

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

SEPTEMBER-OKTOBER 2016
VOL. 85 - NR 5
VERSCHIJNT TWEEMAANDELIJKS
PUBLISHED BIMONTHLY
ISSN 0303 9021
WWW.VDT.UGENT.BE
GENT X

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



- Hyperthyreoïdie bij katten
- CCNU-L(-chloorambucil)-CHOP bij honden met T-cellymfoom
- Bronchitisvirusinfecties bij kippen
- B-cellymfoom bij een dwerggeit
- Fibropapillomatose bij een warmbloedveulen
- Hernia diafragmatica bij een hond
- “Rabbit hemorrhagic disease virus-2” bij Belgische konijnen



**TOT 12 WEKEN
BESCHERMING**

BRAVECTO[®]
EXPECT THE EXTRAORDINARY

Beschermt tot 12 weken
Tegen vlooien en teken
Kauwtablet voor honden
Uitsluitend op diergeneeskundig voorschrift

Bravecto 112,5 mg kauwtabletten voor zeer kleine honden (2-4,5 kg), **Bravecto 250 mg** kauwtabletten voor kleine honden (>4,5-10 kg), **Bravecto 500 mg** kauwtabletten voor middelgrote honden (>10-20 kg), **Bravecto 1000 mg** kauwtabletten voor grote honden (>20-40 kg), **Bravecto 1400 mg** kauwtabletten voor extra grote honden (>40-56 kg). **Indicaties:** Voor de behandeling van teken- en vlooieninfestaties bij honden. Dit diergeneesmiddel is een systemisch insecticide en acaricide met: onmiddellijke en aanhoudende vlododende werking (Ctenocephalides felis) gedurende 12 weken, onmiddellijke en aanhoudende tekendodende werking tegen Ixodes ricinus, Dermacentor reticulatus en D. variabilis gedurende 12 weken, onmiddellijke en aanhoudende tekendodende werking tegen Rhipicephalus sanguineus gedurende 8 weken. Vlooien en teken moeten aangehecht zijn aan de gastheer en beginnen met voeden om blootgesteld te worden aan het werkzame bestanddeel. Binnen 8 uur na aanhechting van vlooien (C. felis) en binnen 12 uur na aanhechting van teken (I. ricinus) treedt het effect op. Het product kan gebruikt worden als onderdeel van een behandelingsstrategie tegen vlooiënallergiedermatitis (VAD). **Contra-indicaties:** Niet gebruiken bij overgevoeligheid voor het werkzame bestanddeel of één van de hulpstoffen. **Bijwerkingen:** Vaak voorkomende bijwerkingen in klinische studies (1,6% van de behandelde honden) waren milde en voorbijgaande gastro-intestinale verschijnselen zoals diarree, braken, gebrek aan eetlust en kwijlen. De frequentie van het optreden van bijwerkingen is gedefinieerd aan de hand van de volgende indeling: zeer vaak (meer dan 1 op de 10 dieren vertonen bijwerking(en) gedurende de duur van één behandeling), vaak (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 100 dieren), soms (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 1.000 dieren), zelden (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 10.000 dieren), zeer zelden (minder dan 1 van de 10.000 dieren, inclusief op zichzelf staande meldingen). **Dosering en toedieningsweg:** Voor oraal gebruik. Bravecto dient toegediend te worden volgens onderstaande tabel (overeenkomstig een dosering van 25-56 mg fluralaner/kg lichaamsgewicht binnen een gewichtsklasse): Gewicht van de hond (kg)/ Sterkte en hoeveelheid van de toe te dienen tabletten: 2-4,5 kg: 1x Bravecto 112,5 mg, >4,5-10 kg: 1x Bravecto 250 mg, >10-20 kg: 1x Bravecto 500 mg, >20-40 kg: 1x Bravecto 1000 mg, >40-56kg: 1x Bravecto 1400 mg. De kauwtabletten dienen niet gebroken of verdeeld te worden. Voor honden boven 56 kg lichaamsgewicht, dient een combinatie van twee tabletten te worden gebruikt die het beste bij het lichaamsgewicht past. Toedieningswijze: Dien Bravecto kauwtabletten toe tijdens of rond een maaltijd. Bravecto is een kauwtablet die door de meeste honden goed wordt geaccepteerd. Als de tablet niet vrijwillig wordt opgenomen kan de tablet met voedsel of direct in de mond gegeven worden. Bij de toediening dient de hond in de gaten gehouden te worden om er zeker van te zijn dat de tablet wordt doorgeslikt. **Behandelschema:** Voor een optimale controle van een vlooiëninfestatie, dient het diergeneesmiddel toegediend te worden met een interval van 12 weken. Voor een optimale controle van een tekeninfestatie is het tijdstip van een herhalingsbehandeling afhankelijk van de tekensoort. EU/2/13/158/001-015

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

2016, vol. 85, nr. 5

INHOUD

Thema: Hyperthyreoïdie bij katten	Theme: Hyperthyroidism in cats
255 V. VOLCKAERT, E. VANDERMEULEN, J.H. SAUNDERS, K. PEREMANS Hyperthyreoïdie bij katten - Deel I: anatomie, fysiologie, pathofysiologie, diagnose en beeldvorming	V. VOLCKAERT, E. VANDERMEULEN, J.H. SAUNDERS, K. PEREMANS Hyperthyroidism in cats - Part I: anatomy, physiology, pathophysiology, diagnosis and imaging
265 V. VOLCKAERT, E. VANDERMEULEN, J.H. SAUNDERS, K. PEREMANS Hyperthyreoïdie bij katten - Deel II: scintigrafische diagnose en radiojoodbehandeling	V. VOLCKAERT, E. VANDERMEULEN, J.H. SAUNDERS, K. PEREMANS Hyperthyroidism in cats - Part II: scintigraphic diagnosis and radioiodine treatment
Retrospectieve studie	Retrospective study
275 M. OSSOWSKA, E. TESKE, L. BEIRENS-VAN KUIJK, M. ZANDVLIET, J.P. DE VOS Eerstelijnsbehandeling met CCNU-L(-chloorambucil)-CHOP van honden met een hooggradig multicentrisch of mediastinaal T-cellymfoom	M. OSSOWSKA, E. TESKE, L. BEIRENS-VAN KUIJK, M. ZANDVLIET, J.P. DE VOS Treatment of multicentric or cranial mediastinal high-grade T-cell lymphoma in dogs with a first-line CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP protocol
Origineel artikel	Original article
285 P. DE HERDT, M. DE GUSSEM, S. VAN GORP, R. CURRIE Infectieuze bronchitisvirus-infecties bij kippen in België: een epidemiologisch onderzoek	P. DE HERDT, M. DE GUSSEM, S. VAN GORP, R. CURRIE Infectious bronchitis virus infections of chickens in Belgium: an epidemiological survey
Casuïstieken	Case reports
291 H. VERSNAEYEN, I. KOLKMAN, M. VAN AERT, S. RIBBENS, K. CHIERS, P. DEPREZ, B. PARDON Multicentrisch B-cellymfoom bij een dwerggeit	H. VERSNAEYEN, I. KOLKMAN, M. VAN AERT, S. RIBBENS, K. CHIERS, P. DEPREZ, B. PARDON Multicentric B-cell lymphoma in a pygmy goat
297 L. GEERINCKX, E. VAN DER VEKENS, B. VAN GOETHEM, J.H. SAUNDERS Traumatische hernia diafragmatica gecompliceerd met een tensiegastrothorax bij een hond	L. GEERINCKX, E. VAN DER VEKENS, B. VAN GOETHEM, J.H. SAUNDERS Traumatic diaphragmatic hernia complicated with a tension gastrothorax in a dog
305 E. VAN DE WATER, R. DE MOREE, H. DE COCK, T. PICAUVET, A. MARTENS, M. OOSTERLINCK Congenitale cutane fibropapillomatose bij een warmbloedveulen	E. VAN DE WATER, R. DE MOREE, H. DE COCK, T. PICAUVET, A. MARTENS, M. OOSTERLINCK Congenital cutaneous fibropapillomatosis in a Warmblood foal
Permanente vorming	Continuing education
309 K. HERMANS, I. MOEREMANS, M. VERLINDEN, A. GARMYN België ontsnapt niet aan het "rabbit hemorrhagic disease virus-2" (RHDV2) bij konijnen	K. HERMANS, I. MOEREMANS, M. VERLINDEN, A. GARMYN Belgian rabbits are also affected by the rabbit hemorrhagic disease type 2 virus
315 Vraag en antwoord	
318 Uit de faculteit	
319 Mededeling	
317 Uit het verleden	

Coverfoto: Nadia Eeckhout (Faculteit Diergeneeskunde, Merelbeke).

Het konijn is, na de hond en de kat, het derde meest populaire gezelschapsdier. Helaas is, in tegenstelling tot bij hond en kat, preventieve vaccinatie tegen ziekten lang niet zo ingeburgerd bij de eigenaars van gezelschapskonijnen. Nochtans is het mogelijk om tegen twee dodelijke virale ziekten, myxomatose en RHD, te vaccineren. Beide virussen zijn vandaag de dag zeer vaak verantwoordelijk voor ziekte en sterfte bij zowel wilde als tamme konijnen. Een goede sensibilisering van konijneneigenaars is van belang om onnodig lijden van gezelschapskonijnen – en onnodig verdriet bij de baasjes – te voorkomen (cf. pg 309).

Tekst: Katleen Hermans

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 cijferaanuiding in de tekst.

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

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

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

Editorial board:

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

Printed by:

Graphius
Eekhoudriesstraat 67, B-9041 Oostakker

Advertisements:

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

Information (for authors) and Subscriptions:

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

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

Hyperthyroidism in cats

Part I: anatomy, physiology, pathophysiology, diagnosis and imaging

Hyperthyreoïdie bij katten
Deel I: anatomie, fysiologie, pathofysiologie, diagnose en beeldvorming

V. Volckaert, E. Vandermeulen, S. Daminet, J.H. Saunders, K. Peremans

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

veerlevolckaert@gmail.com

ABSTRACT

In the first part of this review article, thyroid anatomy, physiology and pathophysiology are reviewed to continue more specifically on hyperthyroidism, the most common thyroid disorder in cats. The diagnostic work-up of this disorder is discussed with emphasis on thyroid gland imaging. Scintigraphy is most commonly used and best suited to assess thyroid function, which will be discussed extensively in the second part of this review article. All other available imaging modalities do not offer a functional assessment and are therefore of limited use in the diagnosis and evaluation of hyperthyroidism.

SAMENVATTING

In het eerste deel van dit overzichtsartikel worden de schildklieranatomie, fysiologie en pathofysiologie bij katten besproken. Vervolgens wordt de nadruk gelegd op hyperthyreoïdie, de meest voorkomende schildkliergerelateerde aandoening bij katten. De diagnosestelling wordt verder besproken met nadruk op de medische beeldvorming. Scintigrafie is veruit de meest gebruikte en geschikte techniek om de schildklierfunctie te evalueren. Daarop wordt in het tweede deel van dit overzichtsartikel dieper ingegaan. Andere beeldvormingsmodaliteiten bieden geen evaluatie van de schildklierfunctie en zijn daarom van minder belang voor de diagnose en evaluatie van hyperthyreoïdie.

THYROID GLAND ANATOMY

The thyroid glands are two small elongated structures, located caudal to the larynx and lateral to the trachea on each side (Figures 1 and 2). Ventrally, they are covered by the sternothyroid muscle and laterally by the sternocephalic and sternohyoid muscles. The recurrent laryngeal nerve passes over their dorsal aspect. The size of a single lobe in cats is approximately 2 cm in length and 0.3 cm in width. The size of the gland can vary depending on factors such as the dietary iodine content. In case of iodine deficiency for example, the thyroid gland will increase in size (Dyce et al., 2010a; Dyce et al., 2010b). The presence of accessory, also called ectopic thyroid tissue, is not uncommon. This can occur in any location from the larynx along the trachea, at the level of the thoracic inlet or along the thoracic part of the descending aorta until the level of the diaphragm. An epithelial outgrowth from the pharyngeal floor gives rise to the thyroïdal primordium, which is closely associated to the aortic

sac during development. The thyroïdal primordium will divide itself in two parts during development, expand laterally, and form the two separate thyroid lobes. At the same time, a migration from the region of origin at the tongue base towards its normal cervical position will take place. Little islets of thyroid cells can separate from the thyroïdal primordium and become incorporated in developing structures of the thorax and brachial arch region due to this close relationship with the developing aortic sac. These islets will then form foci of ectopic thyroid tissue (Capen, 2007; Lynn et al., 2009; Dyce et al., 2010a; Dyce et al., 2010b; De Felice and Di Lauro, 2011; Peterson and Broome, 2015).

Each thyroid lobe is vascularized by a cranial thyroid artery, branching from the common carotid artery at the level of the larynx. Venous drainage occurs by cranial and caudal thyroid veins, draining into the internal jugular veins or into the larger veins at the level of the thoracic inlet. Lymphatic drainage is provided by the deep cranial cervical lymph nodes. Nervous in-

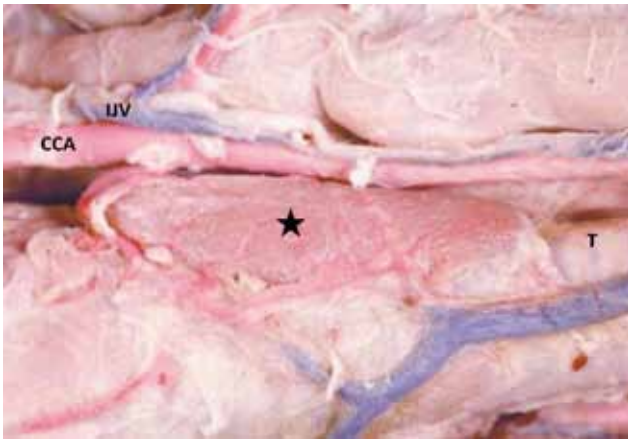


Figure 1. Anatomical image of a feline thyroid gland (Star : thyroid gland ; IJV : internal jugular vein; CCA: common carotid artery; T: trachea) (Sebastiani and Fishbeck, 2005).

nerve consists of both sympathetic origin, via the cranial cervical ganglia, and parasympathetic origin, via laryngeal branches of the vagus nerve. Their most important function is vasomotor control.

The thyroid glands are each associated with usually four parathyroid glands, two external to the thyroid gland cranially and two embedded within the thyroid capsule or thyroidal parenchyma caudally. In cats, the cranial parathyroid gland can descend and locate itself near the caudal pole (Dyce et al., 2010a; Dyce et al., 2010b).

THYROID GLAND PHYSIOLOGY: SYNTHESIS AND SECRETION OF THYROID HORMONES

The process starts at the level of the intestinal tract where iodine is trapped and converted to iodide that is transported by the blood. At the level of the thyroid, the iodide ion (I^-) will be extracted from the blood stream by the sodium iodide (Na^+I^-) symporters (NIS) of the thyroid follicular cells. The iodide ion is then oxidized to iodine (I_2) by the peroxidase enzyme and tyrosine will be incorporated in thyroglobine, a glycoprotein produced by the thyroid follicular cells. The tyrosyl residues will then be attached to iodine to form monoiodotyrosine (MIT) and diiodotyrosine (DIT). These can be coupled with the help of the thyroperoxidase enzyme to form biologically active iodothyronines: tetraiodothyronine or thyroxine (T_4) and triiodothyronine (T_3). These molecules are stored outside the peripheral follicular cells, within the colloid, which forms the center of a thyroid follicle and where a large reserve can be stored. When these molecules return to the follicular cell lumen and fuse with lysosomes, T_4 and T_3 are cleaved from the thyroglobin and can be secreted into the blood stream. In the peripheral tissues, mainly the liver and kidneys, a large amount of T_4 is deiodinated to T_3 , the more potent hormone (Capen, 2007; Klein, 2012b) (Figure 3).

Thyrotropin-releasing hormone (TRH), produced

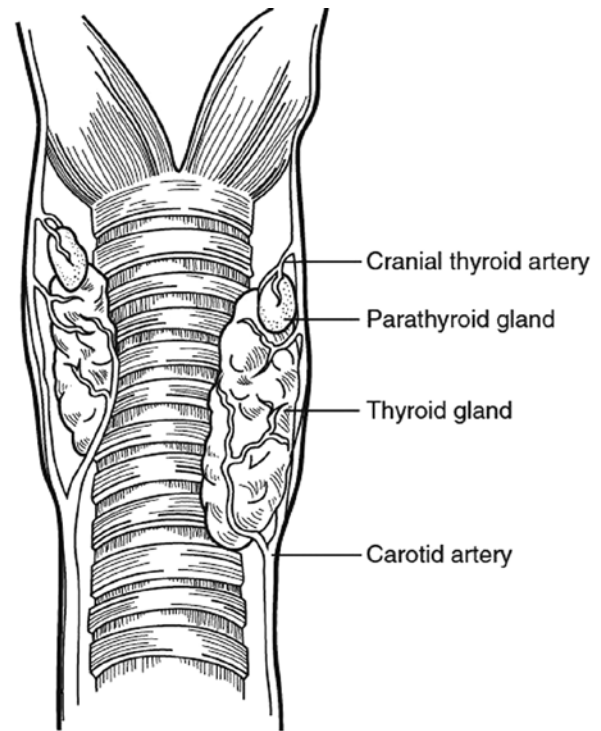


Figure 2. Drawing of the anatomy of the thyroid glands in a cat (Scott-Moncrieff, 2015).

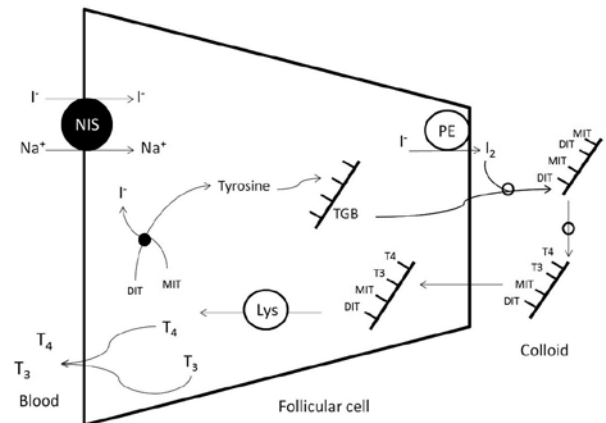


Figure 3. Schematic representation of the thyroid hormone synthesis. (NIS: sodium iodide symporter; TGB: thyroglobuline; PE/black circle: thyroid peroxidase enzyme; MIT: monoiodotyrosine; DIT: diiodotyrosine; Lys: lysosome).

by the hypothalamus, and thyroid stimulating hormone (TSH), produced by the adenohypophysis and released into the bloodstream in response to TRH, are the two controlling factors of thyroid hormone secretion. They interact together in a negative feedback system controlling serum hormone concentrations (hypothalamus-hypophysis-thyroid-axis). When the thyroid hormone concentration in the blood stream decreases, the hypothalamus is triggered to release TRH into the portal system of the adenohypophysis. TSH will then be secreted and stimulate the thyroid glands to increase the expression of the NIS and increase the

production and release of hormones. The reverse is also true, when the thyroid hormone concentration in the blood increases, the synthesis and release will be decreased (Capen, 2007; Klein, 2012a).

Thyroid hormones are responsible for the basal metabolic regulation. They work at all levels of the metabolism and are known to work generally catabolic. They cause an increased intestinal absorption of glucose and increased glycolysis and gluconeogenesis; an increase in the protein synthesis and lipid metabolism. At the same time, they will activate lipoprotein lipase and create an increase sensitivity of the adipose tissue to lipolysis, regulated by other hormones. They also increase the conversion of cholesterol into bile acids and other substances. All these processes increase the oxygen consumption and heat production of tissues and as a consequence the body temperature will increase. Other effects that can be observed are an increase in heart frequency, contraction force, cardiac output and finally blood flow; and an increase in neural transmission and cerebation. Thyroid hormones are also responsible for the development of the nervous system in young animals and normal growth and development in cooperation with growth hormone (Capen, 2007; Klein, 2012b).

FELINE HYPERTHYROIDISM

Hyperthyroidism refers to the overproduction of thyroid hormones from abnormally functioning thyroid tissue and is the most common endocrine disorder in middle to older aged feline patients. It was first described in the late seventies and early nineteen-eighties (Peterson et al., 1979; Holzworth et al., 1980, O'Brien et al., 1980; Jones et al., 1981; Watson et al., 1981). The prevalence of hyperthyroidism in cats has much increased since it was first reported. Increased awareness of the disease, environmental factors and better veterinary care most likely play an important role in this aspect. The overall prevalence varies geographically from 2.4% to 11.4%, with more specifically a prevalence of 8.7 to 11.4% in older cats. Only about 5% of hyperthyroid cats are younger than ten years at the time of diagnosis (Mooney, 2010; McLean et al., 2014, Stephens et al., 2014; Scott-Moncrieff, 2015).

Etiology

The underlying factors causing hyperthyroidism in cats are unknown. Multiple factors have been suggested to increase the risk of development of this disease, e.g. the consumption of mainly canned food, an indoor lifestyle, using cat litter, sleeping on the floor gathering dust enriched with chemicals that may be ingested during grooming, treatment with flea powders, exposure to herbicides and fertilizers, and other goitrogenic substances, e.g. present in soy. Other factors that might influence the disease development are the selenium and iodine content of the food (Gerber

et al., 1994; Capen, 2007; Mooney, 2010; Hill and Shaw, 2014; McLean et al., 2014; Peterson, 2014; Scott-Moncrieff, 2015; van Hoek et al., 2015). Some of these substances are believed to mimic T₄ and therefore stimulate cell division in the thyroid gland, increasing the risk of developing hyperthyroidism, although no conclusive evidence is available to support these theories.

In humans, two conditions associated with hyperthyroidism are known. Graves' disease is an autoimmune disorder where antibodies mimicking TSH bind to the TSH receptors. The role of antibodies in feline hyperthyroidism has been questioned but to this day, no evidence for a similar pathogenesis has been found (Nguyen et al., 2002; Mooney, 2010; Peterson, 2014). Gene mutations may also play a role in the pathogenesis (Peterson, 2014). Feline hyperthyroidism was found to resemble toxic nodular goiter in humans, also known as Plummer's disease, a progressive disease, due to the intrinsic growth of autonomously functioning thyroid nodules. The initiating cause to this growth however is unknown (Gerber et al., 1994; Peterson, 2014).

