism that discriminates between the two major clades. *Journal of General Virology* 87, 2191-2201.
- Kane, O.J., Uhart, M.M., Rago, V., Pereda, A.J., Smith, J.R., Van Buren, A., Clark, J.A., Boersma, P.D., (2012). Avian pox in Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*). *Journal of Wildlife Diseases* 48, 790-794.
- Karstad, L. (1971). Pox. In: Davis J.W., A.R.C.K.L., Trainer D.O. (Editors). *In Infectious and Parasitic Disease of Wild Birds*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 34-41.
- Krone, O., Essbauer, S., Wibbelt, G., Isa, G., Rudolph, M., Gough, R.E., (2004). Avipoxvirus infection in peregrine falcons (*Falco peregrinus*) from a reintroduction programme in Germany. *Veterinary Record* 154, 110-113.
- Lawson, B., Lachish, S., Colvile, K.M., Durrant, C., Peck, K.M., Toms, M.P., Sheldon, B.C., Cunningham, A.A., (2012). Emergence of a novel avian pox disease in British tit species. *PLoS One* 7, e40176.
- Lüschow, D., Hoffmann, T., Hafez, H.M., (2004). Differentiation of avian poxvirus strains on the basis of nucleotide sequences of 4b gene fragment. *Avian Diseases* 48, 453-462.
- Manarolla, G., Pisoni, G., Sironi, G., Rampin, T., (2010). Molecular biological characterization of avian poxvirus strains isolated from different avian species. *Veterinary Microbiology* 140, 1-8.
- Niemeyer, C., Favero, C.M., Kolesnikovas, C.K., Bhering, R.C., Brandão, P., Catão-Dias, J.L., (2013). Two different avipoxviruses associated with pox disease in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) along the Brazilian coast. *Avian Pathology* 42, 546-551.
- Offerman, K., Carulei, O., van der Walt, A.P., Douglass, N., Williamson, A.L., (2014). The complete genome sequences of poxviruses isolated from a penguin and a pigeon in South Africa and comparison to other sequenced avipoxviruses. *BMC Genomics* 15, 463.
- Rampin, T., Pisoni, G., Manarolla, G., Gallazzi, D., Sironi, G., (2007). Epornitic of avian pox in common buzzards (*Buteo buteo*): virus isolation and molecular biological characterization. *Avian Pathology* 36, 161-165.
- Singh, P., Kim, T.J., Tripathy, D.N., (2000). Re-emerging fowlpox: evaluation of isolates from vaccinated flocks. *Avian Pathology* 29, 449-455.
- Tadese, T., Fitzgerald, S., Reed, W.M., (2008). Detection and differentiation of re-emerging fowlpox virus (FWPV) strains carrying integrated reticuloendotheliosis virus (FWPV-REV) by real-time PCR. *Veterinary Microbiology* 127, 39-49.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28, 2731-2739.
- Tripathy, D.N., Reed, W.M. (2003). Poxvirus. In: Saif, Y.M.B., H.J. Glisson, J.R. Fadly, A.M. McDougald, L.R. Swayne, D.E. (Editors). *In Diseases of Poultry*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 253-269.
- Van Riper, C., Forrester, D.J. (2007). Avian Pox. In: Thomas N., H.B., Atkinson C.A. (Editors). *In Infectious and Parasitic Diseases of Wild Birds*. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, 131-176.
- Weli, S.C., Tryland, M., (2011). Avipoxviruses: infection biology and their use as vaccine vectors. *Virology Journal* 8, 49.

Neurologisch onderzoek bij paarden in de praktijk

Equine neurologic examination in practice

J. Rijckaert, L. Lefère, G. van Loon

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

Joke.Rijckaert@ugent.be

SAMENVATTING

Een grondig neurologisch onderzoek is aangewezen wanneer een paard tekenen vertoont van zenuwstoornissen maar ook in gevallen waarbij het belangrijk is te bevestigen dat een paard neurologisch normaal is. Het voornaamste doel van het neurologisch onderzoek is uitmaken of er neurologische afwijkingen zijn en in tweede instantie wordt getracht de primaire oorzaak en lokalisatie hiervan te achterhalen. Een gestandaardiseerde van-kop-tot-staartbenadering vermijdt dat er afwijkingen over het hoofd gezien worden. Daarom start het onderzoek steeds met het afnemen van een goede anamnese, observatie van het paard met aandacht voor het bewustzijn, gedrag, houding en stand en met een klinisch onderzoek. Vervolgens worden de kopzenuwen getest door middel van onder andere dreig-, pupil- en ooglidreflex. De hals, romp, ledematen en staart worden onderzocht om asymmetrieën of toegenomen of verminderde sensatie aan het licht te brengen. Daarna wordt het paard in beweging bekeken waarbij vooral de overgangen en het stappen in kleine cirkels en zigzaglijnen, gebreken in de coördinatie kunnen aantonen. Het onderscheid met orthopedische problemen is echter niet altijd eenvoudig te maken. Vooral paarden in laterale decubitus vormen een extra uitdaging voor de onderzoeker aangezien het neerliggen op zich reeds een afwijking in responsen kan veroorzaken. Bijkomend onderzoek is daarom vaak gewenst om een neurologisch probleem te bevestigen of om een letsel in beeld te brengen. Bloedonderzoek (algemeen, serologie, virusisolatie), lever- of spierbiopten, onderzoek van cerebrospinaal vocht en radiografieën kunnen in de praktijk uitgevoerd worden. In gespecialiseerde centra zijn elektrodiagnostische testen beschikbaar en uitgebreide beeldvormingsmogelijkheden (CT, MRI, scintigrafie). Door deze technieken te combineren met het klinisch neurologisch onderzoek kan een (differentiaal)diagnose (op)gesteld worden.

ABSTRACT

A thorough neurologic examination is required when a horse shows signs of neurological disease or when it has to be confirmed that the horse is neurologically normal. The main purpose of the examination is to investigate whether there are neurological deficits. In addition, the identification of the primary cause and localization of the lesion should be attempted. A standardized head-to-tail approach helps to avoid overlooking important lesions. Therefore, the examination always starts with a thorough patient history, observation of the horse with special attention to mental state, behavior, posture and stance, and a clinical examination. Subsequently, the cranial nerves are tested by investigating, amongst others, the menace, light and palpebral responses. The neck, trunk, limbs and tail are examined for asymmetry or hypo- or hypersensitivity. Afterwards, the movements of the horse are inspected. Incoordination of the horse is accentuated during transitions, small circles and zig zag lines. However, the difference with orthopedic problems is not always easy to make. Especially horses in lateral recumbency present an extra challenge as recumbency itself may cause a change in responses. Further examinations are often necessary to confirm neurologic disease or to visualize a lesion. Blood examination (general, serology, virus isolation), liver or muscle biopsies, examination of cerebrospinal fluid and radiographs are feasible to perform in practice. In specialized hospitals, electro-diagnostic tests and advanced medical imaging (CT, MRI, scintigraphy) are available. By combining these techniques with the clinical neurologic examination, a (differential) diagnosis can be made.

INLEIDING

Een grondig neurologisch onderzoek is vanzelfsprekend aangewezen wanneer een paard tekenen vertoont van zenuwstoornissen, zoals abnormaal bewegen, algemene zwakte of veranderd gedrag, maar ook wanneer het belangrijk is te bevestigen dat een paard neurologisch normaal is. Bijvoorbeeld in het kader van een aankoopkeuring is een gestructureerd neurologisch onderzoek onmisbaar (Johnson, 2010; Aleman, 2015). Het voornaamste doel van dit onderzoek is namelijk uitmaken of er neurologische afwijkingen zijn. Zo kunnen een veranderd gedrag, bewustzijn of algemene zwakte wijzen op centrale stoornissen (trauma, encefalitis, etc.) maar ook metabole stoornissen, zoals hepato-encefalopathie of hypoglykemie, kunnen aan de basis liggen. De oorzaak van onregelmatig bewegen kan neurologisch zijn, maar ook een orthopedische etiologie is mogelijk. In tweede instantie wordt getracht het letsel te lokaliseren (Furr en Reed, 2008), waarna door middel van bijkomend onderzoek (beeldvorming, bloedonderzoek, “magnetic motor evoked potentials” (MMEP), electromyografie (EMG)) geprobeerd wordt de primaire oorzaak te achterhalen. Differentiaal diagnostisch wordt gedacht aan trauma, infectie (rinopneumonie, westnilevirus, bacteriële encefalitis), immuungemedieerde aandoeningen (polyneuritis equi), degeneratieve aandoeningen (equine degeneratieve myelencefalopathie, neuro-axonale dystrofie), ontwikkelingsstoornissen (wobblersyndroom), intoxicaties, neoplasie, etc. (Rech en Barros, 2015).

Om te vermijden dat er afwijkingen gemist worden, is het aangeraden een vaste structuur te ontwikkelen betreffende het neurologisch onderzoek. Zolang de veiligheid van zowel onderzoeker, paard als eigenaar niet in het gedrang komt, wordt het onderzoek steeds systematisch doorlopen. Er wordt gestart met het verzamelen van informatie betreffende signalement, anamnese, bedoeld gebruik van het paard, het medisch verleden en een grondig klinisch onderzoek. Vervolgens worden gedrag en bewustzijn, kopzenuwen, houding en proprioceptie, beweging en reflexen stap voor stap beoordeeld (Aleman, 2015). Paarden in laterale decubitus zorgen voor een extra uitdaging aangezien (langdurige) decubitus kan zorgen voor secundaire perifere neuropathieën of veranderde responsen (Furr en Reed, 2008).