Feline hyperthyroidism in cats is most commonly secondary to functional (multi)nodular adenomatous hyperplasia (70 - 75%) or follicular cell adenomas (20 - 25%). A combination of both is also possible. More rarely, in about 1-3% of the cases, a thyroid carcinoma is present. Adenomas are mostly small, solid nodules that compress the remaining normal thyroid parenchyma. When these tumors become very large, necrosis, mineralization and cyst formation can occur (Phillips et al., 2003; Bailey and Page, 2007; Capen, 2007; Mooney, 2010; Peterson, 2014). These cystic adenomas can compress surrounding structures and may or may not be functional (Hofmeister et al., 2001; Phillips et al., 2003).

Thyroid carcinomas are often large tumors, with areas of necrosis, hemorrhage and possible mineralization. They can be locally invasive, and may metastasize to the lungs and lymph nodes (retropharyngeal and caudal cervical lymph nodes). It has been suggested that the prevalence of malignancy increases with the duration of the disease (Cook et al., 1993; Capen, 2007; Bailey and Page, 2007; Peterson et al., 2015a). The most common underlying disease, adenomatous hyperplasia, is commonly bilateral, in about 70% of cases and unilaterally in about 30% of hyperthyroid cats. Any of these underlying pathologies can also develop within ectopic tissue. A definitive diagnosis of the underlying disease can only be made by histopathology (Bailey and Page, 2007; Capen, 2007; Mooney, 2010).

Diagnosis of hyperthyroidism

The diagnostic work-up of hyperthyroidism is often based on a strong clinical suspicion. However, the disease may sometimes be accidentally recognized on annual health screenings. The diagnosis starts with an anamnesis and clinical examination and is completed

with a blood test and often the use of medical imaging, where scintigraphy stands out as the most important modality.

Clinical features

Clinical hyperthyroidism is the result of the increased production of thyroid hormones by thyroid pathology and the effect of these hormones throughout the body. As previously discussed, thyroid hormones have a broad range of action and consequently, clinical signs are variable and multisystemic. Cats are limited in their ability to metabolize and excrete T_4 with the bile compared to dogs. Therefore, they will show clinical signs more easily, even with small increases in thyroid hormone concentrations (Capen, 2007).

Hyperthyroidism is a disease typically seen in middle-aged to older cats. A large age range has been reported, from 2 to 23 years, with an average age of 12 – 13 years. A case of juvenile hyperthyroidism was reported in an eight-month-old cat that had typical clinical signs accompanied by a palpable thyroid nodule and an increased serum T_4 and T_3 . The etiology for this early occurrence of hyperthyroidism could not be explained. There is no sex predilection for the disease; but regarding breed, some authors have reported an influence, with purebred cats and more specifically Himalayan and Siamese cats to have a decreased risk of developing hyperthyroidism (Gordon et al., 2003; Mooney, 2010; Klein, 2012b; Peterson and Broome, 2015). In a recent study, it has been described that the prevalence of different aspects of hyperthyroidism increases with duration of the disease: an increased serum total T_4 and T/S ratio; larger thyroid mass volumes; an increased number of patients with multifocal disease and intrathoracic masses; as well as an increased risk for suspected malignancy has been observed in patients that had been diagnosed for the longest time (Peterson et al., 2015a).

The most important clinical sign is weight loss while preserving a good to increased appetite. Other symptoms that have been described are hyperactivity, increased body temperature, aggressiveness, stress intolerance, altered behavior, muscle weakness/atrophy, hair coat changes, polyuria/polydipsia, systemic hypertension, polyphagia, vomiting, increased frequency of defecation with an increased volume of stool, diarrhea, tachycardia, systolic murmurs, cardiac arrhythmias, a mild form HCM with longstanding disease, tachypnea, panting, dyspnea, palpable cervical nodule(s) and papillary dilation (Holzworth et al., 1980; Bucknell, 2000; Capen, 2007; Mooney, 2010; Klein, 2012b; Peterson, 2014; Scott-Moncrieff, 2015). The atypical form of hyperthyroidism, also known as apathetic or masked hyperthyroidism, is associated with signs of depression and anorexia, often still accompanied by weight loss. It is important to keep in mind that not all hyperthyroid patients demonstrate the typical clinical presentation and signs may be subtle, especially in early stages (Bucknell,

2000; Mooney, 2010; Peterson, 2013b). An additional part of the clinical examination in cats, and especially when hyperthyroidism is suspected, is palpation of the thyroid glands. This is a simple and reliable diagnostic aid and a significant difference between normal and hyperthyroid cat palpation scores have been found in different studies (Norsworthy et al., 2002; Paepe et al., 2008; Boretti et al., 2009; Scott-Moncrieff, 2015).

It has to be borne in mind that thyroid nodules may also be an incidental finding, e.g. rare nonfunctional thyroid tumors, thyroid cysts, so finding a nodule on cervical palpation will not always translate itself in hyperthyroidism. Moreover, a cervical nodule can be of non-thyroidal origin, e.g. salivary gland disease, lymphadenopathy, a cervical abscess or granuloma (Capen, 2007; Peterson, 2013a; Peterson, 2013b; Scott-Moncrieff, 2015).

Blood Tests

Diagnosing hyperthyroidism usually starts with the measurement of the total T_4 . An increased T_4 is indicative for hyperthyroidism. T_3 is less commonly measured but is also clearly increased in most hyperthyroid patients. Both are good markers for the disease; however, T_3 is not recommended as a screening test, since it is within the normal reference range in about 25 to 30% of the hyperthyroid cats and both T_4 and T_3 might be falsely low in animals with (concomitant) non-thyroidal illness (Capen, 2007; Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010; Klein, 2012b; Peterson, 2013a; Peterson, 2013b; Peterson et al., 2015b).

Hyperthyroidism is a progressive disease that may sometimes be diagnosed in an early stage, when the clinical signs are still subtle and when T_4 measurements may still be within normal limits in a small number of cases. The opposite may also occur: a patient not showing any clinical signs can demonstrate a mildly elevated T_4 on a check-up blood test (Capen, 2007; Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010; Peterson, 2013a; Peterson, 2013b; Peterson et al., 2015b). To confirm true hyperthyroidism in these patients, several options are available. First of all, a recheck T_4 measurement can be performed two to three weeks later, relying on the progressive nature of the disease, at the same time assuring that any potential concurrent disease has cured or has been treated. As hyperthyroid cats are usually older animals, it is important to consider the presence of non-thyroidal illness in these animals with normal or doubtful T_4 measurements. Moreover, when dealing with mild hyperthyroidism, it is known that the T_4 concentration may still fluctuate in and out of the normal reference range, making a final diagnosis challenging. Dynamic tests such as the T_3 suppression test can be performed as well. However, these tests are not often used. The T_3 suppression test has been found more sensitive for excluding hyperthyroidism rather than confirming the disease (Capen, 2007; Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010; Peterson, 2013a; Peterson, 2013b; Peterson, 2014).

The free T_4 (fT_4) concentration may also be measured and may be of additional help in cases where the T_4 has not yet clearly increased or when the patient's clinical state is doubtful, as it is more sensitive than T_4 . Since fT_4 increases whenever the T_4 has increased, it is of little use in the more straightforward cases of hyperthyroidism, and the cost of this analysis is much higher than for T_4 . There is however the problem that fT_4 increases in animals with non-thyroidal illness and may even be increased in normal animals, potentially creating false positive diagnoses if this is the only measurement performed (Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010; Klein, 2012b; Peterson, 2013a; Peterson, 2013b; Peterson and Broome, 2015; Peterson et al., 2015b). The method of measurement is also important for the determination of the fT_4 level, with the equilibrium dialysis being considered as the gold standard. This is an expensive technique, and is not performed in commercial laboratories. Other commercial techniques, like the modified equilibrium dialysis (MED) or analog radioimmunoassay (RIA), have shown to have an acceptable performance (Peterson, 2013a; Peterson, 2013b; Scott-Moncrieff, 2015).

TSH is commonly measured in human medicine for diagnosing hyperthyroidism. Unfortunately, to this day, no TSH assay has been made available for feline patients. The canine TSH assay may be used for cats but does not appear sensitive enough to differentiate all hyperthyroid cats from normal cats. As expected, the TSH measurement is low or unmeasurable on the canine TSH assay in hyperthyroid cats. However, low or undetectable measurements are also seen in euthyroid patients, or patients with non-thyroidal illness. Excluding hyperthyroidism may therefore be a more useful aspect of this test and TSH should not be used as a sole diagnostic parameter (Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010; Peterson, 2013a; Peterson, 2013b; Peterson, 2014; Peterson et al., 2015b). In contrary to normal cats, TSH stimulation will not create a significant increase in T_4 or T_3 concentrations in hyperthyroid cats, as the cells responsible for the excess hormone concentration function autonomously, and the surrounding tissue is suppressed and atrophied. For patients in an early stage, the test is however not sensitive, and moreover, the high cost of recombinant human TSH that may be used for cats have made this test of little importance in practice (Stegeman et al., 2003; Capen, 2007; Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010). Another test that may be used is the TRH stimulation test. However, it is again of limited specificity and the administration of TRH is commonly accompanied by side effects, such as vomiting, salivation, tachypnea and defecation (Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010).

The most common changes on hematology or biochemistry profiles are a high packed cell volume (PCV), mean corpuscular volume (MCV), red blood cell count and hemoglobin concentration. Rarely, anemia may occur. Leukocytosis, neutrophilia, lymphopenia and eosinopenia can be observed, likely secondary to a stress response of increased catecholamines.

Increased liver enzymes, often very pronounced, are common: alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP), lactate dehydrogenase (LDH), and aspartate aminotransferase (AST). A correlation between the concentration of AP and T_4 has been suggested. Liver function tests on the contrary are within normal limits and cholesterol can be decreased due to an increased clearance. While urea concentrations (BUN) may be increased or decreased, creatinine concentrations are low, possibly due to an overall loss of muscle mass in hyperthyroid cats and an increased glomerular filtration rate by the kidneys under the influence of increased thyroxine concentrations. Hyperphosphatemia, low calcium and increased levels of parathyroid hormone (PTH) are possible due to increased bone metabolism (Holzworth et al., 1980; Adams et al., 1997; Capen, 2007; Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010; Klein, 2012b).

THYROID GLAND IMAGING

A small review of the literature on the imaging of thyroid glands in both normal and hyperthyroid cats is given. In contrary to scintigraphy, which will be discussed in the second part of this review article, radiography, CT, MRI or ultrasonography are of little value for the diagnosis of hyperthyroidism.

Although on rare occasions when patients undergo imaging for non-thyroid related disease, an abnormal thyroid gland may be noticed as an incidental finding, leading to further examination and possibly an early stage diagnosis of hyperthyroidism can be made.

Ultrasonography

Normal thyroid lobes are ellipsoid or fusiform in shape with a more rounded cranial and a pointed caudal pole on longitudinal plane, and as ovoid to triangular to polygonal in shape on the transverse plane. The lobes have a homogeneous appearance and are mildly hyperechoic compared to their surrounding musculature. They are outlined by a thin hyperechoic capsule (Wisner et al., 1994; Wisner et al., 2002; Zwingenberger and Wisner, 2008; Taeymans, 2011). Occasionally, the lobes show hypo- or hyperechoic foci or diffuse mottling of the parenchyma (Zwingenberger and Wisner, 2008).

The size and volume of a normal feline thyroid gland have been reported on ultrasonography. A single thyroid lobe measures approximately 2 cm in length, 0.2 cm in width and 0.3 cm in height. The normal mean total thyroid volume is 169 mm³, with a mean thyroid lobe volume of 85 mm³ (Wisner et al., 1994; Taeymans, 2011) and a significant increased volume was detected for thyroid glands in hyperthyroid cats (Wisner et al., 1994). In that study, another interesting finding was the fair correlation observed between the total thyroid volume and serum T_4 concentration of hyperthyroid cats.

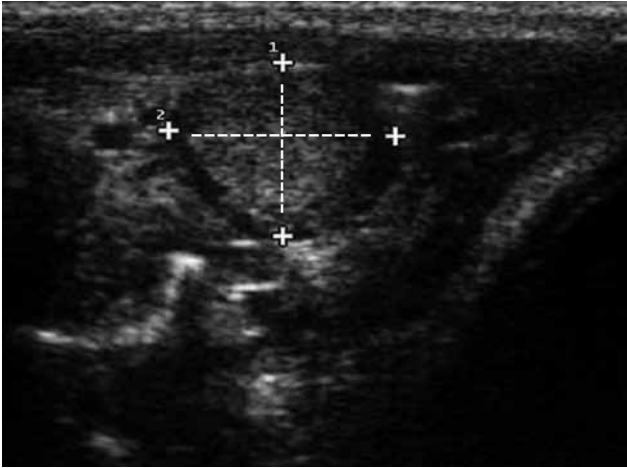


Figure 4. Transverse ultrasonographic image. A diffusely affected, mildly heterogeneous, enlarged right thyroid gland in a cat with hyperthyroidism. The calipers indicate the height (2) and width (1) of the lesion.



Figure 5. Lateral radiograph of the cervical area of a 15-year-old cat with hyperthyroidism and a severely enlarged thyroid gland (star). The enlarged thyroid gland is visualized as an ovoid, well-defined, soft tissue opacity ventral to the third and fourth cervical vertebrae. The lesion is creating a ventral displacement of the trachea and is well visualized thanks to the presence of a moderate amount of gas in the esophagus surrounding it. Wet hair artifacts are seen superimposed onto the ventral cervical region.

The parathyroid glands may be visualized on ultrasonography, adjacent to or embedded within the parenchyma. They are oval to round structures, up to 3.3 mm in diameter, hypoechoic to almost anechoic and may be difficult to differentiate from vessels, small cystic lesions or thyroid lobules. Their location and number may vary (Wisner et al., 2002; Zwingenberger and Wisner, 2008; Liles, 2010; Taeymans, 2011).

The use of ultrasonography in thyroid pathology has been described for the diagnosis of canine primary hypothyroidism and the differentiation from sick euthyroid syndrome, as well as for the diagnosis and work-up of thyroid cysts and neoplasia in both dogs

and cats (Wisner et al., 2002; Phillips et al., 2003; Taeymans et al., 2007; Taeymans, 2011). The ultrasonographic appearance of adenomas or adenomatous hyperplasia causing hyperthyroidism in cats, may show different features (Figure 4). The lobe can be diffusely affected or show a discrete nodule deforming the normal outline. The lobe is usually increased in size, more rounded and has an increased vascularization. It becomes hypoechoic and heterogeneous. Anechoic areas may be observed, presenting necrosis or cystic lesions. In cats with a unilateral hyperthyroid adenoma or adenomatous hyperplasia, the other lobe is difficult to find or cannot be found at all (Wisner et al., 1994; Wisner et al., 2002; Zwingenberger and Wisner, 2008; Barberet et al., 2010; Mooney, 2010; Taeymans, 2011). Foci of mineralization have also been described in a cat with suspected benign disease (Barberet et al., 2010). On ultrasonography, thyroid carcinomas present as heterogeneous, hypoechoic masses with a variable delineation. Mineralization within these masses as well as invasion of adjacent structures has been described, and local lymph nodes should be checked for metastatic infiltration (Wisner et al., 2002; Zwingenberger and Wisner, 2008; Taeymans, 2011). Ectopic thyroid tissue can be present anywhere from the larynx until the level of the diaphragm and it is therefore important to always scan at least the entire cervical region (Capen, 2007; Lynn et al., 2009; Dyce et al., 2010a; Dyce et al., 2010b; De Felice and Di Lauro, 2011; Peterson and Broome, 2015). In a study comparing the diagnostic ability of ultrasonography and scintigraphy for hyperthyroidism in cats, a fair agreement of 85.7% was found in differentiating normal from abnormal thyroid lobes. Despite being an excellent imaging tool and permitting visualization of abnormal thyroid glands, it has been concluded however that ultrasonography cannot replace scintigraphy as a diagnostic tool for hyperthyroidism, especially for evaluating potential metastatic and ectopic lesions (Wisner et al., 1994). Ultrasonography has also been described in the follow-up of hyperthyroid cats after receiving radioiodine therapy to assess the visible changes that took place. At six months after therapy, the lobar volume had markedly decreased by approximately 75%, and there was a significant decrease of the rounded shape, the heterogeneity and the vascularization of the parenchyma (Barberet et al., 2010).

Radiography

Normal thyroid glands are not visible on radiography. In case of severe thyroid gland enlargement, they may become visible as a soft tissue mass effect in the cervical region or in the mediastinal region in case of ectopic thyroid tissue pathology (Phillips et al., 2003; Baines, 2008; Hayward et al., 2008) (Figure 5). However, radiography cannot differentiate these lesions from other soft tissue masses. When a thyroid carcinoma is suspected or confirmed, radiography can be used as a screening for pulmonary metastases (Figure 6). In about 50% of cats with hyperthyroidism,

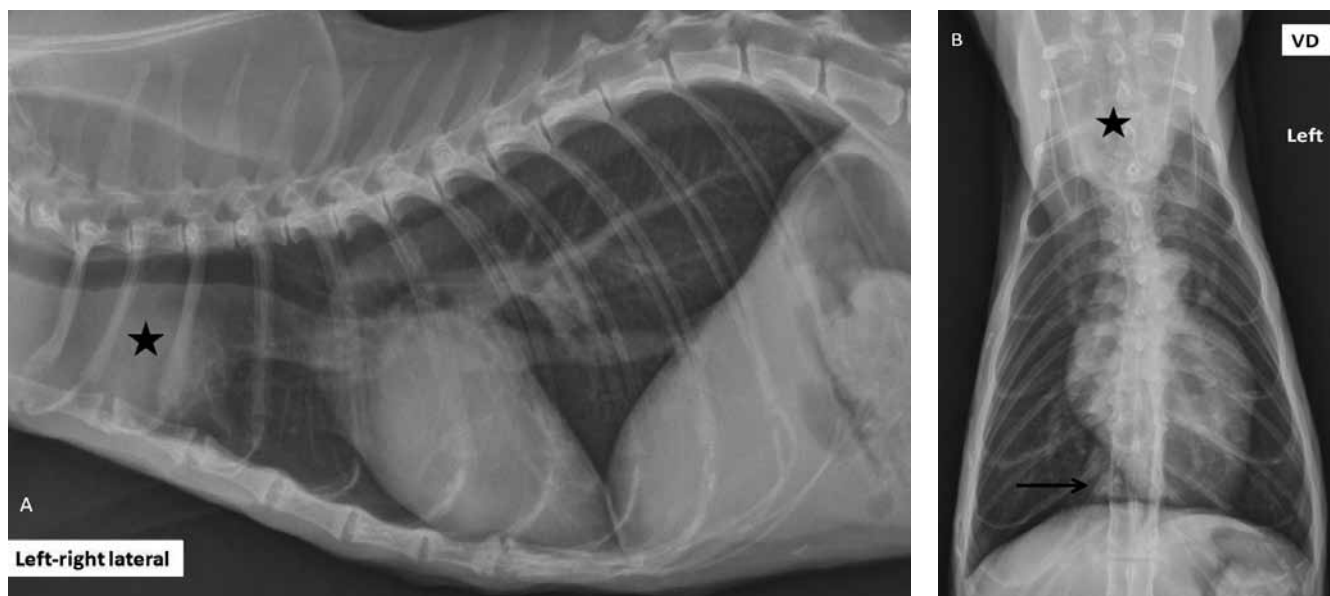


Figure 6. A. Left to right lateral projection of the thorax of a fourteen-year-old cat with hyperthyroidism. A large, ill-defined, rounded, soft tissue opacity (star) is seen in the cranial mediastinum at the level of the first – third intercostal space, creating a dorsal displacement of the trachea. B. A small pulmonary lesion is seen right to the midline on the ventrodorsal projection (VD), superimposed onto the caudal vena cava, and at the level of the seventh intercostal space on the lateral projection (arrow). On further examinations, these lesions were found to be compatible with a large thyroid carcinoma and pulmonary metastasis.

cardiomegaly can be observed on thoracic radiography, with or without secondary signs of heart failure. This is most commonly due to a certain degree of hypertrophic cardiomyopathy, or dilated cardiomyopathy in rare cases (Holzworth et al., 1980; Mooney, 2010).

Computed tomography

Due to the high iodine content of the thyroid glands, these structures have a characteristic hyperattenuating appearance compared to their surrounding tissues on computed tomography (CT). The Hounsfield units (HU) of a normal feline thyroid gland ranges around 123.2 HU on precontrast images, around 168.5 HU

immediately after intravenous contrast administration and around 132.1 HU with delayed contrast imaging ($t = 8.6 \pm 3.0$ minutes). The thyroid glands are recognized as ovoid, homogeneous structures dorsolateral to the trachea, between the second and fourth cervical vertebrae (Drost et al., 2004; Drost et al., 2006; Taeymans and Schwarz, 2011) (Figure 7).

CT of the thyroid glands in hyperthyroid cats shows that the oval shape is usually maintained with smooth delineation, while being moderately increased in size. In case of bilateral disease, the most active lobe on scintigraphy is usually the largest one detected on CT. The affected lobes most commonly become isoattenuating to their surrounding soft tissues and show a heterogeneous appearance. Less commonly, minerali-

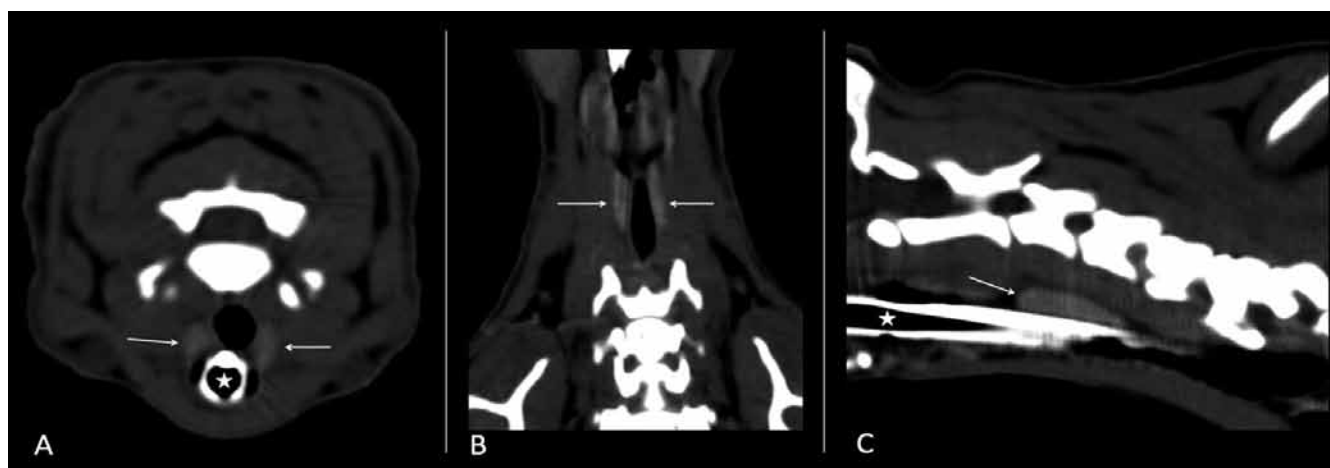


Figure 7. Precontrast transverse image (A), at the level of C3, and postcontrast dorsal (B) and sagittal plane (C) CT images of the thyroid glands of a normal cat (arrows). An endotracheal tube is present in the lumen of the trachea (star). Note the higher attenuation of the thyroid glands compared to the surrounding musculature.

zation within the parenchyma has also been observed. The loss of the normal strong attenuation has been proposed to be caused by an increased amount of follicular cells and interstitial tissue associated with a decrease in the normally high iodine concentration (Lautenschlaeger et al., 2013). This loss of normal thyroid gland hyperattenuation has also been reported in a rare case of hypothyroidism due to follicular hyperplasia in a five-year-old cat (Galgano et al., 2014). CT images of a hyperthyroid cat with a cystic thyroid lesion are illustrated in Figure 8.

Magnetic resonance imaging

The normal size and appearance of thyroid glands on MRI have been described in dogs but not yet in cats (Taeymans et al., 2008). One case of a cystic adenoma in a cat on MRI has been reported in the literature. The lesion was hyperintense on T₂-proton density (PD)-, and T₂-fat suppressed weighted images, with a fluid line and decreased signal intensity in the dependent part of the mass. The wall had a signal intensity similar to the surrounding soft tissues. The other thyroid lobe in this cat had similar signal intensities to the large mass and was found to be a hyperplastic thyroid gland as well on the following scintigram (Hofmeister et al., 2001).

CONCLUSION

Hyperthyroidism is a commonly recognized disease in cats, with a variable but often rather typical clinical appearance. The exact etiology behind the disorder is unknown and is most likely multifactorial. Important factors of the diagnostic work-up include thyroid palpation and blood examination, with T₄ as the primary parameter to be measured. Non-functional imaging modalities are of little diagnostic aid, and should not be routinely performed when hyperthyroidism is suspected.

REFERENCES

- Adams W.H., Daniel G.B., Legendre A.M. (1997). Investigation of the effects of hyperthyroidism on renal function in the cat. *Canadian Journal of Veterinary Research* 61, 53 – 56.
- Bailey D.B., Page R.L. (2007). Tumors of the endocrine system. In: Withrow S.J. and Vail D.M. (editors). *Withrow and Macewen's Small Animal Clinical Oncology*. Fourth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 583 – 609.
- Baines E. (2008). The mediastinum. In: Schwarz T., Johnson V. (editors). *BSAVA Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging*. British Small Animal Veterinary Association, Waterwells Business Park, Quedgeley, Gloucester, UK, p. 177 – 199.
- Barberet V., Baeumlin Y., Taeymans O., Duchateau L., Peremans K., van Hoek I., Daminet S., Saunders J.H.

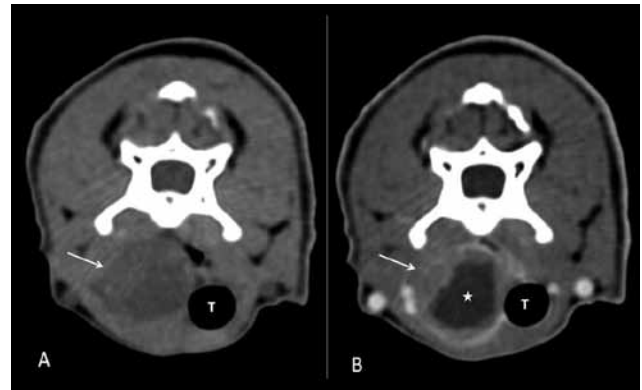


Figure 8. Pre- (A) and postcontrast (B), transverse CT images of a 15-year-old cat with hyperthyroidism. This is the same cat as in Figure 4. Note that the center of the lesion is non-contrast enhancing (star), suggesting a cystic thyroid lesion. This cystic nature was confirmed on ultrasonography (arrow: enlarged thyroid gland; T: trachea).

- (2010). Pre- and posttreatment ultrasonography of the thyroid gland in hyperthyroid cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 51, 324 – 330.
- Boretti F.S., Sieber-Ruckstuhl N.S., Gerber B., Laluha P., Baumgartner C., Lutz H., Hofmann-Lehmann R., Reusch C.E. (2009). Thyroid enlargement and its relationship to clinicopathological parameters and T(4) status in suspected hyperthyroid cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11, 286 – 292.
- Bucknell D.G. (2000). Feline hyperthyroidism: spectrum of clinical presentations and response to carbimazole therapy. *Australian Veterinary Journal* 78, 462 – 465.
- Capen C.C. (2007). Endocrine glands, thyroid gland. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N.C. (editors). *Pathology of Domestic Animals*. Fifth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 379 – 407.
- Cook S.M., Daniel G.B., Walker M.A., Maddux J.M., Jenkins C.C., Klebanow E.R., Bouley D.M., Dean D.F., Petersen M.G. (1993). Radiographic and scintigraphic evidence of focal pulmonary neoplasia in three cats with hyperthyroidism: diagnostic and therapeutic considerations. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 7, 303 – 308.
- De Felice M., Di Lauro R. (2011). Minireview: intrinsic and extrinsic factors in thyroid gland development: an update. *Endocrinology* 152, 2948 – 2956.
- Drost W.T., Mattoon J.S., Samii V.F., Weisbrode S.E., Hoshaw-Woodard S.L. (2004). Computed tomographic densitometry of normal feline thyroid glands. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 45, 112–116.
- Drost W.T., Mattoon J.S., Weisbrode S.E. (2006). Use of helical computed tomography for measurement of thyroid glands in clinically normal cats. *American Journal of Veterinary Research* 67, 467 – 471.
- Dyce K.M., Sack, W. O., Wensing, C.J.G. (2010a). The endocrine glands. In: Dyce K.M., Sack, W. O. and Wensing, C.J.G. (editors). *Textbook of Veterinary Anatomy*. Fourth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 216 – 222.
- Dyce K.M., Sack, W. O., Wensing, C.J.G. (2010b). The head and ventral neck of the dog and cat. In: Dyce K.M., Sack, W. O., Wensing, C.J.G. (editors). *Textbook of Vete-*

- rinary Anatomy*. Fourth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 374 – 406.
- Galgano M., Spalla I., Callegari C., Patruno M., Auriemma E., Zanna G., Ferro S., Zini E. (2014). Primary hypothyroidism and thyroid goiter in an adult cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28, 682 – 686.
- Gerber H., Peter H., Ferguson D.C., Peterson M.E. (1994). Etiopathology of feline toxic nodular goiter. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 24, 541 – 565.
- Gordon J.M., Ehrhart E.J., Sisson D.D., Jones M.A. (2003). Juvenile hyperthyroidism in a cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 39, 67 – 71.
- Hayward N., Schwarz T. and Weisse C. (2008). The trachea. In: Schwarz T., Johnson V. (editors). *Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging*. British Small Animal Veterinary Association, Waterwells Business Park, Quedgeley, Gloucester, UK, p. 213 – 227.
- Hill K.E., Shaw I.C. (2014). Does exposure to thyroxine-mimics cause feline thyroid hyperplasia? *Veterinary Record* 175, 228 – 229.
- Hofmeister E., Kippenes H., Mealey K.L., Cantor G.H., Löhr C.V. (2001). Functional cystic thyroid adenoma in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 219, 190-193.
- Holzworth J., Theran P., Carpenter J.L., Harpster N.K., Todoroff R.J. (1980). Hyperthyroidism in the cat: ten cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 176, 345 – 353.
- Jones B.R., Johnstone A.C. (1981). Hyperthyroidism in an aged cat. *New Zealand Veterinary Journal* 29, 70 – 72.
- Klein B.G. (2012a). The endocrine system. In: Klein B.G. (editors). *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. Fifth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 410 – 427.
- Klein B.G. (2012b). Endocrine glands and their function. In: Klein B.G. (editors). *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. Fifth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 428 – 464.
- Lautenschlaeger I.E., Hartmann A., Sicken J., Mohrs S., Scholz V.B., Neiger R., Kramer M. (2013). Comparison between computed tomography and ^{99m}Tc-pertechnetate scintigraphy characteristics of the thyroid gland in cats with hyperthyroidism. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 54, 666 – 673.
- Liles S.R., Linder K.E., Cain B., Pease A.P. (2010). Ultrasonography of histologically normal parathyroid glands and thyroid lobules in normocalcemic dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 51, 447 – 452.
- Lynn A., Dockins J.M., Kuehn N.F., Kerstetter K.K., Gardiner D. (2009). Caudal mediastinal thyroglossal duct cyst in a cat. *Journal of Small Animal Practice* 50, 147 – 150.
- McLean J.L., Lobetti R.G., Schoeman J.P. (2014). World-wide prevalence and risk factors for feline hyperthyroidism: a review. *Journal of the South African Veterinary Association* 85, 1097.
- Mooney C.T. (2010). Hyperthyroidism. In: Ettinger S.J., Feldman E.C. (editors). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Seventh edition, Volume 2, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 1761 – 1779.
- Nguyen L.Q., Arseven O.K., Gerber H., Stein B.S., Jameison J.L., Kopp P. (2002). Cloning of the cat TSH receptor and evidence against an autoimmune etiology of feline hyperthyroidism. *Endocrinology* 143, 395 – 402.
- Norsworthy G.D., Adams V.J., McElhane M.R., Milios J.A. (2002). Relationship between semi-quantitative thyroid palpation and total thyroxine concentration in cats with and without hyperthyroidism. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 4, 139 – 143.
- O'Brien S.E., Riley J.H., Hagemoser W.A. (1980). Unilateral thyroid neoplasm in a cat. *Veterinary Record* 107, 199 – 200.
- Paape D., Smets P., van Hoek I., Saunders J., Duchateau L., Daminet S. (2008). Within- and between-examiner agreement for two thyroid palpation techniques in healthy and hyperthyroid cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 10, 558 – 565.
- Peterson M.E., Johnson J.G., Andrews L.K. (1979). Spontaneous hyperthyroidism in the cat. In: *Scientific Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine*, 108.
- Peterson M.E. (2013a). Feline focus. Diagnostic testing for feline thyroid disease: hyperthyroidism. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians* 35, E1 – E6.
- Peterson M.E. (2013b). More than just T4. Diagnostic testing for hyperthyroidism in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 15, 765 – 777.
- Peterson M.E. (2014). Feline hyperthyroidism: an animal model for toxic nodular goiter. *Journal of Endocrinology* 223, 97 – 114.
- Peterson M.E., Broome M.R. (2015). Thyroid scintigraphy findings in 2096 cats with hyperthyroidism. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 56, 84 – 95.
- Peterson M.E., Broome M.R., Rishniw M. (2015a). Prevalence and degree of thyroid pathology in hyperthyroid cats increases with disease duration: a cross-sectional analysis of 2096 cats referred for radioiodine therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*; pii: 1098612X15572416
- Peterson M.E., Guterl J.N., Nichols R., Rishniw M. (2015b). Evaluation of serum thyroid-stimulating hormone concentration as a diagnostic test for hyperthyroidism in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29, 1327 – 1334.
- Phillips D.E., Radlinsky M.G., Fischer J.R., Biller D.S. (2003). Cystic thyroid and parathyroid lesions in cats. *Journal of the American Animal Hospital Association* 39, 349 – 354.
- Sebastiani A.M., Fishbeck D.W. (2005). Endocrine system. In: Sebastiani A.M., Fishbeck D.W. (editors). *Mammalian Anatomy, the Cat*. Second edition, Morton Publishing Company, Englewood, Colorado, USA, p. 119 – 124.
- Scott-Moncrieff J.C. (2015). Feline hyperthyroidism. In: Feldman E.C., Nelson R.W., Reusch C., Scott-Moncrieff J.C., Behrend E. (editors). *Canine and Feline Endocrinology*. Fourth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 136 – 195.
- Shiel R.E., Mooney C.T. (2007). Testing for hyperthyroidism in Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 37, 671 – 691.
- Stegeman J.R., Graham P.A., Hauptman J.G. (2003). Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin-stimulation testing of euthyroid cats. *American Journal of Veterinary Research* 64, 149 – 152.
- Stephens M.J., O'Neill D.G., Church D.B., McGreevy P.D., Thomson P.C., Brodbelt D.C. (2014). Feline hyperthyroidism reported in primary-care veterinary practices in England: prevalence, associated factors and spatial distribution. *Veterinary Record* 175, 458.
- Taeymans O., Daminet S., Duchateau L., Saunders J.H.

- (2007). Pre- and post-treatment ultrasonography in hypothyroid dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 48, 262 – 269.
- Taeymans O., Dennis R., Saunders J.H. (2008). Magnetic resonance imaging of the normal canine thyroid gland. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 49, 238 – 242.
- Taeymans O. (2011). Thyroid and parathyroid glands. In: Barr F., Gashen L. (editors). *Manual of Canine and Feline Ultrasonography*. British Small Animal Veterinary Association, Waterwells Business Park, Quedgeley, Gloucester, UK, p. 193 - 197.
- Taeymans O., Schwarz, T. (2011). Pharynx, larynx and thyroid gland. In: Schwarz, T., Saunders J. (editors). *Veterinary Computed Tomography*. Wiley-Blackwell, Chichester, West-Sussex, UK, p. 175 – 184.
- van Hoek I., Hesta M., Biourge V. (2015). A critical review of food-associated factors proposed in the etiology of feline hyperthyroidism. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 17, 837 – 847.
- Watson A.D., Church D.B., Middleton D.J., Rothwell T.L. (1981). Weight loss in cats which eat well. *Journal of Small Animal Practice* 22, 473 – 82.
- Wisner E.R., Théon A.P., Nyland T.G., Hornof W.J. (1994). Ultrasonographic examination of the thyroid gland of hyperthyroid cats: comparison to ^{99m}TcO₄⁻ scintigraphy. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 35, 53 – 58.
- Wisner E.R., Mattoon J.S., Nyland T.G. (2002). Neck. In: Nyland T.G., Mattoon J.S. (editors). *Small Animal Diagnostic Ultrasound*. Second edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 285 – 304.
- Zwingenberger A., Wisner E. (2008). Neck. In: Penninck D., d'Anjou M.A. (editors). *Atlas of Small Animal Ultrasonography*. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA, p. 91 – 118.



**Nooit uit het "stal"beeld verdwenen,
maar nu weer volledig in the spotlights**

Dofatrim-ject:
een injecteerbare vorm van
de combinatie van sulfadoxine
en trimethoprim geregistreerd
voor varken en rund






Wachtermijn vles: 8 dagen
Wachtermijn melk: 2 dagen



DOPHARMA
VETERINAIRE FARMACIA

DOPATRIM-JECT® Oplossing voor injectie voor runderen en varkens trimethoprim 40 mg; sulfadoxine 200 mg. **Indicaties** Behandeling van infecties veroorzaakt door micro-organismen welke gevoelig zijn voor de combinatie sulfadoxine/trimethoprim en waarbij effectieve concentraties op de infectieplaats bereikt worden. **Posologie** Toediening: intramusculair, subcutaan of intraveneus. Doserings: 15 mg activiteit per kg lichaamsgewicht. Bij zeer ernstige ziektebeelden kan bij dieren met een lichaamsgewicht beneden de 200 kg de dosis verhoogd worden tot 25 mg activiteit per kg lichaamsgewicht. Maximale toedieningsduur: runderen: 5 dagen; varkens: 3 dagen. Niet meer dan 20 ml op 1 plaats injecteren. Om een correcte dosering te garanderen, moet het lichaamsgewicht van de dieren zo accuraat mogelijk bepaald worden, zodat onderdosering vermeden wordt. **Contra-indicaties** Niet gebruiken bij dieren met ernstige lever- en nierfunctiestoornissen of afwijkingen in het bloedbeeld of dieren waarvan sulfonamide-gevoeligheid bekend is. **Bijwerkingen** Na intramusculaire en subcutane toediening kunnen lokale weefselreacties rond de injectieplaats voorkomen. Sulfonamiden kunnen nierstoornissen (kristallurie, hematurie, ...) of bloedvormingsstoornissen (anemie, trombocytopenie) veroorzaken. **Wachtermijn** (Organen)vles: 8 dagen; melk: 2 dagen. **Speciale voorzorgsmaatregelen voor gebruik bij dieren** Selectie van resistentie evolueert bij sommige micro-organismen. Het is aanbevolen om een antibiogram te maken vooraleer het product te gebruiken. Indien zich een allergische reactie voordoet, moet de behandeling gestaakt worden. **Speciale voorzorgsmaatregelen, te nemen door degene die het geneesmiddel aan de dieren toedient** In verband met sensibilisatie en contactdermatitis dient bij de toepassing direct huidcontact vermeden te worden. Draag daartoe handschoenen. **Registratiehouder** Dopharma Research B.V. - Zalmweg 24 - Raamsdonksveer - NL. **Registratienummer** BE-V215555 Op diergeneeskundig voorschrift.

Hyperthyroidism in cats

Part II: scintigraphic diagnosis and radioiodine treatment

Hyperthyreoïdie bij katten

Deel II: scintigrafische diagnose en radiojoodbehandeling

V. Volckaert, E. Vandermeulen, S. Daminet, J.H. Saunders, K. Peremans

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

veerlevolckaert@gmail.com

ABSTRACT

In the second part of this review article, the diagnostic aspects of thyroid scintigraphy are discussed, with major emphasis on hyperthyroidism, followed by an overview of radioiodine treatment.

SAMENVATTING

In het tweede deel van dit overzichtsartikel worden de diagnostische aspecten van schildklierscintigrafie besproken, met de nadruk op hyperthyreoïdie, gevolgd door een overzicht van de behandeling met radioactief jodium.

SCINTIGRAPHY

Scintigraphy stands out as an imaging modality by providing not only anatomical but also functional information. One of the most common applications of scintigraphy is the evaluation of thyroid function, i.e. to assess the degree of thyroid gland radionuclide uptake, to confirm hyperthyroidism in doubtful cases or for use in patients with non-thyroidal illness.

The radionuclide mostly used in thyroid scintigraphy is ^{99m}technetium (^{99m}Tc) or its chemical form pertechnetate (^{99m}TcO₄⁻). ^{99m}Tc is obtained from a ^{99m}molybdenum (^{99m}Mo) generator and has a physical half-life of six hours. It decays by emitting electromagnetic γ -radiation of 140 keV, which will be detected by the NaI crystal within the gamma camera (Kintzer and Peterson, 1994; Kowalsky, 2006).

Another radionuclide that can be used in thyroid imaging is ¹²³iodine (¹²³I), which decays by the emission of electromagnetic γ -rays (159 keV). In contrary to pertechnetate, ¹²³I will be organified in the thyroid gland and incorporated in the normal iodine metabolic pathway. It has a longer physical half-life of approximately 13 hours. The ideal imaging time for ¹²³I is strongly delayed at eight hours after injection compared to technetium that allows scanning from twenty minutes on. Another major drawback of ¹²³I is the high cost in comparison to pertechnetate (Kintzer and Peterson, 1994; Broome, 2006; Daniel and Brawner,

2006; Kowalsky, 2006). Although theoretically possible, another radioisotope of iodine, ¹³¹I, is generally not used for imaging given its longer half-life, high cost and inferior image quality, which results from the high energy γ -photons (364 keV). Further, ¹³¹I also emits β -particles that, given their destructive nature, are usable for therapeutic purposes but do not contribute to diagnostic scans (Kintzer and Peterson, 1994; Shiel and Mooney, 2007). This will be further addressed in the chapter about radioiodine therapy. Diagnostic scintigraphy in this article will always refer to the use of pertechnetate.

Protocol

Thyroid scintigraphy is based on the ability of the thyroid follicular cell's iodide pump to trap iodide as well as pertechnetate (^{99m}TcO₄⁻). The pertechnetate ion has a similar size and charge as iodide and will be trapped, but is not used in thyroglobulin organification and hormone production, nor will it be stored in the colloid fluid like iodide is stored. It will be excreted into the bloodstream and removed from the body, mainly via the kidneys (Kintzer and Peterson, 1994; Broome, 2006; Daniel and Brawner, 2006).

It is important to remember that the iodide pumps are also present at the level of the salivary glands, the gastric mucosa, the choroid plexus, the ciliary body of the eye, the placenta and lactating mammary glands



Figure 1. Hyperthyroid cat positioned for a thyroid scan. The cat is placed on the scan bed in ventral recumbency. The head of the gamma camera underneath the table records the activity at the level of the thyroid glands. The head of the gamma camera on top is not active in this case.

(Daniel and Brawner, 2006; Capen, 2007). More specifically, uptake at the level of the head is seen in the nasal cavity, the region of the nasopharynx and soft palate, and at the level of the zygomatic, molar, parotid and mandibular salivary glands. The major hot focus seen on a typical feline pertechnetate scan represents the combination of the zygomatic and molar salivary glands. Radionuclide uptake in the area of the mediastinum may represent the esophagus containing saliva, or blood pool activity in one of the large vessels. Therefore, uptake in these areas should not be mistaken for an abnormality (Daniel and Brawner, 2006).