NEUROLOGISCH ONDERZOEK

Signalement en anamnese

De leeftijd, het geslacht, het ras, het gebruiksdoel en de waarde van het paard leveren waardevolle informatie naar diagnose en prognose toe. Bepaalde aandoeningen zijn leeftijdsafhankelijk, worden vaker vastgesteld bij één geslacht of komen typisch voor bij bepaalde rassen. Zo worden cervicale, vertebrale

malformatie en malarticulatie (wobblersyndroom) voornamelijk gezien bij jonge warmbloedpaarden en volbloeden, met een hogere prevalentie bij de mannelijke dieren (Van Biervliet, 2007), terwijl artrose van de facetgewrichten met compressie van het ruggenmerg in de nek vooral bij oudere paarden vastgesteld wordt, zonder predispositie betreffende ras of discipline (Down en Henson, 2009). Juvenile epilepsie en cerebellaire abiotrofie komen dan weer typisch voor bij Arabische volbloedveulens (Fanelli, 2005; Aleman et al., 2006; Brault en Penedo, 2011), terwijl tumoren eerder voorkomen bij oudere dieren en melanomen typisch gezien worden bij paarden met een schimmelkleur. Hyperkaliëmische periodieke paralyse (HYPP) is een dominant erfelijke aandoening die enkel bij quarter horses of kruisingen hiermee, voorkomt en bij aangetaste dieren episodes van zwakte, spiertrillingen en collaps veroorzaakt (Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999). Het gebruiksdoel en de economische of emotionele waarde van het paard zijn soms limiterende factoren wat betreft uitgebreid onderzoek en prognose. Wanneer een paard op topsportniveau moet presteren, hebben subtiele afwijkingen meer belang dan wanneer het zijn tijd als gezelschapspaard in de weide mag doorbrengen.

De primaire klacht is vanzelfsprekend elementair, maar informatie over de precieze omstandigheden, de omgeving, de mate van contact met andere paarden en de evolutie van de symptomen kan het onderzoek snel in de juiste richting sturen. Congenitale of familiale stoornissen komen vaak al vroeg in het leven tot uiting en kennen een langzame progressie, terwijl de symptomen na trauma juist zeer plots opduiken en vaak snel stabiliseren of verbeteren. De evolutie van infectieus, toxisch, metabool of nutritioneel geïnduceerde zenuwstoornissen is variabel (Mayhew, 2009).

Onderzoek in rust

Een van de belangrijkste onderdelen van het neurologisch onderzoek is observatie. Door het paard vanop afstand te bekijken kunnen het gedrag, het bewustzijn en de positie van het hoofd, de nek, de romp en de benen snel beoordeeld worden (Mayhew, 2009). Een normaal paard kijkt alert rond en heeft aandacht voor de omgeving. Wanneer het paard wel nog reageert op prikkels uit de omgeving maar veel rustiger is dan gewoonlijk, is er sprake van een verminderd bewustzijn. Stuporeuze paarden reageren enkel op sterke prikkels maar lijken verder niet bij bewustzijn te zijn terwijl paarden in coma op geen enkele prikkel meer reageren (Aleman, 2015). Plotse veranderingen in bewustzijn of gedrag, zoals abnormale agressie of angst, kunnen wijzen op intracraniale problemen, zoals encefalitis (equine herpesvirus, westnilevirus, bacteriële encefalitis), abscessen (*S. equi*, *Rhodococcus*, *E. coli*), etc. (Cornelisse et al., 2001), tumoren (cholesterolgranuloma, hypofyse-adenoorm, etc.) (Manso-Diaz et al., 2015) of hepatische encefalopathie (door senecio-intoxicatie, mycotoxinen, etc.). Hier zijn het verhaal



Figuur 1. A. “Head tilt” naar links bij een paard met otitis media en interna ter hoogte van het linkeroor. B. “Head tilt” naar rechts met facialisparalyse rechts (afhankelijk oor, ooglid en lip) veroorzaakt door otitis media en interna ter hoogte van het rechteroor.

en de perceptie van de eigenaar van groot belang: subtiele veranderingen in het gedrag worden vaak eerst opgemerkt door de eigenaar maar zijn daarom niet altijd opvallend tijdens het onderzoek. Anderzijds kan dit veranderd gedrag een niet-neurologische oorsprong hebben en ontstaan ten gevolge van pijn of aangeleerd zijn (Aleman, 2015). Asymmetrie van het aangezicht, zoals een afhanginge lip, oor of ooglid, komt voort uit problemen met de nervus facialis. Een kanteling van het hoofd of “head tilt”, vaak met pathologische nystagmus, wijst op vestibulaire problemen die bijvoorbeeld veroorzaakt kunnen worden door trauma of otitis (Figuur 1). Wanneer niet alleen het hoofd maar ook de hals betrokken is in de draaiing ten gevolge van letsels ter hoogte van de grote hersenen, is er sprake van “head turn”. Bij een normaal paard is de hals symmetrisch en kan deze vlot omhoog en naar beneden gebracht en links en rechts gebogen worden (Figuur 2). De normale positie van het hoofd is hoger dan de schoft, een lagere hoofdhouding kan wijzen op aandoeningen die neuromusculaire zwakte veroorzaken, bijvoorbeeld botulisme of erge nekpijn. Bij normale paarden worden de ledematen onder de massa geplaatst en wordt het gewicht gelijkmatig over de vier benen verdeeld (Furr en Reed, 2008). Wijdbeense, nauwe of gestrekte stand is indicatief voor proprioceptiestoornissen. Paarden met “equine motor neuron disease” (EMND) vertonen dan weer duidelijk spiertrillingen en plaatsen de ledematen duidelijk onder zich (Figuur 3).

Na deze algemene observatie wordt het paard van dichtbij bekeken. De meeste klinici verkiezen een vaste van-kop-tot-staart-benadering omdat dit de kans verkleint dat afwijkingen over het hoofd gezien worden. In Tabel 1 wordt weergegeven welke testen gebruikt worden om de functionaliteit van de verschillende kopzenuwen te beoordelen. Heel belangrijk betreffende het zicht van het paard is de dreig- en de pupilreflex. Blindheid wordt enerzijds getest door het paard in een vreemde omgeving te laten bewegen maar bij paarden met een abnormaal bewustzijn of



Figuur 2. Door middel van een wortel wordt getest of de hals vlot geplooid kan worden. Het paard moet zonder problemen de thorax kunnen bereiken zonder dat het hoofd extreem gekanteld of de hals naar beneden gebracht moet worden.

duidelijke evenwichtsstoornissen kan de interpretatie hiervan moeilijkheden opleveren. De dreigreflex test de bewuste waarneming van een prikkel. Hierbij moet echter opgemerkt worden dat luchtverplaatsing in de buurt van het oog of het aanraken van de wimpers, ook het sluiten van de oogleden kan uitlokken en zo een valspositief resultaat kan opleveren (Mayhew, 2008). Anderzijds kan de test afwijkend zijn bij jonge veulens (aangeleerde respons) en cerebellaire aandoeningen (ook intentietremor en hypermetrische gang aanwezig) terwijl de dieren wel een normaal zicht hebben (Furr en Reed, 2008). Wanneer met een lampje in het oog geschenen wordt, veroorzaakt dit normaal pupilconstrictie in dat oog (= directe pupilreflex) maar ook in het contralaterale oog (= indirecte pupilreflex). Door de dreigreflex te combineren met de pupil- en de ooglidreflex kan getracht worden een eventueel letsel te lokaliseren. De ooglidreflex moet bevestigen dat de oogleden gesloten kunnen worden, terwijl een normale pupilreflex de abnormaliteiten van het oog, nervus opticus, hersenstam en nervus oculomotorius uitsluit. Een abnormale pupilreflex in combinatie met een normale dreigreflex wijst op problemen met de nervus oculomotorius (vaak is er ook een abnormale positie van de ogen) terwijl een normale pupilreflex en een abnormale dreigreflex cerebrale stoornissen indiceren (Mayhew, 2008). De nervus sympaticus heeft echter ook invloed op de pupilgrootte en de positie van de oogleden. Disfunctie van de sympaticus resulteert in het hornersyndroom: meestal unilateraal ptosis (afhangen van het ooglid), miosis (constrictie van de pupil) en protrusie van het derde ooglid in combinatie met zweten ter hoogte van het hoofd en craniale gedeelte van de nek (Furr en Reed, 2008). De dieren hebben wel een normaal zicht met normale dreig- en pupilreflexen.

Vervolgens kunnen de hals, de rug, de lendenen en de achterhand gepalpeerd worden op zoek naar asymmetrie, spieratrofie of pijnlijke zones. Voor een correcte beoordeling is het echter wel belangrijk dat het paard de hals en het lichaam recht houdt en

vierkant staat. Verder kan de panniculareflex getest worden door stimulatie van de huid, wat moet resulteren in een contractie van de huidspieren. Ter hoogte van de schouderregio is er wel een variabele zone waar geen reflex opgewekt kan worden en typisch wordt de respons minder duidelijk naar mate meer naar caudaal gestimuleerd wordt. Ondertussen wordt er gelet op plaatsen met verminderde of juist toegenomen huidgevoeligheid of abnormaal zweeten ten gevolge van sympathische denervatie. De staarttonus, de anusreflex en de perianale reflex worden ook getest. Afwijkingen in deze regio worden vaak geassocieerd met herpesvirus myeloencefalitis (Furr en Reed, 2008). Pees- en buigreflexen zijn in tegenstelling tot bij kleine huisdieren moeilijk te testen bij het rechtstaande paard en zijn bovendien weinig betrouwbaar (Johnson, 2015).