The radionuclide is injected intravenously prior

to the scan to allow the substance to be trapped by the thyroid gland and cleared from the soft tissues. Cats will receive an activity of 18.5 to 148 MBq of pertechnetate, with an average of 74 MBq. Scans can be acquired from twenty minutes after injection onwards, with a peak uptake in feline thyroid glands seen at 45 - 60 minutes (Kintzer and Peterson, 1994; Daniel and Brawner, 2006; Daniel and Neelis, 2014). The cat is then positioned in ventral recumbency above the camera (Figure 1). The scan is performed using a low energy - high resolution (LEHR) collimator. Thyroid scans are count based, with a minimum of 100.000 counts advised. This means that the duration of the scan is determined by a preset number of counts and so the time of the scan varies from patient to patient (Kintzer and Peterson, 1994; Broome, 2006; Daniel and Brawner, 2006). The higher the uptake of pertechnetate in the thyroid gland (i.e. the more increased the thyroid function), the sooner the preset amount of counts is reached, thus resulting in a shorter scan. On average, a diagnostic feline thyroid scan takes approximately 1 to 1.5 minutes. The use of different sedatives or anesthetics protocols has been described: ketamine, a combination of ketamine and diazepam, propofol, and the use of inhalant anesthetics. Cats may also be scanned awake (Beck et al., 1985; Mooney et al., 1992; Daniel et al., 2002; Henrikson et al., 2005; Volckaert et al., 2012; Peterson and Broome, 2015; Volckaert et al., 2016). The preferred drug or ideal protocol may vary however from patient to patient.

A pinhole collimator can be used in cats, even for quantitative measurements. It gives a more detailed image of the thyroid gland and can often distinguish two lobes when only one is seen on the two-dimensional or planar scan, potentially missing a diagnosis of bilateral hyperthyroidism. An important disadvan-



Figure 2. Thyroid scan of a normal cat. The same image is presented in A and B. B. shows the different regions of interest (ROI) typically drawn on a thyroid scan: thyroid lobe (1), salivary gland (2), background ROI in the axillary region (3), background ROIs in the cervical area (4). (L: left).

tage to the use of a pinhole collimator is the increased scan time due to a lower sensitivity, decreasing the tolerance to motion and requiring anesthesia (Mooney et al., 1992; Broome, 2006).

Thyroid scintigram

Thyroid scintigraphy is the number one imaging modality in the diagnosis of hyperthyroidism in cats. It is sporadically used in cases of suspected post-treatment hypothyroidism or rarely, in case of congenital hypothyroidism. A normal thyroid scintigram in cats shows the two thyroid lobes as elongated, oval structures in the cervical region, smoothly delineated, symmetrical in size and position and with a homogeneous distribution of the radionuclide (Figure 2). A certain level of thyroid lobe asymmetry can be present in euthyroid cats (Scrivani et al., 2007). Ectopic thyroid tissue is less commonly seen. It has been reported to be present in about 3.9% of hyperthyroid cats and is typically found on the midline and intrathoracic, usually in the cranial mediastinum (Beck et al., 1985; Kintzer and Peterson, 1994; Daniel and Brawner, 2006; Harvey et al., 2009; Daniel and Neelis, 2014; Peterson and Broome, 2015).

In case of hyperthyroidism, several uptake patterns can be observed. The remaining normal thyroidal tissue will be suppressed to a degree, depending on the serum T4 concentration and subsequent TSH suppression. In truly unilateral disease, the normal thyroid lobe should be entirely suppressed and is not visible on the scintigram. In hyperthyroid cats that are not under any form of treatment for hyperthyroidism, a normal

looking thyroid lobe, aside a hyperactive lobe with marked increased radionuclide uptake is considered to be abnormal and indicates this lobe is also functioning autonomously. Multifocal nodular hyperplasia or adenomatous hyperplasia may have different features on the scintigram: an increased radionuclide uptake, homogeneous uptake, smooth margins, and usually bilateral in about 70% of the cases. With the help of a pinhole collimator, an enlarged, more detailed image of the thyroid gland can be obtained and the (multi) focal appearance may be observed. In case of cystic adenomas, the area of the cyst may be seen as a photopenic region, i.e. no accumulation of pertechnetate. When hyperactive nodules form a linear alignment rather than affecting the entire thyroid lobe, a “string of pearls” pattern can be seen.

Carcinomas are described as large areas of multifocal increased uptake, with a heterogeneous uptake pattern, irregular margins, and extending beyond the normal contours of the thyroid lobes (Figure 3). A linear multifocal pattern may indicate metastatic extension along the fascial planes, or uptake in ectopic tissue. The thorax can be included in the scanned area to search for pulmonary metastases (Kintzer and Peterson, 1994; Hofmeister et al., 2001; Daniel and Brawner, 2006; Daniel and Neelis, 2014; Peterson and Broome, 2015).

In a study with 2096 hyperthyroid cats, the scintigraphic patterns of uptake were categorized and their percentage of occurrence was recorded as follows: 31.7% had unilateral disease, 50.6% had bilateral-asymmetric disease (two thyroid lobes of unequal size), 12.3% had bilateral-symmetric disease and 3.9%

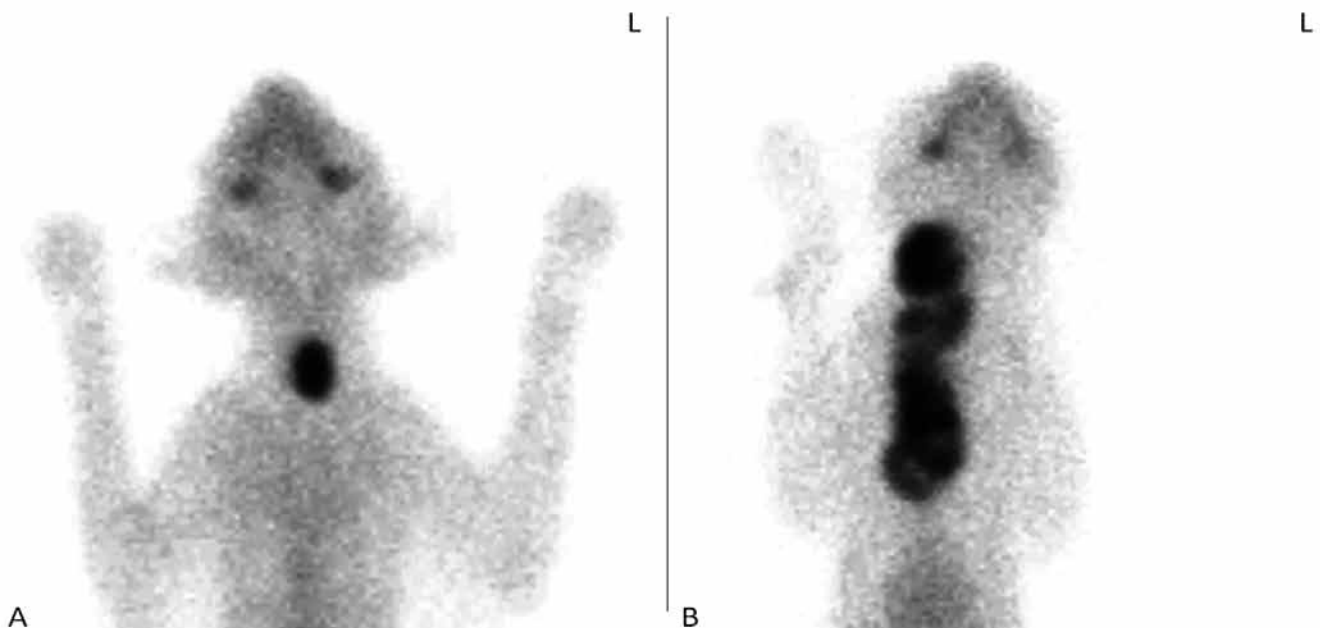


Figure 3. Thyroid scans of two cats with hyperthyroidism. **A.** typical image of a unilaterally affected hyperthyroid cat. The scan shows no features suggestive of malignancy. **B.** Image of excessive uptake of radionuclide over an area that is far more extensive than the normal contours of thyroid lobes. The uptake pattern is multifocal and heterogeneous. This patient also showed severe clinical signs of hyperthyroidism and thoracic X-rays demonstrated the presence of multiple pulmonary nodules, compatible with metastatic disease (L: left).

had multifocal disease, defined as three or more areas of increased uptake. Finally, 1.6% of the cats had a pattern not fitting into one of the categories. The most common location for foci of increased uptake was the cervical area (98.1%) followed by the thoracic inlet (13.5%) and the thoracic cavity (5.5%). A pattern consistent with thyroid carcinoma was seen in 1.7% of the hyperthyroid patients (Peterson and Broome, 2015). It is important to note that carcinomas may show benign scintigraphic characteristics and vice versa. A reliable differentiation between benign and malignant thyroid tissue can therefore not be made based on the scintigram (Daniel and Brawner, 2006; Harvey et al., 2009; Hibbert et al., 2009).

Quantitative thyroid scintigraphy

The uptake of radionuclide in the thyroid gland is proportional to its metabolic activity. Therefore, quantification of this uptake has been found to be a good assessor of thyroid activity. However, when evaluating quantitative parameters, it has to be borne in mind that several substances can interfere with the uptake by the thyroid sodium iodide symporters (NIS) and therefore with the uptake of pertechnetate or iodine.

Examples are competitive anion inhibitors (perchlorate, thiocyanate), sedatives and anesthetic medication, certain plants, thyroid hormone supplementation, the amount of dietary iodine, the administration of medicine, such as sulfonamide, phenylbutazone and anti-thyroid drugs (methimazole, carbimazole) or iodinated contrast media, e.g. iohexol (Nieckarz and Daniel, 2001; Fischetti et al., 2005; Daniel and Brawner, 2006; Capen, 2007; Shiel and Mooney, 2007; Lee et al., 2010; Klein, 2012).

The radionuclide uptake can be easily and reliably assessed visually, but to assess the uptake in a more objective quantitative manner, semi-quantitative ratios have been introduced. Commonly used is the thyroid to salivary gland ratio (T/S), a reproducible and reliable parameter (Page et al., 2006). Regions of interest (ROIs) will be drawn around the thyroid lobes and the ipsilateral salivary glands. The ratio of the mean counts of these ROIs is then calculated. The normal T/S ratio in cats varies in the literature, with a range from 0.48 up to 1.9 (Beck et al., 1985; Kintzer and Peterson, 1994; Lambrechts et al., 1997; Nieckarz and Daniel, 2001; Daniel et al., 2002; Henrikson et al., 2005; Daniel and Brawner, 2006; Page et al., 2006; Lee et al., 2010; Daniel and Neelis, 2014; Peterson and Broome, 2015). The T/S ratio increases up to twenty minutes after injection (Daniel et al., 2002). It has further been demonstrated that the T/S ratio will not significantly change within a time range of twenty minutes to two hours after the injection of pertechnetate. This is therefore a reliable time range to perform the thyroid scans (Nieckarz and Daniel, 2001; Fischetti et al., 2005; Daniel and Brawner, 2006). The T/S ratio of the most active thyroid lobe or an average ratio of both lobes has been reported to be a simple method

and good representation of the metabolic thyroidal status, correlating with serum T4 concentration both in normal and hyperthyroid cats at twenty minutes after tracer injection (Chun et al., 2002; Daniel et al., 2002; Fischetti et al., 2005; Peterson and Broome, 2015). Cats with only mildly elevated T4 concentrations may show T/S ratios overlapping with the normal range and with a large range of normal values reported, a cut-off T/S ratio of 2 has been suggested as being both sensitive and specific for feline hyperthyroidism (Fischetti et al., 2005; Page et al., 2006). In a more recent study with 2096 cats, a lower cut-off ratio of 1.5 was proposed (Peterson and Broome, 2015).

Another ratio that has been introduced is the thyroid to background ratio (T/B). This ratio is independent of potential salivary gland disease and variation in uptake. The T/B ratio is calculated in a similar way to the T/S ratio, using the average counts of two ROIs, one around the thyroid and the second one at the level of the shoulder or axillary region, with a size similar to the thyroid ROI or using a fixed size ROI. The normal T/B ratio has a larger range, from 1.6 to 6.4 (Beck et al., 1985; Daniel and Brawner, 2006; Daniel and Neelis, 2014; Peterson and Broome, 2015). A correlation with serum T4 has also been observed for the T/B ratio and a cut-off ratio of 6.1 has been proposed to be very sensitive to diagnose hyperthyroidism. However, the sensitivity of the T/S ratio has been found to be still slightly higher (Peterson and Broome, 2015). Persistent post-therapy hyperthyroidism has been correlated to the T/B ratio, and cut-off ratios of ≥ 5.8 (> 148 MBq) and ≥ 11 (259 MBq) have been suggested by the authors to increase the dose of radioiodine (Wallack et al., 2010).

Whether the thyroid gland image and the T/S and T/B ratio change with age is not certain. In a study by Beck et al., these features were found to be similar between two age groups. However, the age range of the young adult group was not mentioned in the study, the ages of the group of older cats ranged from nine to eleven years. Another limitation of that study was the low number of patients included ($n=10$) (Beck et al., 1985).

Finally, the percentage of the injected radionuclide that is accumulated by the thyroid gland can be measured. When using a form of radioactive iodine for this purpose, this is called a radioactive iodine uptake (RAIU) study. This study can be performed using ^{123}I or ^{131}I . The uptake of ^{131}I in normal cats has shown to be variable in time, with 33% of the injected activity in the thyroid gland at 1 hour after injection, 21% between 4 and 24 hours after injection and 18% remaining at 48 hours after injection (Lambrechts et al., 1997). In the past, these tracer studies were used for dose determination for therapeutic purposes (Broome et al., 1988). The percentage of radionuclide uptake by the thyroid gland can also be calculated using the safer technetium pertechnetate, as % technetium uptake or % thyroid uptake (%TcU). In the literature, the normal %TcU value ranges from 0.25 to 3.9% (Mooney et al.,

1992; Nap et al., 1994; Daniel et al., 2002; Daniel and Brawner, 2006; Lee et al., 2010). In hyperthyroid cats, a correlation between the serum T4 and T3 with the %TcU at twenty minutes after injection of technetium has been demonstrated (Mooney et al., 1992; Fischetti et al., 2005). The mean %TcU at twenty minutes after injection has been determined in hyperthyroid cats as 7% with a large range of 0.7 up to 61% (Mooney et al., 1992; Daniel et al., 2002; Fischetti et al., 2005). In contrast to the T/S ratio, the %TcU still increases in normal and hyperthyroid cats up to four hours after injection, and a significant difference has been reported in hyperthyroid cats between quantification at twenty and sixty minutes after injection (Nieckarz and Daniel, 2001; Fischetti et al., 2005). This has been contrasted in an earlier study, in which the maximum uptake was seen at one hour after injection, and therefore considered the ideal imaging time, followed by a decrease in %TcU, in both normal and hyperthyroid cats (Nap et al., 1994). However, different measurement techniques were used in the evaluation of the percentage of technetium uptake, which could explain the different findings.

In the literature, the potential role of the thyroid:thyroid (T:T) ratio in the diagnosis of hyperthyroidism has been reported only once (Scrivani et al., 2007). The T:T ratio refers to a lobe-to-lobe ratio, where the value of the most active thyroid lobe is divided by the value of the less active lobe. The T:T ratio in normal, euthyroid cats have been found to range from 1 to 2.1 (median 1.2), whereas in hyperthyroid cats, the T:T ratio ranges from 1.1 up to 12.6 (median 2.5). A cut-off value of 1.5 has been suggested to be a good differentiator between normal and hyperthyroid cats, but the interpretation has to be made with care, since the T:T ratio has shown that asymmetry, although less commonly, may occur in normal cats as well (Scrivani et al., 2007). The use of these (semi-) quantitative parameters lies in a more complete evaluation of the disease status of the patient and more patient-based dosimetric calculations for treatment with radioiodine as opposed to a fixed dose strategy.

Diagnostic pertechnetate scans have also been used to estimate thyroid lobe volume in hyperthyroid cats, and different formulas have been proposed to approach the true volume. In the literature, total thyroid volume estimated on scintigraphy in hyperthyroid cats ranges from a mean minimum total thyroid volume of 1089 mm³ (standard deviation: 575) to a maximum of 28400 mm³, whereas thyroid single lobe volume has been described to range from 113 to 29157 mm³, depending on the formula used (Forrest et al., 1996; Volckaert et al., 2012; Volckaert et al., 2016).

Neither method is perfect to diagnose and evaluate hyperthyroidism. The serum T4 concentration, as well as the T/S or T/B ratio on scintigraphy can fall within the normal reference range in cats with hyperthyroidism. However, the sensitivity of both semi-quantitative ratios measured on the scintigrams has been reported to be superior to basal serum T4 concentrations and allow an earlier detection of the disease (Peterson, 2014;

Peterson and Broome, 2015). It is therefore important to combine tests when there is a strong clinical suspicion of occult or mild hyperthyroidism.

RADIOIODINE (¹³¹I) THERAPY IN HYPERTHYROID CATS

Four treatment options are available for cats with hyperthyroidism: the use of radioactive iodine, medicinal treatment, dietary adjustments and surgery (thyroidectomy). Medicinal treatment means daily pilling and potential adverse side effects on other organs systems. Dietary adjustments in the form of low iodine diets, have been proposed for the management of hyperthyroidism. A specifically commercially developed food for this purpose is Hill's® Y/D Prescription Diet, Hill's, USA. To this day, no long-term follow-up studies are available assessing these diets. A very strict diet is required, as other foods and treats might contain high iodine content, and similar to antithyroid medication, the underlying pathology is not cured. This may result in an increased risk for malignant transformation secondary to continuing and therefore prolonged disease duration (Peterson, 2013a; Peterson et al., 2015; Scott-Moncrieff, 2015; Scott-Moncrieff et al., 2015). Surgery is an invasive procedure, holds an anesthetic risk in patients that often suffer from concurrent cardiac or renal disease and recurrence of disease occurs when not all thyroid tissue has been removed, especially when irresectable ectopic tissue is present. Another potential complication is the inadvertent removal of parathyroid tissue, with hypoparathyroidism as a consequence. Radioiodine treatment has evidently also some drawbacks, such as the need for appropriate equipment, infrastructure and licenses, and a hospitalization period that varies between institutions depending on national radioprotection regulation, ranging from five days to several weeks after treatment. Moreover, if successful, radioiodine therapy is a permanent treatment. This is an important factor as hyperthyroid cats can suffer from concomitant disease, i.e. commonly underlying chronic kidney disease, which might be easier to monitor and control with medicinal treatment. On the other hand, in cats of which the current health status allows so, radioiodine therapy is a safe, easy and permanent solution in most cases and does not require anesthesia (Kintzer, 1994; van Hoek et al., 2007; Mooney, 2010; Peterson, 2014). Radioiodine therapy has also been reported to be associated with a significantly longer survival time than in case of the use of medicinal treatment only. Cats treated with radioiodine show an increased median survival time of two years compared to cats treated with methimazole. Cats that were treated with a combination of methimazole followed by radioiodine show an extra median survival time of 3.3 years compared to those treated with methimazole only (Milner et al., 2006). Today, if the patient's condition allows so, radioiodine is the therapy of choice in the majority of cases.

Radioiodine therapy

The radionuclide used for therapy is ^{131}I . It differs from ^{123}I by emitting not only γ -rays (364 keV), but also the therapeutic β - particles. It has a physical half-life of 8.06 days and is excreted mainly by the kidneys, saliva and feces. Radioactive iodine is treated by the body in the same way as non-radioactive iodine, and will be trapped by the follicular cells of the thyroid gland and organified. The uptake of iodine may be influenced by the same factors that influence technetium uptake, i.e. antithyroid drugs, alimentary iodine, contrast media and iodine-based surgical solutions (Kintzer and Peterson, 1994; Adams, 2006; Peremans et al., 2008). When the ^{131}I decays, it will emit its high energy, mostly in the form of β - particles, for 90% in a radius of ± 1 mm with a maximum travel distance of 2 mm and an average path length of 400 μm . This will create destruction of tissues in the immediate vicinity, sparing surrounding structures like the external parathyroid glands. Due to the low TSH concentration in hyperthyroidism, the functionality of normal thyroid tissue will be suppressed and this tissue will therefore not concentrate the radioactive iodine. The remaining 10% of the local radiation is γ -radiation, which can be used for imaging purposes (Gerber et al., 1994; Mooney, 1994; Kintzer and Peterson, 1994; Adams, 2006; Peterson, 2014). As expected, a significantly increased uptake and higher turnover of radioiodine are seen in hyperthyroid cats versus euthyroid cats. The peak of uptake in normal cats is at 48 hours after injection (20.6%), whereas in hyperthyroid cats, the maximum uptake is faster and occurs around 24 hours (56%). In this population, the uptake may range up to 87.7% (Sjollema et al., 1989). In a study by Lambrechts et al. (1997), a different uptake pattern after oral administration of radioiodine in euthyroid cats was described, with a mean uptake of 33% at one hour followed by a decline to 18% at 48 hours. As with pertechnetate, the use of anti-thyroid medication, such as methimazole, may influence the uptake of radioiodine. It is generally advised to discontinue any possible anti-thyroid medication before therapy. The time of discontinuation however varies from institution to institution, and depends on whether the patient's clinical condition allows a prolonged time off medication. A time range of 4 to 14 days has been reported in the literature (Slater et al., 1994; Théon et al., 1994; Peterson and Becker, 1995; Forrest et al., 1996; Nykamp et al., 2005; Peterson and Broome, 2015). A so called "rebound effect" has been reported, where an increased uptake of radioiodine is observed after stopping anti-thyroid medication. The uptake is most significantly increased four to nine days after the withdrawal (Nieckarz and Daniel, 2001; Shiel and Mooney, 2007). At the department of Small Animal Orthopedics and Medical Imaging of the Faculty of Veterinary Medicine (UGent), a withdrawal of 14 days is generally recommended to avoid any possible rebound effect. If the patient's condition does not allow this, a withdrawal of three days is considered accept-

able, again allowing enough time to avoid a possible rebound effect.

Regarding radioiodine dose estimation, different protocols may be found in the literature. A scoring system has been proposed, based on the severity of clinical signs, pretherapy serum T4, size and number of thyroid nodules, and the patient's body weight. Radioiodine dose can also be estimated based on the total thyroid volume or weight, on the T/B ratio or on RAIU tracer studies. Another method is a fixed empirical dose system (Turrell et al., 1984; Broome et al., 1988; Meric and Rubin, 1991; Mooney, 1994; Kintzer and Peterson, 1994; Slater et al., 1994; Théon et al., 1994; Peterson and Becker, 1995; Forrest et al., 1996; Chun et al., 2002; Nykamp et al., 2005; Adams, 2006; Wallack et al., 2010). The empirical dose advised, is 148 to 185 MBq for adenomas or adenomatous hyperplasia, administered by intravenous or subcutaneous injection. Both routes of administration have been found effective, without side effects and with the same final outcome (Meric and Rubin, 1990; Mooney, 1994; Théon et al., 1994; Peterson and Becker, 1995; Adams, 2006). The ideal method of dose estimation has not yet been determined, although most methods seem to be effective for a positive treatment outcome. Oral administration of radioiodine has also been reported, using slightly higher doses in the form of capsules. The major disadvantage is the high risk of spilling, increasing the exposure of personnel and potential contamination of the premises, as cats may not always be cooperative. Additionally, the hospitalization period for these patients is longer (Malik et al., 1993).

Doses used for thyroid carcinomas are three to ten times higher than for benign disease, typically reported around 1110 to 1480 MBq and administered intravenously (Adams, 2006; Harvey et al., 2009; Hibbert et al., 2009). In case the patient remains hyperthyroid, the treatment can then be repeated. Radioiodine is well tolerated, even in higher doses. The only important complication reported in cats is the induction of iatrogenic hypothyroidism. In a study by Turrell et al. (1984), a transient voice change was reported in a cat and Peterson and Becker (1995) reported a transient period of difficulty in swallowing, presumably induced by radiation thyroiditis. After radioiodine therapy, control scans can be performed to confirm sufficient uptake. When a thyroid carcinoma is suspected or confirmed, follow-up scans are advised at four to six weeks after therapy and to be repeated at a three to six months' interval to ensure tumor regression or detect potential tumor recurrence.

The effect of radioiodine on the serum T4 concentration occurs rapidly. The most rapid decrease is seen the first three to six days after treatment. Fifty-five percent of patients were shown to have normal serum T4 4 days after treatment, 74% was reached after eight days and 83% had normal serum T4 by one month (Meric et al., 1986). Follow-up of the serum T4 concentration may first show a marked decreased value, below reference range, without any clinical consequence. This transient, post-therapy hypothyroidism

is presumed to be the time when normal tissue, previously suppressed, starts to regenerate and slowly starts functioning normally again. With a small delay, the T4 concentration then restores itself to normal values in most cases. Regular monitoring is therefore useful, and more importantly, a final control blood test should not be performed too early after treatment. Waiting six months is often advised. However, the ideal time for a recheck after treatment is unknown and may vary from patient to patient (Meric and Rubin, 1990; Mooney, 1994; Théon et al., 1994; Peterson and Becker, 1995). Given the negative effect of a decreased thyroid function on the renal function, it may be indicated to start thyroid supplementation before six months after therapy (Brooke et al., 2012; Dragović, 2012; Vikrant et al., 2013). In these cases, it is also important to exclude possible non-thyroidal illness and make a good but often difficult diagnosis of true hypothyroidism (Mooney et al., 1996; Shiel and Mooney, 2007; Mooney, 2010; Peterson, 2013b).

Radioiodine therapy outcome

In the literature, radioiodine therapy is generally considered a very effective treatment with a success rate ranging from 70 to 95% (Meric et al., 1986; Meric and Rubin, 1990; Malik et al., 1993; Kintzer and Peterson, 1994; Mooney, 1994; Slater et al., 1994; Théon et al., 1994; Peterson and Becker, 1995; Forrest et al., 1996; Nykamp et al., 2005; Wallack et al., 2010). The definition of a successful therapy is however not always clearly defined and could refer to the resolution of clinical signs, as well as a serum T4 within the normal reference range, or the combination of both. Some studies therefore include cats that are (sub) clinically hypothyroid in their successful group. The median time of follow-up also ranges strongly from 1 to 18 months (Meric et al., 1986; Meric and Rubin, 1990; Slater et al., 1994; Théon et al., 1994; Peterson and Becker, 1995; Forrest et al., 1996; Nykamp et al., 2005; Wallack et al., 2010).

Several factors influencing and/or predicting radioiodine therapy outcome have been suggested. In a study by Peremans et al. (2008), iohexol, a commonly used iodinated contrast medium in radiography and CT, was surprisingly not found to have any significant impact on the outcome when given 24 hours prior to treatment, despite clear decreased thyroid absorption of the radioiodine. However, the dose of iodine (iohexol) administered in this study for glomerular filtration rate (GFR) measurements in hyperthyroid cats, was lower than the dose normally used for most contrast studies. Moreover, only a relatively small group of cats was included precluding definite conclusions (Peremans et al., 2008). The pre-therapy serum T4 concentration was observed to correlate to post-therapy T4 measurements, but not to a degree where it could predict therapy outcome (Chun et al., 2002; Wallack et al., 2010). In earlier studies, higher pre-therapy serum T4 concentrations have been suggested

to increase the risk of persistent hyperthyroidism (Peterson and Becker, 1995; Forrest et al., 1996). Significantly higher T/B ratios have been noted in cats that showed persistent hyperthyroidism after radioiodine therapy, suggesting this ratio could predict therapy failure or alarm clinicians to increase the administered dose of radioiodine (Wallack et al., 2010). The pre-therapy T/S ratio, the severity of clinical signs or the timing at which methimazole treatment was stopped prior to the radioiodine therapy have not been found factors, which may help to predict therapy outcome (Chun et al., 2002; Wallack et al., 2010). In addition, no significant relationship with a persistent hyperthyroid outcome has been found for the presence of ectopic tissue, bilateral versus unilateral disease or previous anti-thyroid medication (Forrest et al., 1996). On the contrary, Nykamp et al. (2005) observed a significant effect of bilateral disease towards a hypothyroid outcome, with an almost double increased chance of post-therapy hypothyroidism in patients with bilateral disease.

Thyroid volume estimated on diagnostic per technetate scans, has also been suggested as a factor influencing radioiodine therapy outcome. Larger total thyroid volumes have been reported to increase the risk of persistent hyperthyroidism after treatment. However, no cut-off values have been determined (Peterson and Becker, 1995; Forrest et al., 1996; Volckaert et al., 2016). Forrest et al. (1996) also suggested that oral administration of radioiodine is less successful than the intravenous route.

CONCLUSION

Thyroid scintigraphy is a commonly used and excellent modality in the diagnosis and management of feline hyperthyroidism and should ideally be performed in all hyperthyroid patients, especially when definitive treatment like radioiodine or surgery is considered. Radioiodine treatment shows a good outcome in most patients and is not associated with any significant side effects. It remains therefore the treatment of choice, if the patient's condition allows it.

REFERENCES

- Adams W.H. (2006). Thyroid Radiotherapy: Iodine-131. In: Daniel G.B., Berry C.R. (editors). *Textbook of Veterinary Nuclear Medicine*. Second edition, American College of Veterinary Radiology, Knoxville, Tennessee, USA, p. 393 – 400.
- Beck K.A., Hornof W.J., Feldman E.C. (1985). The normal feline thyroid. *Veterinary Radiology* 26, 35 – 38.
- Brooke V., Goswami S., Mohanty A., Kasi P.M. (2012). Aortic dissection and renal failure in a patient with severe hypothyroidism. *Case Reports in Medicine* 2012, 1–6.
- Broome M.R., Turrel J.M., Hays M.T. (1988). Predictive value of tracer studies for ¹³¹I treatment in hyperthyroid cats. *American Journal of Veterinary Research* 49, 193 – 197.

- Broome M.R. (2006). Thyroid scintigraphy in hyperthyroidism. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 21, 10 – 16.
- Capen C.C. (2007). Endocrine glands, thyroid gland. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. Palmer N.C. (editors). *Pathology of Domestic Animals*. Fifth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 379 – 407.
- Chun R., Garrett L.D., Sargeant J., Sherman A., Hoskinson J.J. (2002). Predictors of response to radioiodine therapy in hyperthyroid cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 43, 587 – 591.
- Daniel G.B., Sharp D.S., Nieckarz J.A., Adams W. (2002). Quantitative thyroid scintigraphy as a predictor of serum thyroxine concentration in normal and hyperthyroid cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 43, 374 – 382.
- Daniel G.B., Brawner W.R. (2006). Thyroid scintigraphy. In: Daniel G.B., Berry C.R. (editors). *Textbook of Veterinary Nuclear Medicine*. Second edition, American College of Veterinary Radiology, Knoxville, Tennessee, USA, p. 181 – 198.
- Daniel G.B., Neelis D.A. (2014). Thyroid scintigraphy in veterinary medicine. *Seminars in Nuclear Medicine* 44, 24 – 34.
- Dragović T. (2012). Reversal deterioration of renal function accompanied with primary hypothyroidism. *Vojnosanitetski Pregled* 69, 205–208.
- Fischetti A.J., Drost W.T., DiBartola S.P., Chew D.J., Schenck P.A., Meadows C. (2005). Effects of methimazole on thyroid gland uptake of ^{99m}Tc -pertechnetate in 19 hyperthyroid cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 46, 267 – 272.
- Forrest L.J., Baty C.J., Metcalf M.R., Thrall D.E. (1996). Feline hyperthyroidism: efficacy of treatment using volumetric analysis for radioiodine dose calculation. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 37, 141–145.
- Gerber H., Peter H., Ferguson D.C., Peterson M.E. (1994). Etiopathology of feline toxic nodular goiter. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 24, 541 – 565.
- Harvey A.M., Hibbert A., Barrett E.L., Day M.J., Quiggin A.V., Brannan R.M., Caney S.M. (2009). Scintigraphic findings in 120 hyperthyroid cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11, 96 – 106.
- Henrikson T.D., Armbrust L.J., Hoskinson J.J., Milliken G.A., Wedekind K.J., Kirk C.A., Nachreiner R.F. (2005). Thyroid to salivary ratios determined by technetium- ^{99m}Tc pertechnetate imaging in thirty-two euthyroid cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 45, 521 - 523.
- Hibbert A., Gruffydd-Jones T., Barrett E.L., Day M.J., Harvey A.M. (2009). Feline thyroid carcinoma: diagnosis and response to high-dose radioactive iodine treatment. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11, 116 – 124.
- Hofmeister E., Kippenes H., Mealey K.L., Cantor G.H., Löhr C.V. (2001). Functional cystic thyroid adenoma in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 219, 190-3.
- Kintzer P.P. (1994). Considerations in the treatment of feline hyperthyroidism. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 24, 577 – 585.
- Kintzer P.P., Peterson M.E. (1994). Nuclear medicine of the thyroid gland. Scintigraphy and radioiodine therapy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 24, 587 – 605.
- Klein B.G. (2012). Endocrine glands and their function. In: Klein B.G. (editors). *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. Fifth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 428 – 464.
- Kowalsky R.J. (2006). Radioactive decay, radioactivity, Tc-99m generator, and radiopharmaceuticals. In: Daniel G.B., Berry C.R. (editors). *Textbook of Veterinary Nuclear Medicine*. Second edition, American College of Veterinary Radiology, Knoxville, Tennessee, p. 1 – 24.
- Lambrechts N., Jordaan M.M., Pilloy W.J.G., van Heerden J., Clauss R.P. (1997). Thyroidal radioisotope uptake in euthyroid cats: a comparison between ^{131}I and $^{99m}\text{TcO}_4^-$. *Journal of the South African Veterinary Association* 68, 35 – 39.
- Lee W.R., Pease A.P., Berry C.R. (2010). The effects of iohexol administration on technetium thyroid scintigraphy in normal cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 51, 182 – 185.
- Malik R., Lamb W.A., Church D.B. (1993). Treatment of feline hyperthyroidism using orally administered radioiodine: a study of 40 consecutive cases. *Australian Veterinary Journal* 70, 218 – 219.
- Meric S.M., Hawkins E.C., Washabau R.J., Turrel J.M., Feldman E.C. (1986). Serum thyroxine concentrations after radioactive iodine therapy in cats with hyperthyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 188, 1038 – 1040.
- Meric S.M., Rubin S.I. (1991). Serum thyroxine concentrations following fixed-dose radioactive iodine treatment in hyperthyroid cats: 62 cases (1986 – 1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 197, 621 – 623.
- Milner R.J., Channell C.D., Levy J.K., Schaer M. (2006). Survival times for cats with hyperthyroidism treated with iodine 131, methimazole, or both: 167 cases (1996 – 2003). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 228, 559 – 563.
- Mooney C.T., Thoday K.L., Nicoll J.J., Doxey D.L. (1992). Qualitative and quantitative thyroid imaging in feline hyperthyroidism using technetium-99m as pertechnetate. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 33, 313 – 320.
- Mooney C.T. (1994). Radioactive iodine therapy for feline hyperthyroidism: Efficacy and administration routes. *Journal of Small Animal Practice* 35, 289 – 294.
- Mooney C.T., Little C.J.L., Macrae A.W. (1996). Effect of illness not associated with the thyroid gland on serum total and free thyroxine concentrations in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 208, 2004 – 2008.
- Mooney C.T. (2010). Hyperthyroidism. In: Ettinger S.J., Feldman E.C. (editors). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Seventh edition, Volume 2, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 1761 – 1779.
- Nap A.M.P., Pollak Y.W.E.A., van den Brom W.E., Rijnberk A. (1994). Quantitative Aspects of Thyroid Scintigraphy With Pertechnetate ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) in Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 8, 302 – 303.
- Nieckarz J.A., Daniel G.B. (2001). The effect of methimazole on thyroid uptake of pertechnetate and radioiodine in normal cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 42, 448 – 457.
- Nykamp S.G., Dykes N.L., Zarfoss M.K., Scarlett J.M. (2005). Association of the risk of development of hypothyroidism after iodine 131 treatment with the pretreatment pattern of sodium pertechnetate Tc 99m uptake in

- the thyroid gland in cats with hyperthyroidism: 165 cases (1990-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 226, 1671 – 1675.
- Page R.B., Scrivani P.V., Dykes N.L., Erb H.N., Hobbs J.M. (2006). Accuracy of increased thyroid activity during pertechnetate scintigraphy by subcutaneous injection for diagnosing hyperthyroidism in cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 47, 206 – 211.
- Peremans K., Vandermeulen E., van Hoek I., Daminet S., Vermeire S., Bacher K. (2008). Interference of iohexol with radioiodine thyroid uptake in the hyperthyroid cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 10, 460 – 465.
- Peterson M.E., Becker D.V. (1995). Radioiodine treatment of 524 cats with hyperthyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 207, 1422 – 1428.
- Peterson M.E. (2013a). Retrieved November 2nd, 2015, from <http://www.animalendocrine.com/yd/>.
- Peterson M.E. (2013b). Diagnostic testing for feline thyroid disease: hypothyroidism. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 35, E1–E6.
- Peterson M.E. (2014). Feline hyperthyroidism: an animal model for toxic nodular goiter. *Journal of Endocrinology* 223, T97 – 114.
- Peterson M.E., Broome M.R. (2015). Thyroid scintigraphy findings in 2096 cats with hyperthyroidism. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 56, 84 – 95.
- Peterson M.E., Broome M.R., Rishniw M. (2015). Prevalence and degree of thyroid pathology in hyperthyroid cats increases with disease duration: a cross-sectional analysis of 2096 cats referred for radioiodine therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*; pii: 1098612X15572416
- Scott-Moncrieff J.C. (2015). Feline Hyperthyroidism. In: Feldman E.C., Nelson R.W., Reusch C., Scott-Moncrieff J.C., Behrend E. (editors). *Canine and Feline Endocrinology*. Fourth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, p. 136 – 195.
- Scott-Moncrieff J.C., Heng H.G., Weng H.Y., Dimeo D., Jones M.D. (2015). Effect of a limited iodine diet on iodine uptake by thyroid glands in hyperthyroid cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29, 1322 – 1326.
- Scrivani P.V., Dykes N.L., Page R.B., Erb H.N. (2007). Investigation of two methods for assessing thyroidlobe asymmetry during pertechnetate scintigraphy in suspected hyperthyroid cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 48, 383 – 387.
- Shiel R.E., Mooney C.T. (2007). Testing for hyperthyroidism in cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 37, 671 – 691.
- Sjollem B.E., Pollak Y.W.E.A., van den Brom W.E., Rijnberk A. (1989). Thyroidal radioiodine uptake in hyperthyroid cats. *The Veterinary quarterly* 11, 165 – 170.
- Slater M.R., Komkov A., Robinson L.E., Hightower D. (1994). Long-term follow-up of hyperthyroid cats treated with iodine-131. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 35, 204 – 209.
- Théon A.P., Van Vechten M.K., Feldman E. (1994). Prospective randomized comparison of intravenous versus subcutaneous administration of radioiodine for treatment of hyperthyroidism in cats. *American Journal of Veterinary Research* 55, 1734 – 1738.
- Turrell J.M., Feldman E.W., Hays M., Hornof W.J. (1984). Radioactive iodine therapy in cats with hyperthyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 184, 554 – 559.
- Van Hoek I., Peremans K., Waelbers T., Vandermeulen E., Daminet S. (2007). Non-surgical treatment of feline hyperthyroidism: options and considerations. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 76, 69 – 80.
- Vikrant S., Chander S., Kumar S., Gupta D. (2013). Hypothyroidism presenting as reversible renal impairment: an interesting case report. *Renal Failure* 35, 1292–1294.
- Volckaert V., Vandermeulen E., Saunders J.H., Combes A., Duchateau L., Peremans K. (2012). Scintigraphic thyroid volume calculation in hyperthyroid cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 14, 889 – 894.
- Volckaert V., Vandermeulen E., Dobbeleir A., Duchateau L., Saunders J.H., Peremans K. (2016). Effect of thyroid volume on radioiodine therapy outcome in hyperthyroid cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 18, 144 – 149.
- Wallack S., Metcalf M., Skidmore A., Lamb C.R. (2010). Calculation and usage of the thyroid to background ratio on the pertechnetate thyroid scan. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 51, 554 – 560.

OPROEP HONDEN MET MULTICENTRISCH HOOGGRADIG T-CEL LYMFOOM OF TRANSMISSIBILE VENEREAL TUMOUR VOOR EUROPESE STUDIES

Genetisch onderzoek Transmissible Venereal Tumour bij de hond

Dr. Elizabeth Murchison en haar medewerkers, verbonden aan de Universiteit van Cambridge (UK), verrichten onderzoek naar de overdraagbare tumoren Canine Transmissible Venereal Tumour (CTVT) en Tasmanian Devil Facial Tumour Disease (TDFTD). Op dit moment vindt een studie plaats naar de genetische diversiteit van CTVT. Hiermee hoopt men meer duidelijkheid te krijgen in de oorsprong, de evolutie en de mondiale migratie van deze tumor en zijn gastheer, de hond, maar ook in duizenden jaren oude verplaatsingspatronen van de mens. Tevens hopen de onderzoekers de mechanismen te kunnen ontrafelen waarmee deze tumor in staat is te ontsnappen aan het immuunsysteem van de gastheer.

(www.tcg.vet.cam.ac.uk/Research).

Disease Free Survival (DFS) and Progression Free Survival (PFS) of dogs with multicentric high-grade T-cell lymphoma treated with CCNU-L-Chlorambucil-CHOP or L-CHOP as first-line therapy: a prospective European multicentre study

Bij de hond wordt hooggradig T-cellymfoom i.c.m. chemotherapie in het algemeen geassocieerd met een inferieure prognose ten opzichte van B-cellymfoom. Onafhankelijk van het immunofenotype worden de meeste honden met een hooggradig lymfoom behandeld met een L-CHOP protocol. Lomustine (CCNU) wordt vaak gereserveerd voor een rescuebehandeling van therapie-refractair of recidiverend T-cellymfoom. Evidence-based informatie, om de effectiviteit van CCNU in de eerstelijns behandeling van honden met een hooggradig T-cellymfoom aan te tonen, ontbreekt.

Dit prospectieve, gerandomiseerde en niet-geblindeerd klinisch vergelijkend onderzoek vindt plaats in meerdere Europese veterinaire oncologie centra. De onderzoeksgroep is op zoek naar chemo-naïeve honden met een multicentrisch hooggradig T-cellymfoom, gediagnosticeerd m.b.v. (immuno)cytologie en/of (immuno)histologie al dan niet in combinatie met flowcytometrie en/of PARR, die zullen worden behandeld met CCNU-L-Chlorambucil-CHOP of L-CHOP als eerstelijns therapie. In totaal zullen 55 honden in de studie worden opgenomen.

Honden, met een lymfocytair of cutaan epitheliotroop T-cellymfoom

De onderzoeksgroep is op zoek naar chemo-naïeve honden met CTVT, veelal afkomstig uit Middellandse Zeelanden. Van deze honden zal wat bloed worden afgenomen, naast een minimaal invasief tumorbiopst voor conservering in diverse media. Tumorcellen zullen ook direct in een celcultuurmedium worden gebracht. Na biopname kunnen de honden worden behandeld met vincristine per infuus, dat vijf tot zeven keer, eenmaal per week, zal worden toegediend. De prognose van deze behandeling is excellent.

Voor deze studie is Dierenziekenhuis Zeeuws-Vlaanderen in Terneuzen het centrale contact en behandeladres.

(mycosis fungoides), een T-zone lymfoom, een primair craniaal-mediastinaal lymfoom, een hepato-splenaal of hooggradig T-cellymfoom in andere orgaansystemen komen niet in aanmerking voor deelname. Dit zelfde geldt voor honden met een serum creatinine gehalte $\geq 1,5x$ de bovenste referentiewaarde van het centrum, tenzij dit samengaat met paraneoplastische hypercalcemie, of die in de drie voorafgaande maanden zijn behandeld met corticosteroiden.