Onderzoek in beweging

Manken of onregelmatig bewegen heeft een orthopedische en/of neurologische oorzaak (Aleman, 2015). Het onderscheid wordt in principe gemaakt op basis van de regelmatigheid van de onregelmatige beweging maar afhankelijk van de duidelijkheid van de symptomen kan bijkomend onderzoek echter noodzakelijk zijn (Licka, 2011). Over het algemeen vertoont een paard met een orthopedisch probleem een regelmatige onregelmatigheid: bij elke pas toont het dezelfde afwijking. Daartegenover staat de onregelmatige onregelmatigheid bij atactische paarden: ze vertonen ook een afwijkende plaatsing van de voet, maar deze varieert bovendien van pas tot pas. Neurologisch veroorzaakte afwijkingen in de beweging komen duidelijker tot uiting bij lage snelheid of in stilstand dan bij hoge snelheid. De reden hiervoor is dat beweging bij hoge snelheid voornamelijk cerebraal gecoördineerd wordt, terwijl bij lagere snelheden de sensorische input een grotere invloed heeft op de motorische output. Aangezien bij paarden met spinale ataxie deze sensorische feedback verminderd is, worden de afwijkingen geaccentueerd bij lagere snelheden. Paarden worden dus het beste bekeken tijdens stilstand, in trage stap, met herhaaldelijk abrupt stop-

pen, en in een rustige draf en galop met veel overgangen (Licka, 2011). Concreet zou het bewegingsonderzoek minstens volgende onderdelen moeten bevatten (Mayhew, 2009; Licka, 2011, Aleman, 2015):

- Traag stappen op de rechte lijn
- Zigzag stappen
- Achterwaarts gaan
- Trekken aan de staart in rust en tijdens beweging met aandacht voor de weerstand die het paard biedt, de paslengte en het plaatsen van de voeten
- Kleine cirkels stappen in beide richtingen
- Draf op de rechte lijn
- Verschillende overgangen stap – draf
- Verschillende overgangen draf – galop

Waar mogelijk kan dit onderzoek aangevuld worden met het lopen op een helling, het blinddoeken van het paard of bewegen met het hoofd omhoog om de symptomen te accentueren. Mogelijke, vast te stellen afwijkingen in de beweging zijn: dysmetrie (hyper- of hypometrie met slepen van de teen), incoördinatie (ataxie), parese, zwakte of specifieke afwijkingen ten gevolge van zenuwuitval, bijvoorbeeld radialispara-



Figuur 3. Paard met vrij typische symptomen van “equine motor neuron disease”. Het paard staat met opgetrokken buik. Vaak vertonen ze spiertrillingen en houden ze de staart in abnormale positie. De ledematen staan te ver onder de massa geplaatst.

Tabel 1. Functietesten van de kopzenuwen (naar: Furr en Reed, 2008).

Test	Geteste zenuw	Interpretatie/abnormale respons
Dreigreflex	Opticus (II), facialis (VII)	Niet knipperen met de ogen wijst op blindheid, moet gedifferentieerd worden van facialis disfunctie
Pupilreflex	Opticus (II), oculomotorius (III)	Geen constrictie van de pupil
Gevoel aangezicht	Sensorische tak facialis (VII)	Geen reactie op stimulatie
Symmetrie aangezicht	Motorische tak facialis (VII)	Afhangend(e) oor of lip
Ooglidreflex	Trigeminus (V), facialis (VII)	Knipperen met de ogen lukt niet
Nystagmus	Oculomotorius (III), vestibulair systeem	Vestibulaire stoornissen (perifeer of centraal)
Slikken	Glossofaryngeus (IX), vagus (X)	Onmogelijkheid tot slikken
Tongtonus	Hypoglossus (XII)	Tong wordt niet teruggetrokken of zwakke tonus

Tabel 2: Graden van ataxie (naar: Mayhew et al., 1978).

Graad	Beschrijving
0	Geen neurologisch afwijkingen
1	Subtiële neurologische afwijkingen, duidelijker bij achterwaarts bewegen en draaien
2	Milde neurologische afwijkingen, continu zichtbaar, duidelijker bij achterwaarts en draaien
3	Duidelijke neurologische afwijkingen met tendens tot struikelen of vallen bij draaien of achterwaarts bewegen, abnormale stand in rust
4	Frequent struikelen en zelfs vallen in beweging
5	Laterale decubitus

lyse, femoralisparalyse, etc.). Paarden met proprioceptieve stoornissen kunnen frequent struikelen, slijpen met de teen, trappen op hun voeten en hebben vaak een ongelijke paslengte. Bij het plots stoppen of achterwaarts gaan, vertonen deze paarden een variabele positie van de ledematen (Aleman, 2015). Door de proprioceptieve stoornis hebben de paarden vaak moeite met galopperen, ze nemen vaak kruisgalop en kunnen de galop niet lang aanhouden. Ze vertonen over het algemeen weinig evenwicht (Licka, 2011).

Bij paarden met orthopedische problemen is de afwijking vaak gelokaliseerd ter hoogte van één been. De paarden nemen kortere passen met het aangetaste been, wat in galop resulteert in “bunny hopping”. Bovendien heeft inspanning vaak een invloed op de beweging: in gevallen van artrose worden de symptomen minder duidelijk naarmate het paard langer in beweging is, terwijl dit bij acute artritis juist omgekeerd is. Manke paarden vertonen over het algemeen minder wil om te werken en verbeteren onder invloed van ontstekingsremmers (Furr en Reed, 2008; Licka, 2011).

Eens de diagnose ataxie gesteld is, kan er een gra-

datie toegekend worden en kan de ataxie getypeerd worden. Het graderingssysteem wordt weergegeven in Tabel 2. Wat betreft het type dient een differentiatie gemaakt te worden tussen vestibulaire, cerebellaire en spinale ataxie. Cerebellaire ataxie komt voornamelijk voor bij Arabische volbloedveulens met cerebellaire abiotrofie en af en toe in gevallen van compressie of inflammatie van het centrale zenuwstelsel. Typische symptomen zijn symmetrische ataxie met intentietremor en hypermetrie, een negatieve dreigreflex en afwezigheid van zwakte. Vestibulaire ataxie wordt typisch beschreven als een asymmetrische ataxie met “head tilt”, pathologische nystagmus en cirkelgang. De symptomen worden vaak duidelijker na het blinddoeken van het paard. Spinale ataxie komt het meest voor en gaat gepaard met een gebrekkige input van proprioceptieve (sensorische) informatie naar het cerebellum eventueel gecombineerd met spasticiteit of parese (Furr en Reed 2008; Aleman, 2015). Spasticiteit is een toegenomen tonus van de spieren door verminderde inhibitie van de “lower motor”-neuronen (LMN) bij gevallen van “upper motor”-neuron (UMN) -aandoeningen. De cellichamen van de LMN

Tabel 3. Bepalen van een cervicale (C), thoracale (T), lumbale (L) of sacrale (S) lokalisatie van het letsel is mogelijk aan de hand van de neurologische symptomen. UMN symptomen zijn spastische gang, proprioceptiestoornissen en zwakte of hypermetrie, LMN symptomen zijn zwakte en spieratrofie (naar: Furr en Reed, 2008; Aleman, 2015).

Lokalisatie letsel	Symptomen
C1-C5	UMN-symptomen op 4 benen Meest uitgesproken ter hoogte van de achterbenen
C6-T2	UMN-symptomen achterbenen LMN-symptomen voorbenen Symptomen duidelijkst ter hoogte van de voorbenen
T3-L3	Voorbenen normaal UMN-symptomen achterbenen
L4-S2	Voorbenen normaal LMN-symptomen achterbenen Eventueel met verstoorde defecatie en incontinentie
S3 - staart	Voor- en achterbenen normaal, Verminderde staarttonus, incontinentie, defecatiestoornissen (=cauda equina)

zijn namelijk gelokaliseerd ter hoogte van het ventrale gedeelte van de grijze stof van het ruggenmerg en zijn verantwoordelijk voor de directe motorische innervatie van de spieren. Bij een intacte spinale reflex veroorzaakt dit neuron een spiercontractie zonder noodzaak tot connectie met de hersenen of hersenstam. De neuronen gelegen in hersenen en hersenstam (UMN) hebben echter wel invloed op de LMN. Eerst en vooral zijn de UMN verantwoordelijk voor de initiatie en controle van de willekeurige beweging, waarbij de UMN de LMN aansturen. In tweede instantie hebben de UMN ook een inhiberende invloed op de LMN. Dit verklaart waarom reflexen versterkt en bewegingen hypermetrisch of spastisch zijn, wanneer de connectie tussen de UMN en de LMN verloren gaat (Mayhew, 2008). Spasticiteit wordt het gemakkelijkst waargenomen bij paarden in laterale decubitus maar de stuitende beweging van de achterhand bij paarden met nekletsels wordt ook beschouwd als een uiting van spasticiteit (Furr en Reed, 2008). Zwakte daarentegen kan zowel een UMN- (door verminderde activatie van de LMN) als een LMN-oorsprong hebben of de oorzaak kan gelegen zijn ter hoogte van de spier zelf. De zwakte uit zich in korte paslengte, verminderde weerstand bij het trekken aan de staart en eventueel spiertrillingen of spieratrofie (Furr en Reed, 2008; Aleman, 2015). Op basis van het aantal aangetaste ledematen kan getracht worden het probleem specifieker te lokaliseren (Tabel 3).