De honden zullen volledig worden gestageerd d.m.v. thoraxfoto's, echo-onderzoek van het abdomen, beenmergpunctie (facultatief), bloedonderzoek bestaande uit hematologie met inbegrip van een bloeditstrijkje en een biochemisch profiel en een urineonderzoek inclusief E/K ratio wanneer de dipsticktest positief is op eiwit.

De primaire eindpunten van de studie zijn het klinische responspercentage (complete of partiële remissie, stabiele ziekte of progressie), DFS en PFS.

Na het voltooien van de behandeling zullen gedurende een follow-up periode van 2 jaar controlebezoeken inclusief bloed- en urineonderzoek worden uitgevoerd.

Voor meer informatie en het aanmelden van honden voor één van beide studies kan contact worden opgenomen met het oncologisch verwijscentrum van Dierenziekenhuis Zeeuws-Vlaanderen in Terneuzen (NL); voor de T-cellymfoom studie ook met Dierenkliniek Sanimalia in Hasselt (B).

Honden die deelnemen aan één van beide studies komen in aanmerking voor behandeling tegen een gereduceerd tarief.

CONTACTPERSONEN:

Johan de Vos, Dierenziekenhuis Zeeuws-Vlaanderen

Van Diemenstraat 83, 4535 AR Terneuzen (NL)
Tel: +31.115.619628
E-Mail: contact@dzzv.nl

Tom Hendrickx, Dierenkliniek Sanimalia

Mizerikstraat 45, 3590 Diepenbeek (Hasselt)
Tel: +32.11.284600
E-Mail: info@sanimalia.be



Treatment of multicentric or cranial mediastinal high-grade T-cell lymphoma in dogs with a first-line CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP protocol

Eerstelijnsbehandeling met CCNU-L(-chloorambucil)-CHOP van honden met een hooggradig multicentrisch of mediastinaal T-cellymfoom

¹M. Ossowska, ²E. Teske, ¹L. Beirens-van Kuijk, ²M. Zandvliet, ¹J.P. de Vos

¹De Ottenhorst, Veterinary Oncology Referral Centre, van Diemenstraat 83, 4535 AR Terneuzen, the Netherlands

²Department of Clinical Sciences of Companion Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Yalelaan 108, P.O. Box 80154, 3508 TD Utrecht, the Netherlands

contact@dzzv.nl

ABSTRACT

This retrospective study determined disease free survival (DFS) and progression free survival (PFS) in chemo-naïve dogs with multicentric or cranial mediastinal high-grade T-cell lymphoma, treated with a first-line CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP protocol. Of thirteen dogs with multicentric lymphoma, 92.3% achieved a complete remission (CR), and the median DFS and PFS was 317 and 256 days, respectively. Three dogs had cranial mediastinal lymphoma, and achieved a CR with a median DFS and PFS of 978 and 1007 days, respectively. The one- and two-year DFS/PFS probability estimate for dogs with multicentric lymphoma was 0.50/0.46 and 0.42/0.38, respectively, for dogs with cranial mediastinal lymphoma 0.67/0.67. Neutropenia and thrombocytopenia were reported in 52.9% and 50% of the dogs, respectively, while 56.3% experienced grade 1-4 nephrotoxicity, hypothesized to be lomustine-induced. It was concluded that, compared to historical data, the currently described first-line CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP protocol could benefit the survival of dogs with multicentric or cranial mediastinal high-grade T-cell lymphoma.

SAMENVATTING

In dit retrospectieve onderzoek werd de ziektevrije- en progressievrije overleving bepaald van chemotherapie-naïeve honden met een hooggradig multicentrisch of mediastinaal T-cellymfoom, behandeld met een eerstelijns-CCNU-L(-chloorambucil)-CHOP-protocol. Van de dertien honden met een multicentrisch lymfoom vertoonde 92,3% een volledige remissie en de mediane ziektevrije- en progressievrije periode was respectievelijk 317 en 256 dagen. Drie honden hadden een mediastinaal lymfoom en vertoonden allemaal een volledige remissie met een mediane ziektevrije- en progressievrije periode van respectievelijk 978 en 1007 dagen. De één- en tweejarige ziektevrije/progressievrije overlevingskans voor honden met de multicentrische vorm was respectievelijk 0,50/0,46 en 0,42/0,38, voor honden met de mediastinale vorm 0,67/0,67. Neutropenie werd gevonden bij 52,9% van de honden, trombocytopenie bij 50% en 56,3% vertoonde een waarschijnlijk door CCNU veroorzaakte nefrotoxiciteit. De conclusie van het onderzoek is dat eerstelijnsbehandeling met CCNU-L(-chloorambucil)-CHOP een positief effect lijkt te hebben op de overlevingstijd van honden met een hooggradig multicentrisch of mediastinaal T-cellymfoom.

INTRODUCTION

T-cell lymphoma in dogs has been reported to occur with an incidence rate of 10-38% of all lymphoma subtypes (Teske et al., 1994a; Dobson et al., 2001; Fournel-Fleury et al., 2002; Rebhun et al., 2011). Although the WHO-classification scheme recognizes

many distinct forms of T-cell lymphoma, only a few of these forms are commonly encountered in dogs. Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified (NOS) and precursor T-cell lymphoblastic lymphoma are the two most common forms of high-grade T-cell lymphoma. This group of lymphomas is characterized by an aggressive clinical behavior with a poor

prognosis and a short-term response to traditional chemotherapy protocols (Teske et al., 1994b; Kiupel et al., 1999; Dobson et al., 2001; Ponce et al., 2004; Ponce et al., 2010; Valli et al., 2011; Valli et al., 2013). Four anatomical forms of high-grade T-cell lymphoma have been described: multicentric, alimentary, extranodal, and cranial mediastinal arising from the thymus and predominantly comprised of highly malignant T-lymphocytes (Owen, 1980). In comparison, T-zone lymphoma is a low-grade lymphoma with an indolent disease course and a good to excellent prognosis, either without treatment or treated with a combination of prednisolone and chlorambucil (Valli et al., 2013; Frantz et al., 2013). The validity of dividing T-cell lymphomas in dogs clinically into only two categories, i.e. high- and low-grade, was further confirmed in a molecular study (Frantz et al., 2013). Irrespective of the immunophenotype, CHOP-based protocols (cyclophosphamide, doxorubicin = hydroxydaunorubicin, vincristine = Oncovin[®], and prednisolone) remain the standard of care for the treatment of high-grade lymphoma in dogs (Rebhun et al., 2011). Historical results of disease free survival (DFS) and progression free survival (PFS) in dogs with high-grade T-cell lymphoma, treated with CHOP-based protocols, range from 52 to 200 days, and are generally shorter compared to B-cell lymphoma (Vail et al., 1996; Ruslander et al., 1997; Chun et al., 2000; Ponce et al., 2003; Simon et al., 2006; Rebhun et al., 2011). Other treatment protocols, like L-MOPP (L-asparaginase, mechlorethamin, vincristine = Oncovin[®], procarbazine, and prednisolone), did not bring a substantial improvement in survival outcome (Brodsky et al., 2009). Lomustine, 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea (CCNU), is an oral alkylating agent of the nitrosourea subclass. In dogs, CCNU is typically reserved for the treatment of relapsed or refractory lymphoma, either as a single agent or as part of a multidrug protocol (Moore et al., 1999; Saba et al., 2007; Flory et al., 2008; Saba et al., 2009). Up to now, information on the additive value of CCNU within a first-line treatment protocol for canine high-grade T-cell lymphoma has been limited (Morrison-Collister et al., 2003; Sauerbrey et al., 2007; Rassnick et al., 2009; Rassnick et al., 2010).

The aim of this retrospective study was to determine DFS and PFS in dogs with high-grade multicentric or cranial mediastinal T-cell lymphoma, treated with a first-line CCNU-L-CHOP protocol (CCNU, L-asparaginase, cyclophosphamide, doxorubicin = hydroxydaunorubicin, vincristine = Oncovin[®], and prednisolone), with or without a single high dose of chlorambucil in the induction phase, CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP, and investigate the toxicity of this protocol. The hypothesis was that the addition of chlorambucil in the induction phase, and CCNU in both the induction and maintenance phase of a first-line L-CHOP protocol would improve DFS and PFS compared to historical data of L-CHOP-based protocols for dogs with high-grade T-cell lymphoma.

MATERIAL AND METHODS

Study population

Medical records from de Ottenhorst, Veterinary Oncology Referral Centre, Terneuzen, the Netherlands (January 2003 – August 2015) were retrospectively analyzed. The dogs that were included, had a cytologically or histologically confirmed and immunophenotyped high-grade multicentric or cranial mediastinal T-cell lymphoma, with an intention to treat with CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP as first-line therapy. Dogs were excluded if they were diagnosed with low-grade, indolent (T-zone) and other extranodal forms of lymphoma, or concurrent other diseases that severely limited life expectancy or prevented the use of the intended oncolytic drugs. Concurrent use of prednisolone for a maximum of three weeks was allowed for dogs entering the study, provided the diagnosis of high-grade T-cell lymphoma had already been made before the start of corticosteroid therapy and could be re-evaluated. Concurrent or previous use of other drugs was allowed, although the dogs had to be chemo-naïve.

Diagnosis and staging

Diagnosis was made by cytology and/or histology, combined with immunocytochemistry or immunohistochemistry typically using antibodies against CD3 (T-cell marker) and the CD79a (B-cell marker) (Dako, Glostrup, Denmark). Cytology samples were classified according to the updated Kiel classification and histology samples based on the WHO classification (Wright, 1987; Teske et al., 1994b; Fournel-Fleury et al., 1997; Ponce et al., 2010; Valli et al., 2011). Staging and substaging was performed, based on the World Health Organization TNM Classification of Tumors of Domestic Animals (Owen, 1980). Pretreatment assessment included a complete blood cell count (CBC), a complete serum biochemistry profile, and in case clinically indicated, thoracic radiographs and abdominal ultrasound.

Treatment protocol

Dogs were treated with a CCNU-L-CHOP protocol, with the intention to include a single dose of chlorambucil of 1.4 mg kg⁻¹ in week 7 of the protocol, and the first CCNU administration planned in the induction phase of the protocol between week 5-11 (Table 1). Prior to this first dose of CCNU, the dogs were required to have a normal kidney function, defined as serum urea and creatinine levels within the reference range and no abnormalities on urinalysis (specific gravity plus dipstick, urine protein to creatinine ratio when indicated), an ALT ≤ 4x the upper reference value used in the Ottenhorst centre, a neutrophil count ≥ 3x10⁹-L and a thrombocyte count ≥ 150x10⁹-L. The CCNU dose was planned between

Table 1. CCNU-L-chlorambucil-CHOP protocol. Subsequent to each CCNU dose in the maintenance phase, the next vincristine dose was administered after three weeks.

Drug	Dose	Induction phase										Maintenance phase (5 cycles)				
		Week										Week				
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	11	14	15	16	18
L-asparaginase	400 IU kg ⁻¹ IM	•														
Vincristine	0.5-0.7 mg m ⁻² IV		•		•			•		•			•			
Cyclo-phosphamide	250 mg m ⁻² over 2 consecutive days PO			•										•		
Doxorubicin	30 mg m ⁻² IV					•						•			•	
CCNU	60-90 mg m ⁻² PO							1 dose								•
Chlorambucil	1.4 mg kg ⁻¹ PO									•						
Prednisolone	mg kg ⁻¹ BID PO		1	0.75	0.5	0.5 e.o.d.*								0.5 e.o.d.*		

*Every other day

60-90 mg m⁻², with the dose adjusted to the nearest dose that could be administered using available whole capsules of 10, 15 and 40 mg of CCNU.

Since a CBC was not routinely performed at the expected neutrophil nadir five to seven days after the administration of CCNU, but only prior to the next chemotherapy dose, a prophylactic antibiotic therapy (amoxicillin-clavulanate or quinolones) was commenced 48 hours after CCNU administration and continued for a total of eight days.

Assessment of adverse events

Treatment-associated adverse events were graded according to the VCOG-CTCAE v1.1 grading scheme (VCOG-CTCAE, 2011). A physical examination and CBC were performed before each administration of chemotherapy, and between treatments when indicated based on clinical signs. Prior to each CCNU administration, renal function was assessed by measuring a serum creatinine level and performing a urinalysis. Proteinuria was quantified using a urine protein to creatinine ratio when the dipstick test was positive for protein. Liver enzymes were not routinely measured, but only based on clinical suspicion of hepatotoxicity, as a general not well-being, decreased appetite, vomiting or diarrhea, weight loss, and lethargy. Gastrointestinal toxicity was scored on the basis of patient history.

Assessment of response

Since most of the dogs were treated before 2010, the VCOG consensus document, describing the evaluation criteria for the treatment response of peripheral nodal lymphoma in dogs, could not be

followed (Vail et al., 2010). The treatment response was categorized as follows: complete remission (CR), complete disappearance of all measurable disease; partial remission (PR), > 50% reduction but < 100% reduction in volume of all measurable disease; stable disease (SD), < 50% reduction in volume of all measurable disease and < 25% increase in volume; progressive disease (PD), > 25% increase in volume of all measurable disease.

In case of multicentric lymphoma, the remission status was determined at each visit, based on the results of physical examination and calliper measurement of lymph node sizes. Treatment response for cranial mediastinal lymphoma was monitored through physical examination, thoracic radiography and/or ultrasonography at week 3 or 4, and repeated at week 8 or 9. Further follow-up assessment for cranial mediastinal lymphoma was performed as indicated by clinical signs or owner’s preferences. After completing the treatment, a first follow-up visit was planned one month later; thereafter, every three months.

Study endpoints

The endpoints of the study were disease free survival (DFS) and progression free survival (PFS). DFS was defined as the time from achieving complete remission until the time of first relapse, or tumor or therapy related death. PFS was defined as the time between treatment initiation and tumor progression, or tumor- or therapy-related death.

Statistical analysis

The Kaplan-Meier product limit method was used for calculating DFS and PFS (IBM SPSS

Statistics V21.0 software package). The log-rank test was performed to demonstrate significant differences between patient subgroups, with the level of significance set at a P-value < 0.05. By identifying specific patient subgroups, further assessments were made of the prognostic significance of prior corticosteroid therapy, stage of the disease, presence of hypercalcemia, whether or not dogs received chlorambucil, and the moment of CCNU administration. For survival analysis, the dogs without progression of their lymphoma and alive at the end of the study, or that had died from causes not related to lymphoma or therapy, were censored. The censoring date was defined as the last date, on which the progression status was adequately assessed.

RESULTS

Patient characteristics

The files of 65 dogs diagnosed with T-cell lymphoma were retrospectively analysed. Twenty-eight dogs were diagnosed with low-grade lymphomas, of which 13 cutaneous, and 37 dogs with high-grade lymphoma. Seven dogs were not treated based on owners' decision, 14 were treated with different protocols. Sixteen dogs met the inclusion criteria. The patient characteristics are summarized in Table 2. The most common breeds were the Labrador retriever (n = 3) and Dogue de Bordeaux (n = 3). Thirteen dogs had multicentric, and three cranial mediastinal

lymphoma. Thirteen dogs were diagnosed with a high-grade T-cell lymphoma by means of a combination of cytology and immunocytochemistry, whereas the diagnosis of three other dogs was based on histopathology and immunohistochemistry. Of those three, two were classified as an anaplastic large T-cell lymphoma, one as peripheral T-cell lymphoma NOS. Fourteen dogs were reviewed by one pathologist, and of two dogs, cytology and histology were performed in two different diagnostic pathology labs.

Seven dogs presented with hypercalcemia: six with multicentric and one with cranial mediastinal lymphoma.

Two dogs with multicentric and one dog with cranial mediastinal lymphoma had been treated with prednisolone with a median duration of 13 days (range: 9-17) prior to the initiation of chemotherapy.

Treatment analysis

Eight dogs completed the protocol: six with multicentric and two with a cranial mediastinal lymphoma. In five dogs, the therapy was prematurely stopped because of tumor progression, in one dog because of a severe increase in serum creatinine concentration, and two dogs died because of septicemia. The median duration of the CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP protocol in those dogs that completed the treatment was 289 days (range: 224-514), with a median number of 5 CCNU doses delivered (range: 4-6). The median cumulative dose of CCNU in this group of dogs was 405 mg m⁻² (range:

Table 2. Patient characteristics. F = female; Fn = female neutered; M = male; Mn = male neutered; CR = complete remission; DFS = disease free survival; PFS = progression free survival; N/A = not applicable; TR = tumor related; RF = renal failure.

Multicentric lymphoma (n = 13)										
Breed	Age (years)	Gender	Stage and substage	Hyper-Ca	Chlor-ambucil	CCNU in induction	Response	DFS	PFS	Cause of death
Airedale terrier	10.4	M	III a	-	+	+	CR	160	201	TR
Boxer	6.5	Fn	III a	+	+	-	CR	194	199	Septicemia (neutropenic)
Bullterrier	6.1	F	III a	-	-	+	CR	242	256	TR
Dogue de Bordeaux	4.0	Fn	III a	+	+	+	CR	848	882	Lone atrial fibrillation
Mixed-breed	5.8	Mn	III a	-	+	-	CR	225	243	TR
Australian shepherd	5.8	Fn	III b	-	-	+	CR	1365	1377	Euthanasia on owners request
Dogue de Bordeaux	4.0	Fn	III b	+	+	+	CR	867	883	Hemangiosarcoma
White Swiss shepherd	8.2	M	III b	+	-	+	CR	24	45	TR
Dogue de Bordeaux	2.5	M	IV a	-	+	+	CR	395	399	Accident
X English Stafford	10.1	M	V a	-	-	+	PR	N/A	87	TR
Labrador retriever	1.3	Fn	V b	+	-	+	CR	104	116	TR
Labrador retriever	6.5	Mn	V b	-	+	+	CR	887	891	TR
Scottish collie	4.3	Fn	V b	-	-	+	CR	392	401	RF
Cranial mediastinal lymphoma (n = 3)										
Mixed-breed	11.5	Mn	V b	-	+	-	CR	200	227	Septicemia (non-neutropenic)
Golden retriever	1.7	M	V b	+	+	+	CR	1578	1596	RF
Labrador retriever	5.5	Fn	V b	-	-	+	CR	978	1007	RF

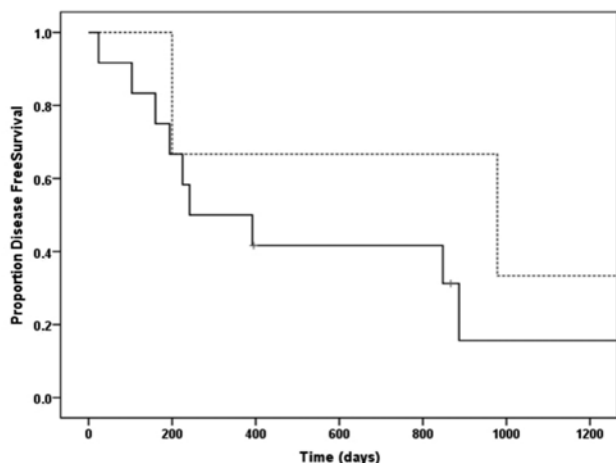


Figure 1. Kaplan-Meier curves for disease free survival (DFS) per anatomical location. The one- and two-year DFS probability estimate for dogs with multicentric lymphoma was 0.50 and 0.42, respectively, for dogs with cranial mediastinal lymphoma 0.67 and 0.67, respectively.
Multicentric _____
Cranial mediastinal

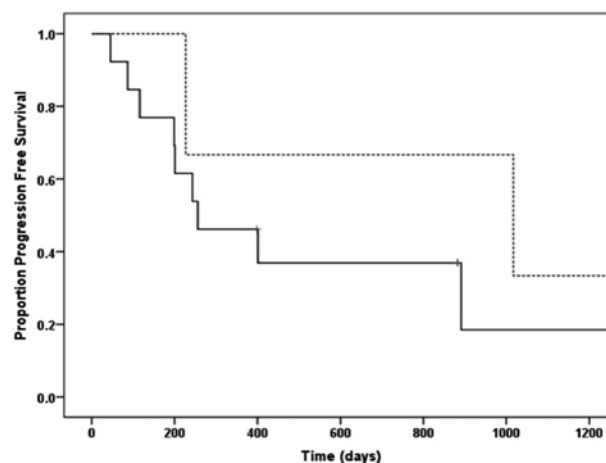


Figure 2. Kaplan-Meier curves for progression free survival (PFS) per anatomical location. The one- and two-year PFS probability estimate for dogs with multicentric lymphoma was 0.46 and 0.38, respectively, for dogs with cranial mediastinal lymphoma 0.67 and 0.67, respectively.
Multicentric _____
Cranial mediastinal

320-480 mg m⁻²), with a median single-dose of 80 mg m⁻² (range: 70-90 mg m⁻²).

Nine of the sixteen dogs received a single dose of 1.4 mg kg⁻¹ chlorambucil: seven of the thirteen dogs with multicentric lymphoma during week 7, and two of the three dogs with cranial mediastinal lymphoma during week 9 (Table 2). Dogs that did not receive chlorambucil in the induction phase, had already received the first dose of CCNU before week 7, based on the clinician’s judgement. The first dose of CCNU was delivered in 13 dogs between week 5-11. Two dogs with multicentric and one dog with cranial mediastinal lymphoma received their first dose of CCNU only in the maintenance phase of the protocol between week 14-16 (Table 2).

Response to treatment

Of the 13 dogs with multicentric lymphoma, 12 (92.3%) achieved a CR and one a PR, between week 0-5. The median DFS in this group was 317 days (range: 24-1365), and the median PFS 256 days (range: 45-1377). The median DFS and PFS for the dogs that received the first dose of CCNU during the induction phase of the protocol was 394 and 399 days, and for the two dogs that received the first dose of CCNU in the maintenance phase 210 and 221 days, respectively. The median DFS and PFS for the dogs that received chlorambucil was 395 and 399 days, and for the dogs that did not, 242 and 186 days, respectively. The individual survival times and cause of death for the dogs with multicentric lymphoma are shown in Table 2. The Kaplan-Meier survival plot for DFS and PFS of the dogs with multicentric lymphoma is outlined in Figures 1 and 2.