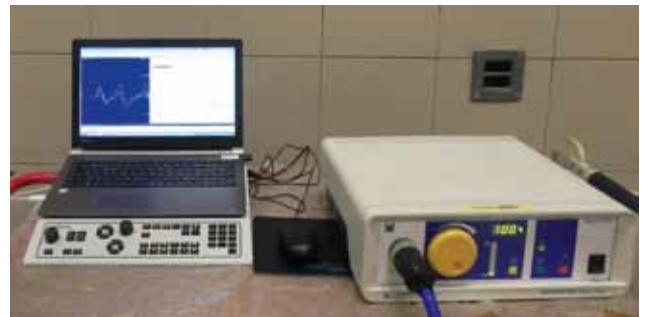
Laterale decubitus

Bij paarden in laterale decubitus is het belangrijk om rekening te houden met het feit dat het neerliggen op zich al een verandering in de reacties van het paard kan teweegbrengen door secundaire perifere neuropathie, angst, uitputting en/of dehydratie. Hierdoor vormt het neurologisch onderzoek bij deze paarden een extra moeilijkheid voor de practicus en moeten alle afwijkingen kritisch beoordeeld worden. Het onderzoek start zoals gewoonlijk met het observeren van de patiënt. Indien het paard een normaal bewustzijn vertoont, wordt vermoed dat het letsel zich caudaal van C1 zal bevinden. Als het paard zich bovendien in hondenzit kan plaatsen met een normale coördinatie en sterkte van de voorbenen, bevindt het letsel zich caudaal van T2. Wanneer enkel het hoofd en de hals bewogen kunnen worden maar de voorbenen te zwak zijn of helemaal niet bewogen kunnen worden, is er een probleem in de regio C6-T2. In gevallen met aantasting van het ruggenmerg tussen T2 en L4 kan het shiff-sherringtonsyndroom voorkomen, waarbij de spiertonus toegenomen is ter hoogte van de voorbenen maar duidelijk verminderd is in de achterbenen.

Bij paarden in laterale decubitus kunnen de spinale reflexen getest worden. Een intacte reflex wijst op een normale sensorische zenuw, geen afwijkingen in het specifieke ruggenmergsegment en een normale motorische zenuw. Het paard kan per definitie een normale reflex vertonen zonder de prikkel effectief be-

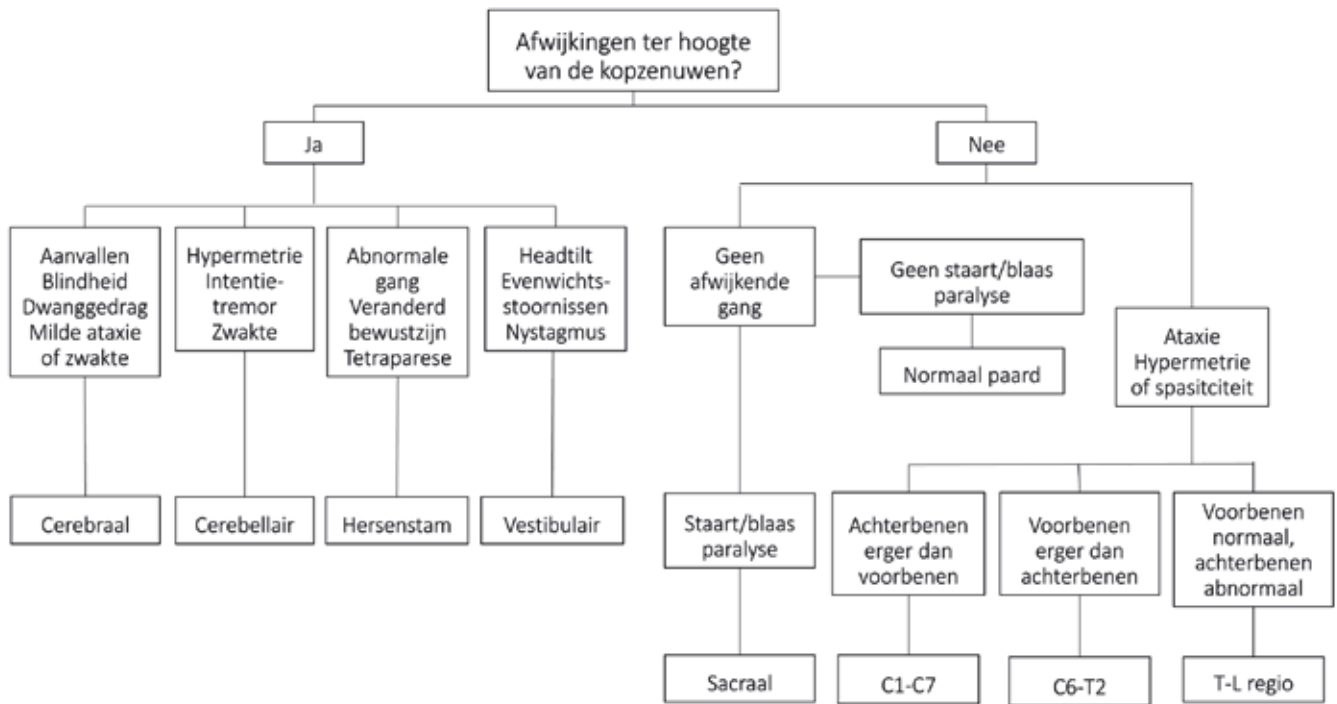


Figuur 4. Transcraniële, magnetische stimulatie bij een gesedeerd paard. De coil wekt een veranderend magnetisch veld op en stimuleert zo de motorische cortex. Het signaal dat hierdoor via de motorische zenuwbanen doorgegeven wordt naar de spieren wordt daar door middel van een elektrode geactiveerd. De tijd tussen stimulatie en registratie en de amplitude van het signaal geven de kwaliteit van de zenuwgeleiding weer.



Figuur 5. De noodzakelijke apparatuur voor het uitvoeren van een MMEP-test. Links een standaard EMG-toestel (Synergy UltraPro) en rechts de magnetische stimulator (Magstim 200).

wust waar te nemen. De buigreflexen ter hoogte van het voorbeen worden getest door een prikkel (knippen in de huid, naaldenprik) te geven ter hoogte van de distale ledematen waarna het been opgetrokken moet worden. Een abnormale reflex kan verklaard worden door een letsel ter hoogte van de sensorische of motorische zenuw of ter hoogte van het ruggenmerg van C6-T2. Bijkomend kan de biceps- en tricepsreflex getest worden. Door stimulatie van de respectievelijke spieren met een reflexhamer moeten deze reflexmatig contraheren. Hiermee worden respectievelijk de ruggenmergsegmenten C6-C7 en C7-T1 getest. Deze reflexen zijn wel gemakkelijker waarneembaar bij veulens dan bij volwassen paarden. Als laatste kan de patellareflex gecontroleerd worden door het been licht te buigen en de rechte patellaband kort aan te kloppen met de reflexhamer. Een verminderde respons komt voor bij paarden met aantasting van het ruggenmerg ter hoogte van L3-L4, botulisme of aantasting van de nervus femoralis. Voor al deze reflexen geldt dat een versterkte reflex verklaard kan worden door UMN-



Figuur 6. Beslissingsboom die gebruikt kan worden bij neuro-anatomische lokalisatie van letsels (naar: Furr en Reed, 2008).

problemen gesitueerd craniaal van het geteste ruggenmergsegment en dat een afwezige reflex gewoon het gevolg kan zijn van decubitus: het neerliggen kan secundair leiden tot schade aan de perifere zenuwen en ook depressie of uitputting kan de respons afzwakken (Furr en Reed, 2008).

Bijkomend onderzoek

Eens het letsel gelokaliseerd is, kan bijkomend onderzoek gewenst zijn om een waarschijnlijkheidsdiagnose te bevestigen of om de specifieke etiologie van het probleem te achterhalen. Verschillende onderzoeken zijn vrij eenvoudig uitvoerbaar in de praktijk. Een routinebloedonderzoek levert nuttige informatie in het kader van infectieuze en inflammatoire ziekten, lymfosarcoma, trauma en bloedverlies, leverpathologie, spierpathologie, hyperamoniakemie, hypocalcemie, hypokaliëmie, hypoglykemie, hyper- of hypomagnesiëmie. Serologie voor infectieuze ziekten, zoals equine herpesvirus 1, is voornamelijk nuttig indien gepaarde sera voorhanden zijn gezien zeer veel paarden in contact komen met het virus of gevaccineerd worden. Westnilevirus komt voorlopig nog niet voor in België en vaccinatie is nog beperkt, waardoor positieve acute titers wel significant zijn bij niet-gevacineerde paarden. Voor bepaalde aandoeningen, zoals hyperkaliëmie periodieke paralyse (HYPP) en cerebellaire abiotrofie zijn er ook DNA-testen beschikbaar. Iets invasiever maar toch uitvoerbaar in de praktijk zijn lever- of spierbiopten en de afname van cerebrospinaal vocht (CSV). Lever- en spierbiopten zijn geïndiceerd bij vermoeden van lever- of spierpathologie of “equine motor neuron disease” (EMND).

In dit laatste geval wordt een biopt genomen van een specifieke spier, de musculus sacrocaudalis dorsalis. Onderzoek van CSV heeft een belangrijke diagnostische waarde in gevallen waar het centrale zenuwstelsel aangetast is. Het CSV kan atlanto-occipitaal of lumbosacraal geïncubeerd worden en wordt geanalyseerd op kleur, cellen en eiwitgehalte. Bij infectieuze ziekten is er sprake van pleocytose (verhoogd aantal witte bloedcellen) en een verhoogd eiwitgehalte, terwijl er bij trauma eerder gele verkleuring (xanthochromia) van het hersenvocht is ten gevolge van bloeding. Bij toxische, nutritionele of metabole problemen is het CSV meestal normaal (Mayhew, 2008). In gespecialiseerde centra zijn verschillende elektrodiagnostische testen beschikbaar: “magnetic motor evoked potentials” (MMEP) kunnen gebruikt worden om de geleiding over de motorische zenuwbanen, ataxie en zenuwpathologie te bevestigen (Nollet et al., 2002; Nollet et al., 2003; Nollet et al., 2005; Rijckaert et al., 2016). De MMEP-test is een niet-invasieve, objectieve, pijnloze en zeer gevoelige, neurologische onderzoekstechniek bij het paard, waarbij spiercontracties uitgelokt worden door transcraniële magnetische stimulatie van de hersencortex. Op de geregistreerde MMEPs worden de latentietijd en de amplitude gemeten en vergeleken met de referentiewaarden (Nollet et al., 2004) (Figuur 4 en 5). Een verlengde latentietijd en/of abnormaal kleine amplitudes zijn indicatief voor problemen met de zenuwgeleiding. Het gebruik van elektromyografie is beschreven bij paarden met “equine motor neuron disease” (EMND), “grass disease” en neuromusculaire problemen (Kyles et al., 2001; Wijnberg et al., 2004; Wijnberg et al., 2006). Elektro-encefalografie wordt gebruikt om abnormale

hersenactiviteit (epilepsie, slaapstoornissen, etc.) te registreren (Lacombe et al., 2001). Ook het gebruik van drukplaatanalyse is beschreven om het onderscheid te maken tussen orthopedische en neurologische problemen (Ishihara et al., 2009).

Om een letsel in beeld te brengen, is beeldvorming noodzakelijk. Radiografieën, eventueel met contrast, zijn onmisbaar om beenderige malformaties, fracturen of osteomyelitis ter hoogte van de nek in beeld te brengen. Ondanks het feit dat de anatomie van de nek uitgebreid beschreven is, is er veel natuurlijke variatie en is aldus voorzichtigheid geboden bij de interpretatie van de beelden. Om accuraat metingen van de sagittale diameter van het wervelkanaal te kunnen uitvoeren, zijn radiografieën van zeer goede kwaliteit absoluut noodzakelijk. Contrastmyelografie wordt gebruikt om ruggenmergcompressie of -zwellings aan te tonen maar kan enkel in gespecialiseerde centra uitgevoerd worden onder algemene anesthesie. CT levert een 3D-beeld op en is zeer nuttig om het hoofd in beeld te brengen (schedelfracturen, otitis, etc.) aangezien er op gewone RX-beelden veel superpositie is van verschillende structuren. Ook voor de nek kan CT een meerwaarde hebben omwille van het gedetailleerde 3D-beeld. MRI is veruit de beste techniek om zenuwweefsel in beeld te brengen. Voor het caudale deel van de nek is het noodzakelijk om potente scanners met voldoende grote diameter ter beschikking te hebben. Scintigrafie kan dan weer gebruikt worden om degeneratieve en inflammatoire processen ter hoogte van cervicale en thoracolumbale wervels te bevestigen eventueel in combinatie met echografie van de respectievelijke facetgewrichten (Mayhew, 2008).

CONCLUSIE

Door middel van een gestructureerd neurologisch onderzoek kan de practicus een letsel vrij eenvoudig lokaliseren (Figuur 6). De belangrijkste aandachtspunten zijn hierbij 1. dat het onderzoek het best systematisch (kop-staart) opgebouwd wordt zodat er geen abnormaliteiten over het hoofd gezien worden, 2. dat de practicus moet weten wat het normale beeld is en 3. dat laterale decubitus een wijziging van de responsen kan veroorzaken. Eens het letsel neuro-anatomisch gelokaliseerd is, kan een differentiaaldiagnose opgesteld worden en kan bijkomend onderzoek uitgevoerd worden ter bevestiging.

REFERENTIES

Aleman, M., Gray, L. C., Williams, D. C., Holliday, T. A., Madigan, J. E., Lecouteur, R. A., Magdesian, K. G. (2006). Juvenile idiopathic epilepsy in egyptian arabian foals: 22 cases (1985-2005). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20, 1443-1449.

Aleman, M. (2015). Neurologic examinations of horses. In: *AAEP Proceedings* 61, 181-190.

Brault, L. S., Penedo, M. C. (2011). The frequency of the equine cerebellar abiotrophy mutation in non-Arabian horse breeds. *Equine Veterinary Journal* 43, 727-731

Cornelisse, C. J., Schott, H. C., Lowrie, C. T., Rosenstein, D. S. (2001) successful treatment of intracranial abscesses in 2 horses. *Journal Of Veterinary Internal Medicine* 15, 494-500.

Down, S. S. en Henson, F. M. (2009). Radiographic retrospective study of the caudal cervical articular process joints in the horse. *Equine Veterinary Journal* 41, 518-524.

Fanelli, H.H. (2005). Coat colour dilution lethal ('lavender foal syndrome'): a tetany syndrome of Arabian foals. *Equine Veterinary Education* 17, 260-263.

Furr en Reed (2008). Neurologic examination. In: M. Furr, S. Reed (editors). *Equine Neurology*. Blackwell, Ames, p. 65-75.

Ishihara, A., Reed, S.M., Rajala-Schultz, P.J., Robertson, J.T., Bertone, A.L. (2009). Use of kinetic gait analysis for detection, quantification, and differentiation of hind limb lameness and spinal ataxia in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 234, 644-651.

Johnson, A. L. (2010). How to perform a complete neurologic examination in the field and identify abnormalities. In: *AAEP Proceedings* 56, 331-337.

Kyles, K.W., McGorum, B.C., Fintl, C., Hahn, C.N., Mauchline, S., Mayhew, I.G. (2001). Electromyography under caudal epidural anaesthesia as an aid to the diagnosis of equine motor neuron disease. *Veterinary Record* 148, 536-538.

Lacombe, V.A., Podell, M., Furr, M., Reed, S.M., Oglebee, M.J., Hinchcliff, K.W., Kohn, C.W. (2001). Diagnostic validity of electroencephalography in equine intracranial disorders. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 15, 385-393.

Licka, T.F. (2011). Differentiation of ataxic and orthopedic gait abnormalities in the horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 27, 411-416.

Manso-Diaz, G., Dyson, S. J., Dennis, R., Garcia-Lopez, J. M., Biggi, M., Garcia-Real, M. I., San Roman, F., Taeymans, O. (2015). Magnetic resonance imaging characteristics of equine head disorders: 84 cases (2000-2013). *Veterinary Radiology & Ultrasound* 56, 176-187.

Mayhew, J., deLahunta, A., Whithock, R., Krook L., Tasker J.B. (1978). Spinal cord disease in the horse. *Cornell Veterinarian* 68 (suppl 6), 24-29.

Mayhew, J. (2008). Neurologic evaluation. In: Mayhew J. (Editor). *Large Animal Neurology*. Second edition, Wiley-Blackwell, Ames, p. 11-46.

Nollet, H., Deprez, P., Van Ham, L., Verschooten, F., Vanderstraeten, G. (2002). The use of magnetic motor evoked potentials in horses with cervical spinal cord disease. *Equine Veterinary Journal* 34, 156-163.

Nollet, H., Van Ham, L., Verschooten, F., Vanderstraeten, G., Deprez, P. (2003). Use of magnetic motor-evoked potentials in horses with bilateral hind limb ataxia. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 64, 1382-1386.

Nollet, H., Deprez, P., Van Ham, L., Dewulf, J., Declair, A., Vanderstraeten, G. (2004). Transcranial magnetic stimulation: normal values of magnetic motor evoked potentials in 84 normal horses and influence of height, weight, age and sex. *Equine Veterinary Journal* 36, 51-57.