All three dogs with cranial mediastinal lymphoma achieved a CR within 18, 27, and 29 days, confirmed

by thoracic radiographs and/or ultrasonography, respectively. The median DFS and PFS in this group was 978 and 1007 days, respectively. The median DFS and PFS for the two dogs that received the first dose of CCNU before D80 was 1278 and 1301 days. DFS and PFS for the dog that received the first dose of CCNU at D105 was 200 and 227 days, respectively. DFS for the two dogs that received chlorambucil was 200 and 1578 days, respectively, and for the dog that did not, 978 days. PFS for the two dogs that received chlorambucil was 227 and 1596 days, respectively, and for the dog that did not, 1007 days. The individual survival times and cause of death for the dogs with cranial mediastinal lymphoma are shown in Table 2. The Kaplan-Meier survival plot for DFS and PFS of dogs with cranial mediastinal lymphoma is outlined in Figures 1 and 2.

DFS and PFS did not differ significantly for dogs with hypercalcemia versus normocalcemia (P = 0.842 and P = 0.480, respectively), pretreatment with prednisolone versus no pretreatment (P = 0.792 and P = 0.361, respectively), with or without a single dose of chlorambucil in the induction phase (P = 0.543 and P = 0.269, respectively), with the first dose of CCNU in the induction or maintenance phase (P = 0.059 and P = 0.091, respectively), stage 3, 4 or 5 of the disease (P = 0.811 and P = 0.944, respectively), substage a or b (P = 0.366 and P = 0.426, respectively), and anatomic location (P = 0.231 and P = 0.254, respectively).

Adverse events

The distribution of the adverse events is shown in Table 3. Neutropenia and thrombocytopenia was reported in 52.9% and 50.0% of the dogs, respectively, and anemia in 68.8%. In most of the cases, these bone marrow related adverse events were defined as grade

1 or 2. However, one dog died because of neutropenia related septicemia in combination with diarrhea, ten days after doxorubicin and eight weeks after CCNU administration.

Nine dogs (56.3%) experienced signs of nephrotoxicity during or after the treatment period. The first laboratory sign in five of them was proteinuria, in three an elevation of the serum creatinine concentration, and one dog presented both proteinuria and creatinine elevation at the first diagnosis of kidney damage. The first signs of nephrotoxicity were noted after a median and mean of 184 and 296 days of treatment (range: 58-876), respectively, and after a median and mean of 4 CCNU doses (range: 1-6). In five dogs, nephrotoxicity was observed during the protocol. In four dogs, the first signs of renal disease appeared after finishing the treatment with a median and mean of 184 and 194 days after the last chemotherapy dose. Kidney parameters, being serum urea, creatinine, and phosphate concentration, and urine specific gravity and protein/creatinine ratio, failed to improve in any of these dogs during the follow-up period, deteriorated slowly, and renal failure was the cause of death in one dog with multicentric and two dogs with cranial mediastinal lymphoma (Table 2). Four of the six hypercalcemic dogs and five of the ten normocalcemic dogs developed renal disease.

Eight dogs (50.0%) had short delays in the administration of various chemotherapeutic drugs with a median number of seven days (range: 4-12). The most frequent cause was neutropenia \geq grade-1. Only in one dog, hepatotoxicity (grade 3) was noted.

DISCUSSION

In humans, there is a broad range of different T-cell lymphomas that have unique characteristics and often warrant individualized diagnostic and therapeutic treatment strategies (Rizvi et al., 2006). In the dog however, the vast majority of T-cell lymphomas belong to the precursor T-cell lymphoblastic subtype and the peripheral T-cell lymphoma NOS, both high-grade lymphomas, and the mature T-cell or T-zone lymphoma, that is a low-grade lymphoma (Ponce et al., 2010; Valli et al., 2011). In addition to these nodal forms, there is the group of cutaneous epitheliotropic T-cell lymphomas.

In the current study, multicentric and cranial mediastinal high-grade T-cell subtypes, diagnosed on cytology or histology were included, and in the response and survival analysis separately evaluated. The validity of dividing T-cell lymphomas in the dog into only two categories, i. e. high-grade and low-grade, was confirmed in a molecular study (Frantz et al., 2013). Lymphoblastic T-cell lymphomas and peripheral T-cell lymphomas NOS were composed of a single molecular group (consistently named high-grade T-cell lymphoma), while low-grade T-zone lymphoma consisted of a distinct molecular group (consistently

Table 3. Distribution of the most common adverse events according to the VCOG-CTCAE v1.1 grading scheme (2011).

	CCNU-L-CHOP (n = 16)
Neutropenia	9 (52.9%)
Grade 1	7 (77.7%)
Grade 2	1 (11.5%)
Grade 5	1 (11.5%)
Thrombocytopenia	8 (50%)
Grade 1	4 (50%)
Grade 2	3 (37.5%)
Grade 3	-
Grade 4	1 (12.5%)
Anemia	11 (68.8%)
Grade 1	9 (81.8%)
Grade 2	2 (18.2%)
Renal toxicity	9 (56.3%)
Increased creatinine	7 (77.7%)
Grade 1	4 (57.1%)
Grade 2	1 (14.3%)
Grade 3	1 (14.3%)
Grade 4	1 (14.3%)
Proteinuria	6 (32%)*
Grade 1	3 (75%)
Grade 2	0 (0%)
Grade 3	1 (25%)
Hepatotoxicity	1 (5%)
Grade 3	1

*In two dogs, proteinuria was only determined by means of a heat precipitation test and could not be graded.

named low-grade T-cell lymphoma). In addition, this study showed that the two high-grade T-cell types had the same poor prognosis, while the low-grade T-cell lymphomas performed much better (Frantz et al., 2013). These findings were further confirmed by the study of Valli et al. in 2013. Epitheliotropic cutaneous and low-grade T-cell lymphomas were therefore excluded from the current study. Since a consensus on the use of the term high-grade lymphoma seems to be lacking, and in line with the previously mentioned studies, this name is used consistently in the current study to point out the aggressive biologic behavior of the lymphomas diagnosed on cytology as well as on histology.

Only three dogs had their diagnosis based on histology, while in 13 dogs, the diagnosis of lymphoma was based on cytology. In large series of lymphomas in dogs, cytology has been demonstrated to have a positive correlation with the WHO classification with respect to the previously mentioned three most commonly diagnosed subtypes of T-cell lymphoma (Teske et al., 1994a; Ponce et al., 2010; Jankowska et al., 2015). Transformation of low-grade lymphomas into high-grade has been reported in humans as well as in dogs, albeit only for the B-cell phenotype in the latter species (Comazzi et al., 2015). Even when well-advanced, T-zone lymphoma still has the small mature

appearing cell type and paucity of mitotic activity. As a result, it cannot easily be confused on cytology with a high-grade lymphoma (Valli et al., 2006). This makes it very unlikely that advanced T-zone lymphomas were not recognized in the current study on cytology, and could have biased the survival outcome.

It is difficult to compare survival data between studies. Differences in endpoints, definition of endpoints, censoring, classification, lack of immunophenotyping and selection of the inclusion and exclusion criteria make comparison unreliable. In the current study, PFS was selected as a second endpoint. Overall survival time, as opposed to PFS, is influenced by many factors, including the re-induction, rescue protocols used, and the owner's willingness to continue treatment. In the statistical analysis, many of the previous studies excluded dogs that did not achieve a CR. It is undeniable that the main treatment goal in dogs with lymphoma is complete remission and that achieving CR is a favorable prognostic factor. This is the reason why DFS was the first endpoint in the present study. However, if CR is not attainable, a PR or SD, preserving a good quality of life, is also an acceptable treatment endpoint, reflected in the PFS.

CCNU is frequently used in rescue protocols for dogs with B- and T-cell lymphoma (Moore et al., 1999; Saba et al., 2007; Flory et al., 2008; Saba et al., 2009). However, to determine the efficacy of the treatment of a specific tumor type with a specific drug, this drug has to be used in first-line therapy, since the outcome of the therapy of resistant or relapsed tumors can be associated with the induction of multi-drug resistance. Only four published studies incorporated CCNU in first-line treatment protocols for multicentric or gastrointestinal high-grade lymphoma in dogs, focused on the improvement of the survival outcome (Morrison-Collister et al., 2003; Sauerbrey et al., 2007; Rassnick et al., 2009; Rassnick et al., 2010). In two of these studies, CCNU was used in the consolidation phase of a first-line non-CHOP protocol (Morrison-Collister et al., 2003; Rassnick et al., 2009). One of these studies exclusively dealt with dogs with gastro-intestinal involvement of the lymphoma, 63% being of T-cell origin. The median survival time for the dogs with T-cell lymphoma was 22 days, so most of the dogs never reached the consolidation phase (Rassnick et al., 2009). In the other study, including dogs with multicentric lymphoma, 38% had the T-cell immunophenotype. CCNU was also incorporated in the consolidation phase, resulting in a median DFS of 168 days, but the results were unfortunately not stratified by immunophenotype (Morrison-Collister et al., 2003). Another study in dogs with multicentric lymphoma, not further graded and immunophenotyped, combined CCNU with prednisone as a first-line treatment, resulting in a 53% response rate with a median PFS of 39.5 days (Sauerbrey et al., 2007). In the study of Rassnick et al. (2010), dogs with multicentric T-cell and B-cell lymphoma were treated first-line with an L-CHOP-

CCNU-MOPP protocol. CCNU was incorporated only twice during the treatment: once in the induction phase and once in the maintenance phase. The median DFS for dogs with multicentric T-cell lymphoma was 126 days, compared to 379 days for dogs with multicentric B-cell lymphoma. However, this difference was not significant. Overall, the outcome of these studies compares unfavorably to the median DFS and PFS reported in the current study. Moreover, the one- and two-year DFS- and PFS-rate in the current study corresponds to the historical results of B-cell lymphoma treatment with CHOP-based protocols (Keller et al., 1993; Garrett et al., 2002).

Since this was a retrospective study, in which the idea to incorporate chlorambucil and CCNU in a preexisting L-CHOP protocol arose more than ten years ago, and the moment of first delivery of these two drugs was based on the clinicians judgement, it turned out that not all dogs received chlorambucil. Additionally, there was a relatively wide variation in time the first CCNU dose was administered. The dogs that did not receive chlorambucil and the dogs that had CCNU administration postponed to the maintenance phase, seem to have a shorter DFS. However, this observation is limited because of the small number of patients, and hence the low statistical power.

One possible explanation for the survival benefit of dogs, treated with CCNU-L(-Chlorambucil)-CHOP for high-grade multicentric or cranial mediastinal T-cell lymphoma is the fact that it is an alkylating agent-rich protocol. Previous studies suggested that the inclusion of multiple alkylating agents within chemotherapy protocols to treat high-grade lymphoma in dogs results in the T-cell phenotype no longer being a negative prognostic factor (Morrison-Collister et al., 2003; Saba et al., 2009).

T-cell lymphomas seem to have a considerably higher number of chromosomal aberrations than B-cell lymphomas (Thomas et al., 2003). This genetic instability could allow T-cell lymphomas to develop methods to evade the cytotoxic effects of chemotherapeutic agents more easily than their B-cell counterparts (Goldie and Coldman, 1984). In one study, T-cell lymphomas actually showed a higher degree of intrinsic drug resistance than B-cell lymphomas (Zandvliet et al., 2015). On the other hand, it is known that alkylating agents are not a substrate of P-glycoprotein efflux mechanisms, and cross resistance is uncommon (Teicher et al., 1986; Borst 2012; Chakkath et al., 2014).

The incorporation of CCNU into CHOP-based protocols has been reported to cause an increase in the incidence of adverse events, with neutropenia, thrombocytopenia and hepatotoxicity being most commonly reported (Morrison-Collister et al., 2003; Kristal et al., 2009; Hosoya et al., 2009; Heading et al., 2011; Skorupski et al., 2011). In the current study, bone marrow toxicities were reversible and in most cases of low-grade. As a shortcoming of this study, mostly for practical or financial reasons, no CBC was

performed at the expected nadir of the neutrophil count, five to seven days after CCNU administration. Consequently, higher grade neutropenia's potentially could have been missed. In an attempt to prevent septicemia, a prophylactic antibiotic therapy was started from two till ten days after the CCNU. The selected antibiotic changed in the course of time from quinolone antibiotics to amoxicillin-clavulanate, based on the regulations on the use of antibiotics in companion animals in the Netherlands. One dog died as a result of non-CCNU related septicemia during an episode of diarrhea, ten days after doxorubicin administration, while the last dose of CCNU was delivered eight weeks before. In this dog, a CBC was performed by the referring veterinarian one week after doxorubicin and at that time, the neutrophil count was normal, but rapidly deteriorated in combination with diarrhea. In the group of the dogs with a cranial mediastinal lymphoma, one dog died one hour after developing acute high fever with a normal neutrophil count, 14 days after cyclophosphamide administration and eight weeks after CCNU.

The second most frequent adverse event was nephrotoxicity, that occurred in nine dogs (56.3%) of the study population. So far, renal toxicity has been reported to be a rare side effect of CCNU in both human and veterinary medicine (Saba et al., 2007; Brodsky et al., 2009; Kristal et al., 2009; Sahni et al., 2009). Although one human study reported 17 of 18 patients who received at least six courses of CCNU for treatment of brain tumors, and all of the nine patients who received more than ten courses of CCNU, to develop impaired renal function. Renal tissue, obtained by percutaneous biopsy in five patients and on post-mortem examination in two patients, demonstrated tubular atrophy, interstitial fibrosis and glomerular sclerosis. The remarkably high incidence of renal damage in this human patient group occurred without a phase of acute renal failure and in the absence of significant urinary abnormalities, while producing insidiously progressive interstitial renal lesions (Schacht et al., 1981). One veterinary study reported that 22.7% of dogs, treated with a CCNU-based protocol for a variety of neoplastic diseases, demonstrated renal toxicity (Bavcar et al., 2013). In general, in humans, nitrosoureas cause renal tubular cell damage by alkylating renal macromolecules like DNA, RNA and various enzymes, which in turn results in tubular atrophy, glomerular sclerosis and chronic tubulo-interstitial nephritis. This leads to a slowly progressive renal dysfunction and finally renal failure, starting either concurrently with the administration of the drug or even months following discontinuation of therapy (Schacht et al., 1981; Sahni et al., 2009). The same pattern seems to be present in the currently reported CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP protocol. However, it cannot be excluded that the observed nephrotoxicity resulted from the combined use of CCNU with other oncolytic drugs and antibiotics, and is not related to the use of CCNU alone. Nevertheless,

the number of dogs could be insufficient to make a definitive statement. Hypercalcemia prior to the initiation of a CCNU-based therapy did not appear to increase the risk of developing nephrotoxicity.

CCNU is known to be hepatotoxic. Acute injury appears to be localized in the large bile ducts and reflects inflammatory edema, bile stasis, and degeneration of epithelial cells, leading to pericholangitis, intrahepatic cholestasis, secondary hepatocyte injury, and in the long term biliary cirrhosis (Kretschmer et al., 1987). The most common hepatic histopathologic abnormalities in dogs, at the moment of clinical signs, are also inflammatory in nature, and include mild to moderate neutrophilic and lymphoplasmacytic periportal inflammation, fibrosis, and mild bile duct hyperplasia (Kristal et al., 2009). In one study comprising 179 dogs treated with CCNU, 11 dogs (6.1%) developed hepatic toxicity, following a median of 4 CCNU doses and a median cumulative dose of 350 mg m⁻². Median duration to detection of hepatic toxicity from the last dose of CCNU was 11 weeks (range 2-49 weeks). Clinical signs resolved in some dogs, but biochemical abnormalities and histopathologic lesions persisted 4-38 months from the time of diagnosis of liver disease. The majority of the dogs with CCNU-induced hepatotoxicity died from progressive liver disease (Kristal et al., 2009). These findings suggest that CCNU can cause delayed, cumulative dose-related, chronic hepatotoxicity that is irreversible and almost always fatal. High concentrations of toxic metabolites in the bile could be responsible for the hepatotoxic effects of CCNU (Kristal et al., 2009).

CCNU induced hepatotoxicity was of concern in the current study, but since only one case of hepatotoxicity (grade 3) was diagnosed, it did not appear to be a common adverse event, although the dogs were not routinely checked, and subclinical cases might have been undetected. Increases in serum liver enzymes were mostly mild and not associated with clinical signs and might theoretically also have resulted from the concomitant prednisolone administration. Although limited assessment of liver enzymes is a shortcoming of this retrospective study. The chance that clinically relevant hepatotoxicity was missed is considered low due to the absence of appropriate clinical signs. Also those dogs that lived long after treatment, did not show signs of hepatic disease. The authors hypothesize that, since all dogs were on an immunosuppressive dose of prednisolone, this could have prevented the CCNU related hepatotoxicity. Also based on the reported irreversible nature of the liver damage by CCNU with an almost one hundred percent fatal outcome, it is very unlikely that undetected CCNU-related hepatotoxicity occurred in this group of dogs. Despite this observed lack of CCNU induced hepatic failure in the current study, the effect of liver damage, as previously described, must not be underestimated when treating dogs with CCNU, and should be carefully monitored in prospective studies

(Kristal et al., 2009; Hosoya et al., 2009; Heading et al., 2011; Skorupski et al., 2011).

It is concluded that the currently described first-line CCNU-L(-chlorambucil)-CHOP protocol can benefit survival of dogs with high-grade T-cell lymphoma compared to historical results of L-CHOP-based protocols. Although the retrospective character of this study and the small number of dogs treated give rise to limitations, the current results warrant a prospective trial on the use of CCNU-L-chlorambucil-CHOP treatment as a first-line protocol for dogs with high-grade T-cell lymphoma.

REFERENCES

- Bavcar S, Roos A, de Vos JP. (2013). Lomustine induced renal toxicity in dogs: a retrospective study with a prospective follow-up. Proceedings of the World Veterinary Cancer Congress, 2012 March 1-3; Paris. *Veterinary and Comparative Oncology* 11, e7–e70.
- Borst P. (2012). Cancer drug pan-resistance: pumps, cancer stem cells, quiescence, epithelial to mesenchymal transition, blocked cell death pathways, persists or what? *Open Biology* 2, 120066.
- Brodsky EM, Maudlin GN, Lachowicz JL. (2009). Asparaginase and MOPP treatment of dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 578-584.
- Chakkath T, Lavergne SN, Fan TM, Bunick D, Dirikolu L. (2014). Preliminary metabolism of lomustine in dogs and comparative cytotoxicity of lomustine and its major metabolites in canine cells. *Veterinary Sciences* 1, 159-173.
- Chun R, Garrett LD, Vail D. (2000). Evaluation of a high-dose chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14, 120-124.
- Comazzi S, Aresu L, Marconato L. (2015). Transformation of canine lymphoma/leukemia to more aggressive diseases: anecdotes or reality? *Frontiers in Veterinary Science* 2, 42.
- Dobson JM, Blackwood LB, McInnes EF, Bostock DE, Nicholls P, Hoather TM, Tom BD. (2001). Prognostic variables in canine multicentric lymphosarcoma. *Journal of Small Animal Practice* 42, 377-384.
- Flory AB, Rassnick KM, Al-Sarraf R, Bailey DB, Balkman CE, Kiselow MA, Autio K. (2008). Combination of CCNU and DTIC chemotherapy for treatment of resistant lymphoma in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22, 164-171.
- Fournel-Fleury C, Magnol JP, Bricaire P, Marchal T, Chabanne L, Delverdier A, Bryon PA, Felman P. (1997). Cytological and immunological classification of canine malignant lymphomas: comparison with human non-Hodgkin's lymphomas. *Journal of Comparative Pathology* 117, 35-59.
- Fournel-Fleury C, Ponce F, Felman P, Blavier A, Bonnefont C, Chabanne L, Marchal T, Cadore JL, Goy-Thollot I, Ledieu D, Ghernati I, Magnol JP. (2002). Canine T-cell lymphomas: a morphological, immunological, and clinical study of 46 new cases. *Veterinary Pathology* 39, 92-109.
- Frantz AM, Sarver AL, Ito D, Phang TL, Karimpour-Fard A, Scott MC, Valli VE, Lindblad-Toh K, Burgess KE, Husbands BD, Henson MS, Borgatti A, Kisseberth WC, Hunter LE, Breen M, O'Brien TD, Modiano JF. (2013). Molecular profiling reveals prognostically significant subtypes of canine lymphoma. *Veterinary Pathology* 50, 693-703.
- Garrett LD, Thamm DH, Chun R, Dudley R, Vail DM. (2002). Evaluation of a 6-month chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 16, 704-709.
- Goldie JH, Coldman AJ. (1984). The genetic origins of drug resistance in neoplasms: Implications for systemic therapy. *Cancer Research* 44, 3643-3653.
- Heading KL, Brockley LK, Bennett PF. (2011). CCNU (lomustine) toxicity in dogs: a retrospective study (2002-07). *Australian Veterinary Journal* 89, 109-116.
- Hosoya K, Lord LK, Lara-Garcia A, Kisseberth WC, London CA, Couto CG. (2009). Prevalence of elevated alanine transaminase activity in dogs treated with CCNU (Lomustine). *Veterinary and Comparative Oncology* 7, 244-255.
- Jankowska U, Jagielski D, Czopowicz M, Sapiernyński R. (2015). The animal-dependent risk factors in canine T-cell lymphomas. *Veterinary and Comparative Oncology* August 24, [Epub ahead of print: <http://dx.doi.org/10.1111/vco.12164>]
- Keller ET, MacEwen EG, Rosenthal RC, Helfand SC, Fox LE. (1993). Evaluation of prognostic factors and sequential combination chemotherapy with doxorubicin for canine lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 7, 289-295.
- Kiupel M., Teske E, Bostock D. (1999). Prognostic factors for treated canine malignant lymphoma. *Veterinary Pathology* 36, 292-300.
- Kretschmer NW, Boor PJ, el Azhary RA, Ahmed AE, Reynolds ES. (1987). Studies on the mechanism of 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea (CCNU)-induced hepatotoxicity. III. Ultrastructural characterization of bile duct injury. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 19, 109-117.
- Kristal O, Rassnick KM, Gliatto JM, Northrup NC, Chretien JD, Morrison-Collister K, Cotter SM, Moore AS. (2004). Hepatotoxicity associated with CCNU (lomustine) chemotherapy in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 8, 75-80.
- Moore AS, London CA, Wood CA, Williams LE, Cotter SM, L'Heureux DA, Frimberger AE. (1999). Lomustine (CCNU) for the treatment of resistant lymphoma in dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 13, 395-398.
- Morrison-Collister KE, Rassnick KM, Northrup NC, Kristal O, Chretien JD, Williams LE, Cotter SM, Moore AS. (2003). A combination chemotherapy protocol with MOPP and CCNU consolidation (Tufts VELCAP-SC) for the treatment of canine lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology* 1, 180-190.
- Owen LN (Ed). (1980). TNM classification of tumours in domestic animals. Geneva, World Health Organization, 46-47.
- Ponce F, Magnol J-P, Marchal T, Chabanne L, Ledieu D, Bonnefont C, Felman P, Fournel-Fleury C. (2003). High-grade canine T-cell lymphoma/leukemia with plasmacytoid morphology: a clinical pathological study of nine cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 15, 330-337.
- Ponce F, Magnol J-P, Ledieu D, Marshal T, Turinelli