Nollet, H., Vanschandevijl, K., Van Ham, L., Vanderstraeten, G., Deprez, P. (2005). Role of transcranial magnetic

- stimulation in differentiating motor nervous tract disorders from other causes of recumbency in four horses and one donkey. *Veterinary Record* 157, 656-658.
- Rech, R., Barros, C. (2015). Neurologic diseases in horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 31, 281-306.
- Rijckaert, J., Pardon, B., Verryken, K., Van Ham, L., van Loon, G., Deprez, P. (2016). Motor evoked potentials in standing and recumbent calves induced by magnetic stimulation at the foramen magnum. *Veterinary Journal* 216, 178-182.
- Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M. M. (1999). Hypp: hyperkalemic periodic paralysis in the horse. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 124, 176-181.
- Van Biervliet, J. (2007). An evidence-based approach to clinical questions in the practice of equine neurology. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 23, 317-328.
- Wijnberg, I.D., Back, W., de Jong, M., Zuidhof, M.C., van den Belt, A.J., van der Kolk, J.H. (2004). The role of electromyography in clinical diagnosis of neuromuscular locomotor problems in the horse. *Equine Veterinary Journal* 36, 718-722.
- Wijnberg, I.D., Franssen, H., Jansen, G.H., van den Ingh, T.S., van der Harst, M.R., van der Kolk, J.H. (2006). The role of quantitative electromyography (EMG) in horses suspected of acute and chronic grass sickness. *Equine Veterinary Journal* 38, 230-237.



GOUVERNEMENT DE LA RÉGION DE BRUXELLES-CAPITALE
BRUSSELSE HOOFDSTEDELIJKE REGERING

PROFESSOR CHRISTEL MOONS EERSTE VOORZITTER VAN BRUSSELSE RAAD VOOR DIERENWELZIJN

De Brusselse Raad voor Dierenwelzijn is voor het eerst samengekomen op maandag 19 december in de gebouwen van Leefmilieu Brussel. Professor toegepaste ethologie en dierenwelzijn Christel Moons (UGent) is aangeduid als allereerste voorzitter van de Raad. Als ondervoorzitter werd Jean-Paul Dehoux aangeduid. Hij is dierenarts en professor aan de UCL.

« Ik ben blij dat de Raad voor Dierenwelzijn van start is gegaan in Brussel. Samen met onze partners werk ik aan een gedragen beleid rond dierenwelzijn », vertelt Staatssecretaris voor Dierenwelzijn Bianca Debaets. « De Raad is evenwichtig samengesteld met vertegenwoordigers uit de academische wereld enerzijds en mensen met terreinkennis anderzijds. De Raad zal me adviseren in het voeren van een stedelijk diervriendelijk beleid. De commerciële dierenhandel is zeker een thema waar de Raad zich over zal buigen. Maar ook een evaluatie van het kattenplan staat op de agenda ».

De Brusselse Raad voor Dierenwelzijn is samengesteld uit 15 effectieve leden en 11 plaatsvervangers. De leden zijn aangeduid na een oproep door de Brusselse regering voor een termijn van 5 jaar. Ze ontvangen hiervoor geen vergoeding. De Raad is samengesteld uit vertegenwoordigers van dierenrechtenorganisaties, dierenasielen, de onderzoekssector, dierenartsen en mensen uit het verenigingsleven. De volledige ledenlijst bevindt zich in bijlage.

«Ik ben erg gemotiveerd om samen met deze ploeg op weg te gaan en wens alle leden dan ook te bedanken voor het vertrouwen dat zij in mij stellen », vertelt voorzitter van de Brusselse Raad voor Dierenwelzijn Christel Moons. « We hebben meer dan voldoende onderwerpen om van gedachten over te wisselen. De Brusselaars kunnen op onze maximale inzet rekenen voor meer dierenwelzijn in dit gewest ».

De Raad komt samen op eigen initiatief of wanneer een bepaald dossier aan de Raad wordt voorgelegd. De samenkomsten gebeuren achter gesloten deuren. Experts kunnen worden uitgenodigd om deel te nemen aan de beraadslagingen. De Raad brengt bij consensus adviezen uit aan de Staatssecretaris bevoegd voor Dierenwelzijn.

BEHANDELING VAN *STREPTOCOCCUS SUIS*-INFECTIES BIJ BIGGEN

VRAAG

“Hoe kan men problemen met *Streptococcus suis*-infecties behandelen in de batterij zonder antibiotica?”

ANTWOORD

Streptokokkeninfecties bij biggen kunnen leiden tot diverse aandoeningen, zoals meningitis, artritis, ontsteking van de hartkleppen, het hartspierweefsel en het hartzakje, achterblijvende biggen, polyserositis. Tevens kan *S. suis* als secundaire kiem mogelijk ook schade veroorzaken ter hoogte van de longen. De meeste problemen treden op bij biggen tijdens de eerste weken na het spenen (Gottschalk 2012). Bij die biggen ziet men vooral meningitis. De eerste ziekte-tekens worden gekenmerkt door koorts, roodheid van de huid, algemeen suf zijn en evenwichtsstoornissen. Daarna kunnen meer uitgesproken afwijkingen van het centrale zenuwstelsel voorkomen, zoals verlammingen, zijligging, fietsbewegingen, nekkramp en soms spierkrampen. Er kunnen ook blindheid en doofheid optreden. De ziekte is in de regel van korte duur en er treedt na behandeling vrij snel herstel op.

Aangetaste dieren worden het beste individueel behandeld door middel van een inspuiting met antibiotica. Volgens het formularium van AMCRA (www.amcra.be) worden ter behandeling van *S. suis*-infecties volgende antibiotica voorgesteld:

1. Eerste keuze: procaine-benzylpenicilline, intramusculair (IM)

2. Tweede keuze: trimethoprim + sulfonamiden, IM, per os (PO); amoxicilline, IM, PO; ampicilline, IM; procaine-benzylpenicilline + neomycine, IM

3. Derde keuze: lincomycine, IM, PO; oxytetracycline, IM, PO; cefquinome, IM; ceftiofur, IM

Streptokokken bezitten een zeer goede gevoeligheid voor beta-lactamantibiotica. De minimum inhibitorische concentraties (MICs) van trimethoprim en sulfonamiden voor *S. suis* zijn in de literatuur doorgaans laag, hoewel verschillen in gevoeligheid kunnen optreden naargelang het serotype. Er is daarentegen een hoge graad van verworven resistentie tegen lincomycine en tetracyclinen. Deze moleculen worden derhalve bij de derde keuze ingedeeld. *S. suis* vertoont natuurlijke resistentie tegen polymyxinen en flumequine.

Een vroeg ingestelde behandeling vermindert duidelijk de kans op sterfte en verhoogt de kans op volledig herstel. Een bijkomende, ondersteunende behandeling met ontstekingsremmers kan zinvol zijn (Valera et al., 2013). Aangetaste dieren worden het beste van de groep afgezonderd. Bij dieren in zijligging kunnen water en/of elektrolyten oraal toegediend

worden. Aangetaste dieren moeten comfortabel en warm gehouden worden en moeten zoveel mogelijk in hondenzit (borstbeen op de grond, achterpoten langs het lichaam) gelegd worden. Medicatie kan gezonde dragers niet volledig vrijmaken van de kiem. De behandeling van de overige dieren moet eveneens in overweging worden genomen. Dit is vooral belangrijk als er in de groep nog andere aangetaste dieren aanwezig zijn of wanneer er een grondig vermoeden bestaat dat er nog bijkomende dieren aangetast zijn.

Preventief moet men risicofactoren voorkomen of beperken. De belangrijkste risicofactoren zijn: overbezetting, slecht stalklimaat (hoge relatieve vochtigheid, te hoge stalgasconcentraties), onvoldoende colostrumopname, hoge temperatuurvariaties, stress door mengen, transport, wegen, injecties, omgevingsfactoren die predisponeren tot huidwonden (scherpe uitsteeksels, onaangepaste vloer), vechten en agressie, andere infecties (porcien reproductief en respiratoir syndroomvirus, aujeszkyvirus) (Iglesias et al., 1992; Thanavongnuwech et al., 2000), voedingsfactoren (darmbeschadiging), onvoldoende drinkwater en drinkwater van slechte kwaliteit en onvoldoende hygiëne (Gottschalk, 2012). Onder invloed van deze factoren kunnen gezonde dragerdieren plotseling ziek worden. Gezien de kiem via vliegen kan verspreid worden, is een goede vliegenbestrijding belangrijk. Dode dieren vormen een besmettingsbron en moeten zo snel mogelijk verwijderd worden uit de stal. Bij aankoop van dieren op een bedrijf dat nog niet besmet is met bepaalde *S. suis* types, is het aan te raden om de gezondheidsstatus van het bedrijf van herkomst na te gaan.

Ferrando et al. (2014) toonden aan dat *S. suis* ook via het gastro-intestinale stelsel de bloedbaan kan bereiken. Daaraan wordt steeds meer belang gehecht. Het is dus belangrijk om een stabiele microflora te hebben in het maag-darmstelsel en om darmwandschade te voorkomen. Koolhydraten in de voeding kunnen invloed hebben op de expressie van bepaalde virulentiegenen van *S. suis*. Alfa-glucaan zetmeel of pullulan zorgen voor een opregulering van 19 virulentiefactoren die bijdragen tot de adhesie en de invasie doorheen het darmepitheel (Ferrando et al., 2014). Korte-ketenvetzuren, zoals azijnzuur, propionzuur en boterzuur, worden vaak toegevoegd aan voeders voor hun pH-verlagend effect ter hoogte van de maag en hun antibacterieel effect dat echter hoofdzakelijk gericht is tegen gramnegatieve kiemen. Middellangeketenvetzuren, zoals laurinezuur (vooral de monoglyceride vorm), zouden echter een meer grampositief spectrum hebben en ook actief zijn tegen streptokokken. Kaneelolie remt in vitro ook de groei van *streptococcus spp.* (Chaudhari et al., 2012). Verder onderzoek is echter nodig, niet enkel in vitro maar ook bij levende dieren en onder veldomstandigheden. Er kan vanuit

gegaan worden dat eventuele gunstige effecten van deze producten op de gezondheid en productie van de biggen wellicht niet uitsluitend veroorzaakt zullen worden door het verminderen van *S. suis*-infecties.

Voor het ogenblik is er geen commercieel vaccin beschikbaar in België. De resultaten na het gebruik van autovaccins zijn wisselend (Haesebrouck et al., 2004; Pallarés et al., 2004). Bij het maken van autovaccins worden één tot drie *S. suis*-stammen geïsoleerd uit de letsels (meestal arthritis of meningitis) opgekweekt, geïnactiveerd en gebruikt in het vaccin (bacterin). Men neemt aan dat de effecten afhangen van de stammen die gebruikt worden. Isolatie van *S. suis*-stammen ter hoogte van plaatsen waar geen letsels zijn, bijvoorbeeld uit longen, is weinig zinvol. Indien de problemen zich in de kraamstal voordoen, worden de zeugen gevaccineerd. Bij problemen in de biggenbatterij, worden de biggen gevaccineerd in de periode voorafgaand aan de risicoperiode. Autovaccins hebben voornamelijk een effect op morbiditeit en mortaliteit. Een autovaccin wordt daarenboven meestal enkel getest op steriliteit. Er kan dus geen garantie worden gegeven met betrekking tot efficaciteit of het mogelijk optreden van nevenreacties. Daarom is het aangewezen vooraf het autovaccin steeds eerst uit te proberen bij een beperkt aantal dieren, vooraleer het op grote schaal wordt ingezet. De geldende reglementering met betrekking tot autovaccinatie moet vanzelfsprekend worden nageleefd.

REFERENTIES

- Chaudhari L., Jawale B., Sharma S., Sharma H., Kumar C., Kulkarni P. (2012). Antimicrobial activity of commercially available essential oils against *Streptococcus mutans*. *Journal of Contemporary Dental Practice* 13, 71-75.
- Dritz S., Shi J., Kielian T., Goodband R., Nelssen J., Tokach M., Chengappa M., Smith J., Blecha F. (1995). Influence of dietary β -glucan on growth performance, non-specific immunity, and resistance to *Streptococcus suis* infection in weanling pigs. *Journal of Animal Science* 73, 3341-3350.
- Ferrando M., van Baarlen P., Orrù G., Piga R., Bongers R., Wels M., De Greeff A., Smith H., Wells J. (2014). Carbohydrate availability regulates virulence gene expression in *Streptococcus suis*. *Plos One* 9(3), e89334. doi:10.1371/journal.pone.0089334.
- Gottschalk M. (2012). Streptococcosis. In: J. Zimmerman, L. Karriker, A. Ramirez, K. Schwartz, G. Stevenson (editors). *Diseases of Swine*. Tenth edition, Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Inc. Publication, 841-856.
- Haesebrouck F., Pasmans F., Chiers K., Maes D., Ducatelle R., Decostere A. (2004). Efficacy of vaccines against bacterial diseases in swine: What can we expect? *Veterinary Microbiology* 100, 255-268.
- Iglesias J., Trujano M., Xue J. (1992). Inoculation of pigs with *Streptococcus suis* type 2 alone or in combination with pseudorabies virus. *American Journal of Veterinary Research* 53, 364-367.
- Pallarés F., Schmitt C., Roth J., Evans R., Kinyon J., Halbur P. (2004). Evaluation of a ceftiofur-washed whole cell *Streptococcus suis* bacterin in pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 68, 236-240.
- Thanawongnuwech R., Brown G., Halbur P., Roth J., Royer R., Thacker B. (2000). Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced increase in susceptibility to *Streptococcus suis* infection. *Veterinary Pathology* 37, 143-152.
- Valera N., Gadbois P., Thibault C., Gottschalk M., Dick P., Wilson J. (2013). Antimicrobial resistance and prudent drug use for *Streptococcus suis*. *Animal Health Research Reviews* 14, 68-77.

Prof. dr. D. Maes

Eenheid Gezondheidszorg Varken,

Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en

Bedrijfsdiergeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde,

UGent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

HET GEBRUIK VAN CEFOVECIN BIJ REPTIELEN, VOGELS, KLEINE HERBIVOREN EN FRETTE

VRAAG

“Kunt u een indicatie geven van de werkingsduur van Convenia® bij andere diersoorten dan hond en kat, zoals konijn, fret, kip en duif?”

ANTWOORD

Cefovecin (Convenia®, Zoetis) is een semi-synthetisch derdegeneratiecefalosporine geregistreerd voor subcutane toediening bij honden en katten. Derdegeneratiecefalosporinen zijn breedspectrumantibiotica die meer resistent zijn tegen beta-lactamase produce-

rende kiemen dan de tweede generatie, maar die wel geïnactiveerd kunnen worden door “extended-spectrum beta-lactamases” (ESBL). De antimicrobiële activiteit van cefovecin na eenmalige injectie houdt tot veertien dagen aan, dit door de uitzonderlijk lange eliminatiehalfwaardetijd (Stegemann et al., 2006a,b). Indicaties bij honden en katten zijn de behandeling van urineweginfecties, infecties van huid en weke delen, en abscessen. De dosering bedraagt 8 mg cefovecin/kg lichaamsgewicht (LG). Cefalosporinen zijn relatief veilig in gebruik en neveneffecten worden weinig waargenomen (Stegemann et al., 2006b). Verdere informatie hierover is te vinden op de bijsluiter (FAGG, 2016).

Het gebruik van cefovecin is erg aantrekkelijk doordat een eenmalige injectie de therapietrouw bevordert (Hughes et al., 2011). Cefovecin is echter een 'laatste redmiddel' (derdekeuzegeneesmiddel met rode kleurcode volgens het formularium van AM-CRA, 2014), wat betekent dat het gebruik beperkt dient te worden tot wanneer geen andere behandelingsoptie beschikbaar is. Dit om de werkzaamheid van het geneesmiddel zo lang mogelijk te waarborgen (Wernick en Müntener, 2010).

Convenia® is enkel geregistreerd voor het gebruik bij honden en katten, maar wordt in de praktijk ook off-label gebruikt bij exotische diersoorten, waarbij de dosis en het doseringsinterval vaak empirisch bepaald worden. Dit gebruik dient afgeraden te worden omdat de farmacokinetiek sterk verschillend kan zijn per diersoort en er over het algemeen weinig bekend is over het gebruik van cefovecin bij deze diersoorten.

Hierna volgt een overzicht van de farmacokinetische gegevens en doseringsschema's die gepubliceerd zijn in de literatuur.

Vogels en reptielen

Thuesen et al. (2009) onderzochten het gebruik van cefovecin bij legkippen (Lohmann hennen, *Gallus gallus domesticus*) en groene leguanen (*Iguana iguana*), waarbij 10 mg/kg LG subcutaan werd toegediend en de belangrijkste farmacokinetische parameters werden bepaald. De resultaten zijn uitermate sterk verschillend van deze bij de hond en de kat, met een opmerkelijk kortere eliminatiehalfwaardetijd bij kippen en groene leguanen dan bij honden en katten (0,9 uur bij hennen, 3,9 uur bij groene leguanen versus 5,5 dagen bij honden). Het grote verschil in halfwaardetijd kan mogelijk verklaard worden door een verschil in plasma-eiwitbinding en lichaamsklaring. Gebaseerd op de korte eliminatiehalfwaardetijd van cefovecin bij deze exotische diersoorten kan besloten worden dat een doseringsinterval van veertien dagen onvoldoende is voor de adequate behandeling van bacteriële infecties. De toediening van cefovecin in veel kortere doseringsintervallen is vereist om de

concentratie boven de minimale inhibitorische concentratie (MIC) te houden gedurende de te behandelen periode, vermits cefalosporinen tijdsafhankelijke antibiotica zijn.

Thuesen et al. (2009) onderzochten in een preliminaire studie ook het gebruik van cefovecin bij drie andere exotische vogelsoorten (grijze roodstaartpapegaai (*Psittacus erithacus*), rode ibis (*Eudocimus ruber*) en blauwvoorhoofdamazonen (*Amazona aestiva*)), en bij verschillende soorten reptielen (vierteenlandschildpad (*Testudo horsfieldii*), Moorse landschildpad (*Testudo graeca*), Russische rattenslang (*Elaphe schrenckii*), boa constrictor (*Boa constrictor*), en baardagaam (*Pogona vitticeps*)). Ook bij deze diersoorten was het doseringsinterval zeer kort. Indien vogels of reptielen behandeld zouden worden met cefovecin, zou het theoretisch doseringsinterval bij voorkeur 1 tot 2 uur (vogels) of 12 tot 48 uur (reptielen) moeten bedragen (Thuesen et al., 2009). Het gebruik van cefovecin lijkt bij vogels dan ook praktisch onmogelijk. Het grote voordeel van cefovecin bij honden en katten, namelijk het lange doseringsinterval, is dus niet van toepassing bij vogels en reptielen. Specifieke studies van het gebruik van cefovecin bij duiven zijn, zover de auteurs bekend, niet voorhanden.

Fretten

Bij fretten blijft de maximale plasmaconcentratie boven de MIC₉₀ voor *Staphylococcus intermedius* en *Escherichia coli* gedurende minstens twee dagen. Er worden geen neveneffecten opgemerkt. Het gebruik van cefovecin bij fretten lijkt dus mogelijk met een dosis van 8 mg/kg LG en een doseringsinterval van twee à drie dagen (Montesinos et al., 2010).

Kleine herbivoren

Bij kleine herbivoren, zoals konijnen en cavia's, zijn alle cefalosporinen tegenaangewezen omdat ze de darmflora nadelig kunnen beïnvloeden (EMA, 2006).

In Tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de doseringsschema's voor cefovecin bij hond en kat en

Tabel 1. Doseringsschema's voor cefovecin bij hond en kat en theoretische doseringsschema's bij exotische diersoorten (naar Linsart en Mallem, 2013).

Diersoort	Dosis en toedieningswijze	(Theoretisch) behandelingsinterval
Hond	8 mg/kg LG SC	14 dagen
Kat	8 mg/kg LG SC	14 dagen
Fret	8 mg/kg LG SC	2 à 3 dagen
Grijze roodstaartpapegaai	20 mg/kg LG IM	2 uur
Blauwvoorhoofdamazonen	20 mg/kg LG IM	2 uur
Kip	10 mg/kg LG SC	2 uur
Boa constrictor	10 mg/kg LG SC	24 uur
Groene leguaan	10 mg/kg LG SC	4 uur
Griekse landschildpad	10 mg/kg LG SC	< 24 uur

LG: lichaamsgewicht, IM: intramusculair, SC: subcutaan.

van de theoretische doseringsschema's bij exotische diersoorten.

Voor het verantwoord gebruik van antibiotica, zoals cefovecin, dienen de farmacokinetische parameters bekend te zijn, teneinde een geschikt doseringsschema te kunnen opstellen. Belangrijke diersoortverschillen kunnen ertoe leiden dat empirische therapie niet curatief zal zijn, en bijkomend een selectiedruk vormt voor resistente kiemen. Het gebruik van cefovecin is niet aangewezen voor vogels en reptielen omwille van de ongunstige farmacokinetische eigenschappen, is tegenaangewezen bij kleine herbivoren, zoals konijnen maar is wel mogelijk bij fretten, mits een aangepast doseringsinterval.

REFERENTIES

- AMCRA (2014). Formularium voor verantwoord gebruik van antibacteriële middelen bij hond en kat. AMCRA VZW, 1-80.
- EMA. EMEA/CVMP/215997/2006. Convenia: Scientific discussion 2006. <http://www.ema.europa.eu>, geraadpleegd 3 oktober 2016.
- FAGG (2016). Samenvatting van de productkenmerken (SKP) Convenia®, <http://bijsluiters.fagg-afmips.be>, geraadpleegd 13 oktober 2016.
- Hughes L.A., Williams N., Clegg P., Callaby R., Nuttall T., Coyne K., Pinchbeck G., Dawson S. (2012). Cross-sectional survey of antimicrobial prescribing patterns in UK small animal veterinary practice. *Preventive Veterinary Medicine* 104, 309-316.
- Linsart A., Mallem Y. (2013). Particularités de la céfovécine chez les nouveaux animaux de compagnie (NAC). *Le Point Vétérinaire* 337, 20.
- Montesinos, A., Diez- Delgado, I., Gilabert, J.A., Ardiaca, M., Ros-Rodriguez, J.M., Encinas, T. (2010). Pharmacokinetics of cefovecin (Convenia™) by subcutaneous route in ferrets (*Mustela putorius furo*). In: Wibbelt, G., Szentiks, C., Grobbel, M., Kretschmar, P., Seet, S. (editors). *Proceedings of the International Conference on Diseases of Zoo and Wild Animals*, Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research, Berlin, 231-232.
- Stegemann M.R., Sherington J., Blanchflower S. (2006a). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefovecin in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 29, 501-511.
- Stegemann M.R., Sherington J., Coati N., Brown S.A., Blanchflower S. (2006b). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefovecin in cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 29, 513-524.
- Thuesen L.R., Bertelsen M.F., Brimer L., Skaanild M.T. (2009). Selected pharmacokinetic parameters for Cefovecin in hens and green iguanas. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 32, 613-617.
- Wernick M.B., Müntener C.R. (2010). Cefovecin: A new long-acting cephalosporin. *Journal of Exotic Pet Medicine* 19, 317-322.

Dierenarts F. Vandael, Prof. dr. S. Croubels
 Laboratorium voor Farmacologie en Toxicologie
 Vakgroep Farmacologie, Toxicologie en Biochemie,
 Faculteit Diergeneeskunde
 Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke
www.vetftb.ugent.be
veterinaire.farmacotoxico@ugent.be

Erratum

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift nr 6-2016

Artikel: Physiotherapy in small animal medicine, pg. 323-334

Auteurs: Y. Samoy, B. Van Ryssen, J. Saunders

Ondertitel bij figuur 5 (pg. 326):

Use of ultrasound on the *stifle* of a dog moet zijn: Use of ultrasound on the *hip* of a dog

DEN EENEN OFTE ANDEREN COEIJMEESTER ... (1773)

Lang voor de eerste *médecins vétérinaires* afstudeerden aan de eerste Franse veeartsenijscholen waren er in onze streken naast hoefsmeden ook 'coeijmeesters' actief die runderen en wellicht ook andere hoevedieren probeerden te behandelen met de primitieve middelen die ze ter beschikking hadden. We weten er erg weinig over. Enkele dergelijke figuren duiken op 17^{de}-eeuwse heksenprocessen op. Zie daarover in het VDT jg. 74 (2005), p. 116, 139 en 153.

Wellicht waren ze nog het beste te bestempelen als kwakzalvers. Toen ze tijdens de verschrikkelijke runderpest die West-Europa in de jaren 1700 teisterde, de officiële isolatie- en eradicatiepolitiek hinderden met hun 'behandelingen', hadden ze het verkorven bij de overheid. Voortaan zouden enkel van overheidswege aangestelde experten - koeimeesters krediet krijgen. Dat waren nog geen veeartsen, verre van, maar wel al mensen die verondersteld werden niet te kwakzalveren, maar met de besturen samen te werken en zich strikt te houden aan de voorschriften. De in sommige Vlaamse streken nog gebruikte benaming 'expert' voor veearts gaat terug tot de jaren 1770. De latere expert *vétérinaire* was een veearts die in overheidsopdracht expertises mocht en moest uitvoeren, onder andere *l'expertise des viandes* (de vleeskeuring).

Van dat alles getuigt overduidelijk een officiële omzendbrief uit 1773 van die overheid aan alle gemeenten van het vroegere graafschap Vlaanderen:

...dat sij contrarie aen de verboden ... sigh eerst adresseren aen den eenen ofte anderen coeijmeester om hun sieckelijck hoornvee te besichtigen ende te cureren, 't gone sij aldus oock laeten cureren ende medicamenteren sonder aen het magistraet ofte wethouderen eenig inkennen te doen, merckelijck niet soo lange dat den coeijmeester hun niet en segt dat er perijckel (gevaar) is van dat sieckelijcke beesten souden sterven, sig excuserende op het pretext dat sij niet en souden geweten hebben dat het de besmettelijck regnerende sieckte was, ende dat sij vermeijnen (menen) geen inkennen te moeten doen als wanneer sij duncken dat het effectivelijck de geseijde quaede sieckte niet en is. In welck geval sij oock van gedachten souden wesen dat sij vrijlijck souden mogen hun sieckelijck vee doen visiteren ende cureren.

Voorts verstaen wij nog dat vele magistraeten ende wethouderen versuijmen van als wanneer hun eenig inkennen van sieckte wort gedaen sig aenstonds gekleed met reijne kleederen te begeven ter plaetse om t'hunder interventie te doen geschieden de visite door experten coeijmeester ende in den act opstellen het noodig proces-verbael, sig in tegendeel contenterende met alleene ter plaetse te senden den voormelden experten, ende naer dies sonder andere devoiren sijn rapport af te wagten, 't gone sij ten surpluse bij sig houden als wanneer het selve behelst dat de contagieuse sieckte onder het onpasselijck hoornvee niet en is sonder danof eenig inkennen te doen aen den commissaris van het canton

Dit illustreert een van de redenen waarom de verlichte overheid geld overhad om in die tijd veeartsenijscholen te stichten. Deze boden weliswaar vooral opleidingen aan in de paardengeneeskunde, maar ook de runderpest en hoe daar mee om te gaan stond op het programma. Men wist hoe belangrijk dat was.

Het tekstfragment is ontleend aan de transcriptie door collega H. Lievens van een omzendbrief (SAR register 65, n° 5. 17/1/1773) aangetroffen in het Stadsarchief van Roeselare waar hij als vrijwilliger werkzaam is. De volledige tekst wordt samen met een uitgebreid en mooi geïllustreerd artikel van Johan De Smet (Lichtervelde) over hetzelfde onderwerp gepubliceerd in het tijdschrift *Van Mensen en Dingen* (Huis van Alijn, Kraanlei 8, 9000 Gent). Wie het betreffende nummer wil ontvangen kan de uitgever contacteren via de website van dat tijdschrift.