- V, Chalvet-Monfray K, Fournel-Fleury C. (2004). Prognostic significance of morphological subtypes in canine malignant lymphomas during chemotherapy. *Veterinary Journal* 167, 158-166.
- Ponce F, Marchal T, Magnol JP, Turinelli V, Ledieu D, Bonnefont C, Pastor M, Delignette ML, Fournel-Fleury C. (2010). A morphological study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between canine and human lymphoma morphology. *Veterinary Pathology* 47, 414-433.
- Rassnick KM, Moore AS, Collister KE, Northrup NC, Kristal O, Chretien JD, Bailey DB. (2009). Efficacy of combination chemotherapy for treatment of gastrointestinal lymphoma in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 317-322.
- Rassnick KM, Bailey DB, Malone EK, Intile JL, Kiselow MA, Flory AB, Barlow LL, Balkman CE, Barnard SM and Waite AH. (2010). Comparison between L-CHOP and an L-CHOP protocol with interposed treatments of CCNU and MOPP (L-CHOP-CCNU-MOPP) for lymphoma in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology* 8, 243-253.
- Rebhun RB, Kent MS, Borroffka SA, Frazier S, Skorupski K, Rodriguez CO. (2011). CHOP chemotherapy for the treatment of canine multicentric T-cell lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology* 9, 38-44.
- Rizvi MA, Evens AM, Tallman MS, Nelson BP, Rosen ST. (2006). T-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 107, 1255-1264.
- Ruslander DA, Gebhard DH, Tompkins MB. (1997). Immunophenotypic characterization of canine lymphoproliferative disorders. *In Vivo* 11, 169-172.
- Saba CF, Thamm DH, Vail DM. (2007). Combination Chemotherapy with L-Asparaginase, lomustine, and prednisone for relapsed or refractory canine lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21, 127-132.
- Saba CF, Hafeman SD, Vail DM, Thamm DH. (2009). Combination chemotherapy with continuous L-asparaginase, lomustine, and prednisone for relapsed canine lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23, 1058-1063.
- Sahni V, Choudhury D, Ahmed Z. (2009). Chemotherapy-associated renal dysfunction. *Nature Reviews Nephrology* 5, 450-462.
- Sauerbrey ML, Mullins MN, Bannink EO, Van Dorp TER, Kaneene JB, Obradovich JE. (2007). Lomustine and prednisone as a first-line treatment for dogs with multicentric lymphoma: 17 cases (2004-2005) *Journal of the American Veterinary Medical Association* 230, 1866-1869.
- Schacht RG, Feiner HD, Gallo GR, Lieberman A, Baldwin DS. (1981). Nephrotoxicity of nitrosoureas. *Cancer* 48, 1328-1334.
- Simon D, Nolte I, Eberle N. (2006). Treatment of dogs with lymphoma using a 12-week, maintenance-free combination chemotherapy protocol. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20, 948-954.
- Skorupski KA, Hammond GM, Irish AM, Kent MS, Guerrero TA, Rodriguez CO, Griffin DW. (2011). Prospective randomized clinical trial assessing the efficacy of Denamarin for prevention of CCNU-induced hepatopathy in tumor-bearing dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25, 838-845.
- Teicher BA, Cucchi CA, Lee JB, Flatow JL, Rosowsky A, Frei III E. (1986). Alkylating agents: in vitro studies of cross-resistance patterns in human cell lines. *Cancer Research* 46, 4379-4383.
- Teske E, Wisman P, Moore PF, van Heerde P. (1994a). Histological classification and immunophenotyping of canine non-Hodgkin's lymphomas. Unexpected high frequency of T-cell lymphomas with B-cell morphology. *Experimental Hematology* 22, 1179-1187.
- Teske E, van Heerde P, Rutteman GR, Kurzman ID, Moore PF, MacEwen EG. (1994b). Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 205, 1722-1728.
- Thomas R, Smith KC, Ostrander EA, Galibert F, Breen M. (2003). Chromosome aberrations in canine multicentric lymphomas detected with comparative genomic hybridization and a panel of single locus probes. *British Journal of Cancer* 89, 1530-1537.
- Vail DM, Michels GM, Khanna C, Selting KA, London CA, Veterinary Cooperative Oncology Group (2010). Response evaluation criteria for peripheral nodal lymphoma in dogs (v1.0)--a Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) consensus document. *Veterinary and Comparative Oncology* 8, 28-37.
- Vail DM, Kisseberth WC, Obradovich JE, Moore FM, London CA, MacEwen EG, Ritter MA. (1996). Assessment of potential doubling time (Tpot), argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNOR), and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as predictors of therapy response in canine non-Hodgkin's lymphoma. *Experimental Hematology* 24, 807-815.
- Valli VE, Vernau W, de Lorimier LP, Graham PS, Moore PF. (2006). Canine indolent nodular lymphoma. *Veterinary Pathology* 43, 241-256.
- Valli VE, Kass PH, San Myint M, Scott F. (2013). Canine lymphomas: association of classification type, disease stage, tumor subtype, mitotic rate, and treatment with survival. *Veterinary Pathology* 50, 738-748.
- Valli VE, San Myint M, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F, Durham A, Ehrhart EJ, Johnson Y, Jones C, Kiupel M, Labelle P, Lester S, Miller M, Moore P, Moroff S, Roccabianca P, Ramos-Vara J, Ross A, Scase T, Tvedten H, Vernau W. (2011). Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. *Veterinary Pathology* 48, 198-211.
- VCOG-CTCAE. (2011). Veterinary cooperative oncology group - common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.1. *Veterinary and Comparative Oncology Jul 20*, [Epub, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00283.x>]
- Wright DH. (1989). Updated Kiel classification for lymphomas. *The Journal of Pathology* 157, 283-284.
- Zandvliet M, Teske E, Schrickx JA, Mol JA (2015). A longitudinal study of ABC transporter expression in canine multicentric lymphoma. *Veterinary Journal* 205, 263-271.

Infectious bronchitis virus infections of chickens in Belgium: an epidemiological survey

Infectieuze bronchitisvirus-infecties bij kippen in België: een epidemiologisch onderzoek

¹P. De Herdt, ²M. De Gussem, ¹S. Van Gorp, ³R. Currie

¹ MSD Animal Health, Lynx Binnenhof 5, 1200 Brussels, Belgium

² Degudap, Sasstraat 8, 8870 Izegem, Belgium

³ X-Ovo Limited, Thomson Cooper 3 Castle Court, Dunfermline KY11 8PB, United Kingdom

peter.de.herdt@merck.com

ABSTRACT

Between April 2012 and July 2015, cloacal and/or tracheal swab samples were collected from four hundred and twenty-four Belgian chicken broiler, breeder and layer flocks. All flocks were kept for production purposes and presented clinical signs suggestive of an infectious bronchitis virus (IBV) infection. The samples were analyzed by real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR) to detect the presence of ribonucleic acid (RNA) of IBV. When positive, approximately four hundred base pairs (bp) encoding for the hypervariable region of the IBV S1 protein were sequenced. Sequencing results, cycle threshold (Ct) values and vaccination history were used as criteria to try and distinguish vaccine strains from field strains.

Of all samples examined, 22.4% was negative. In 16.4% of the samples that did contain RNA from IBV, the genotype could not be determined. In most cases, this was due to the recovery of RNA quantities below the lower limit of detection of the sequencing PCR. The remaining positive submissions predominantly revealed RNA from IBV strains that belonged to the 4/91–793B (46.8%), D388–QX (25.2%), D274–D207 (5.8%) and Massachusetts (4.0%) genotypes. Estimations indicated that approximately 58%, 11%, 37% and 46% of these detections, respectively, were vaccine strains. Infections with types CK/CH/Guandong/Xindadi/0903, Ukr/27/2011, NGA/295/2006 and Q1 were observed sporadically.

The results indicate that IBV infections are highly prevalent in Belgian chickens and that at least eight different IBV types were circulating during the monitored period. This underlines the necessity of providing flocks with a strong and broad protective immunity against IBV.

SAMENVATTING

Tussen april 2012 en juli 2015 werden swabs genomen uit de cloaca en/of trachea bij vierhonderdvierentwintig tomen Belgische kippen, zowel vleeskuikens, ouderdieren als leghennen. Alle tomen werden voor commerciële doeleinden gehouden en ze vertoonden klinische symptomen die konden wijzen in de richting van een infectieuze bronchitisvirus (IBV)-infectie. De monsters werden onderzocht via “real-time polymerase chain reaction” (RT-qPCR) om de aanwezigheid van ribonucleïnezuur (RNA) van IBV na te gaan. Wanneer ze positief bleken, werd een sequenceringsprocedure uitgevoerd van ongeveer vierhonderd baseparen (bp) die coderen voor de hypervariabele regio van het S1-proteïne. De gevonden sequenties, de “cycle threshold” (Ct)-waarden en het toegediende entschema werden gebruikt om de veldstammen en vaccinstammen van elkaar te kunnen onderscheiden.

Van alle onderzochte monsters was 22,4% negatief. In 16,4% van de monsters waarin RNA van IBV aanwezig was, kon het genotype niet bepaald worden. Dit was vooral omdat de hoeveelheid RNA lager was dan de onderste detectiegrens van de sequenceringsPCR. In de overige positieve monsters werd vooral RNA van IBV-stammen die behoorden tot de genotypes 4/91–793B (46,8%), D388–QX (25,2%), D274–D207 (5,8%) en Massachusetts (4,0%) aangetroffen. Schattingen duiden erop dat respectievelijk ongeveer 58%, 11%, 37% en 46% van de aangetoonde virussen, vaccinstammen waren. Infecties met types CK/CH/Guandong/Xindadi/0903, Ukr/27/2011, NGA/295/2006 en Q1 werden occasioneel gevonden.

De resultaten tonen aan dat IBV-infecties bij kippen in België frequent voorkomen en dat in de gemonitorde periode minstens acht IBV-types circuleerden. Dit bevestigt de noodzaak om kippentomen te voorzien van een sterke en breed beschermende immuniteit tegen IBV.

INTRODUCTION

Infectious bronchitis virus (IBV) is the cause of a very common and economically important disease in chickens. In young birds, IBV mostly leads to respiratory problems although some strains are nephropathogenic. Mortality in infected flocks may rise to 30%. In layer and breeder chickens, egg production and quality declines are observed.

IBV was first recorded in 1931 in Massachusetts (Schalk and Hawn, 1931). This original IBV was therefore called the Massachusetts type. Being a single stranded RNA virus, IBV appeared highly susceptible to mutation. Variations in the S1 spike protein, which is localized on the surface of the virus particles, have led to the emergence of numerous variants worldwide (Jackwood and de Wit, 2014). Vaccines may afford variable protection against variants, which may hamper control of the disease by vaccination. Formerly, variants were identified on the basis of virus neutralization assays (serotyping) but nowadays, these tests have been replaced by molecular techniques (genotyping).

The situation with respect to IB prevalence and IBV types involved in infection may easily change over time (de Wit et al., 2011a). As such, epidemiological surveys in the Belgian poultry sector demonstrated a clear shift from types that occurred during a first period of monitoring between 1986 and 1995 (Meulemans et al., 2001) and a second monitored period from 2002 to 2006 (Worthington et al., 2008). More recent information has not been well collated. Therefore, it was the aim of the present study to examine the current prevalence of IB in Belgian chicken flocks and to identify the IBV types involved.

MATERIALS AND METHODS

Flock data and sampling

From April 2012 to July 2015, veterinary practitioners submitted samples from 181 broiler, 139 broiler breeder and 104 layer chicken flocks. All flocks were kept for production purposes and exhibited signs that might indicate an IBV infection, such as respiratory disorders, wet litter, drops in egg production and egg-shell deformities. Submissions were always accompanied by a completed questionnaire gathering detailed information on the date and site of sampling, the type and age of sampled birds, the clinical signs and lesions observed and the vaccination history (products used, age and route of administration and dosing).

For each flock, ten dry swabs were taken from the cloaca and/or trachea of the birds, put in individual plastic tubes and sent to the diagnostic laboratory. The interval between collection of samples and laboratory examination was approximately two weeks. Except during transport, the samples were stored between 2 and 8 °C.

Molecular analyses

In order to confirm the presence of RNA from IBV (regardless of genotype) in the submitted samples, the real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR) method described by Callison et al. (2006) was applied to ten swab sample pools. Up to 35 cycles were run. The cycle threshold (Ct) value was noted in positive samples that were further analyzed using universal primers specific for the S1 region of the IBV genome as well as an additional primer pair appropriate

Table 1. Results of screening for the presence of IB viruses from April 2012 to July 2015 in Belgian chicken flocks exhibiting clinical signs, through RT-qPCR and sequencing analyses.

	Complete collection of		Samples obtained from flocks of	
	samples	Broilers	Breeders	Layers
Number of flocks tested	424	181	139	104
Result of RT-qPCR analysis				
% IBV positive	77.6	84.0	74.8	70.2
% IBV negative	22.4	16.0	25.2	29.8
Genotype distribution (%) of positive samples				
4/91 – 793B	46.8	56.6	37.5	39.7
D388 – QX	25.2	32.9	11.5	28.7
D274 – D207	5.8	2.6	14.4	0
Massachusetts	4.0	3.3	4.8	4.1
CK/CH/Guandong/Xindadi/0903	0.9	0	1.9	1.4
Ukr/27/2011	0.3	0	0	1.4
Q1	0.3	0	1.0	0
NGA/295/2006	0.3	0	1.0	0
Untypeable	16.4	4.6	27.9	24.7

Table 2. Proportion (%) of RT-qPCR positive samples that showed either 100%, between 99 % and 100% or less than 99 % identity with commercially available vaccine strains, on the basis of sequencing analyses of the hypervariable region encoding the IBV S1 protein.

IBV genotype	Sequence identity to homologous vaccine strains		
	100 %	99 % – 100 %	< 99 %
4/91 – 793B	64.3	17.5	18.2
D388 – QX	10.8	54.2	35.0
D274 – D207	31.6	52.6	15.8
Massachusetts	38.5	38.5	23.0

Table 3. Overview of presumed field strains of IBV demonstrated in Belgian chicken flocks between April 2012 and July 2015 (*).

IBV genotype	Percentage of total number of isolates	Number of isolates obtained from		
		Broilers	Breeders	Layers
D388 – QX	44.8 %	42	11	21
4/91 – 793B	40.0 %	14	27	25
D274 – D207	7.3 %	1	11	0
Massachusetts	4.2 %	1	4	2
CK/CH/Guandong/Xindadi/0903	1.8 %	0	2	1
Ukr/27/2011	0.6 %	0	0	1
Q1	0.6 %	0	1	0
NGA/295/2006	0.6 %	0	1	0

(* Presumed to be field strains on the basis of their S1 sequence homology, PCR Ct values and vaccination history.

for the detection of the D1466 genotype (Cavanagh et al., 1999; Worthington et al., 2008). This generated a PCR product of approximately 400 base pairs (bp) encoding the hypervariable region of the S1 protein for sequencing. Sequencing was conducted according to Worthington et al. (2008), with slight modifications. Obtained sequences were compared with those available in the NCBI Genbank nucleotide database in order to determine the IBV genotype involved.

Distinction between field strains and vaccine strains

Up to present, an in vitro method that allows the unambiguous distinction between field viruses and vaccine viruses of the same genotypes, does not exist. Live vaccine strains often used in Belgian poultry belong to the genotypes Massachusetts, 4/91 - 793B (Cook et al., 1996; Gough et al., 1992), D388 – QX (Beato et al., 2005; de Wit et al., 2011b; Landman et al., 2005; Toffan et al., 2011; Yu et al., 2001) and D274 – D207 (Davelaar et al., 1984; Jordi et al., 1989). In order to estimate the proportion of field viruses in samples that contained RNA from these genotypes, multiple criteria were used.

First, the sequence of the detected viruses was compared to corresponding sequences in an internal database built by examining vials of all common commercial vaccines through next generation sequencing (X-Ovo Limited, unpublished). Sequences were also

compared to those obtained in vaccinated flocks in other countries where no field strains equivalent to the vaccine genotype were known to circulate. The criteria proposed by Worthington et al. (2006) were used for evaluation of the results. For viruses with 100% sequence homology to the vaccine strains, it was considered most probable they were indeed vaccine strains. Less than 99% homology may have been a field challenge while the intermediate range was considered questionable.

As a second criterion, obtained Ct values were compared to Ct values established during serial monitoring in vaccinated and infected flocks under field and experimental conditions. When the measured Ct value was significantly lower than expected, this could constitute an additional argument for the involvement of a field virus. Especially Ct values below 20 - demonstrating a large amount of viral RNA in the samples - were considered indicative for a field virus infection.

Also the vaccination history was taken into account; the identity of the vaccines used as well as the eventual interval between their administration and the sampling of the birds contributed to the evaluation. Finding the sequence of a genotype that was not included in the vaccination schedule or finding a sequence in vaccinated flocks at a much later moment than could be expected from experiments and field experiences, were considered possible indicators of a field infection.

After evaluating the degree of evidence provided

by the outcome of the three criteria, the detected viruses were classified as presumed field strains or presumed vaccine strains.

RESULTS

The results of molecular screening in 424 Belgian chicken flocks from April 2012 to July 2015 are summarized in Table 1, Table 2 and Table 3.

Overall 22.4 % of the 424 examined flocks did not reveal any RNA from IBV and was therefore considered negative. The remaining 77.6% of the samples appeared IBV positive (Table 1).

In 16.1 % of the positive samples, it was impossible to classify the detected viruses into a specific genotype. Untypeable strains were found mostly in samples with a very high Ct, indicating they contained only a very small quantity of RNA, insufficient for appropriate sequencing. In the remaining 83.9 % of IBV positive samples, the detected viruses could be attributed to eight different genotypes (Table 1).

Strains belonging to the genotypes 4/91 - 793B, D388 – QX, D274 – D207 and Massachusetts were most prevalent, accounting for approximately 98% of all typeable detections. For these genotypes, 64.3%, 10.8%, 31.6 and 38.5% of the strains, respectively, showed 100% identity with homologous vaccine strains (Table 2).

The variant type 4/91 - 793B was found in 46.8 % of the IBV positive samples. It was estimated that this type was involved in approximately 40% of the IBV field infections. Presumed field strains were found most often in breeder and in layer flocks.

D388 – QX strains of IBV represented 25.2 % of the IBV-positive cases. They were considered responsible for approximately 45% of all IBV field infections, predominantly in broiler flocks.

Variant type D274 – D207 strains accounted for 5.8 % of the positive samples, approximately 37% of which were vaccine. Presumed field strains were demonstrated almost exclusively in breeder flocks.

Classical Massachusetts strains were found in 4 % of the IBV positive flocks; rather even proportions were derived from broilers, breeders and layers. Presumed field infections occurred especially in breeder flocks and sporadically in layer birds.

Other genotypes were found sporadically. Three strains belonged to the variant type CK/CH/Guandong/Xindadi/0903 (Ji et al., 2011); it was obtained twice from breeders and once from layers. The variant type UKR/27/2011 (Ovchinnikova et al., 2012) was found only once in a layer flock. Variants NGA/295/2006 (Ducatez et al., 2009) and Q1 (Toffan et al., 2011; Liu and Kong, 2004; Yu et al., 2001) were also just found once, both in breeders.

Comparing the amino acid composition of the examined part of the S1 protein between possible field strains and homologous vaccine strains (when avail-

able), an average homology of 97.5% was found. Only 2 % of the detections showed less than 90% homology, extending as low as 72% in one QX-type strain.

DISCUSSION

Molecular techniques are appropriate to run epidemiological studies on IBV infections in chickens, including the identification of IBV types involved (Worthington et al., 2008), on a large scale. Additional advantages are that they can be performed on dry swab samples that are taken in a non-invasive way from live birds and that these can be sent to the lab without taking special precautions to storage and/or shipment conditions (Cavanagh et al., 1999; Worthington et al., 2008). These techniques therefore were suitable to the purpose of the present study.

In order to obtain clear insights in the epidemiological situation, field strains have to be distinguished from live homologous vaccine strains. No standardized method for achieving this differentiation of strains exists (Jackwood and de Wit, 2014; Worthington et al., 2008). In an attempt to distinguish field and vaccine strains, some authors have compared the sequence of genes encoding the S1 protein from obtained isolates with the sequence of vaccine strains (Worthington et al., 2008). However, this only gives unambiguous results in case of extensive sequence differences. Live IBV vaccines are usually obtained after serial passaging of IBV field strains *in vitro*. This procedure leads to attenuation but not necessarily to significant differences in the S1 composition, meaning that some vaccine strains may show virtually 100% homology to field strains for the composition of the S1 protein (Huang and Wang, 2007). Further, vaccine strains might –just as it is observed in field strains– sporadically undergo mutation for the S1 protein under field circumstances. Isolates with slight S1 deviations compared to vaccine strains thus do not necessarily indicate field viruses. This should be kept in mind, especially when encountering isolates that are different from the vaccine strains in only one or a few nucleotides. Thus, although sequencing is often appropriate for the classification of isolates into field or vaccine strains, it cannot attribute all isolates in an undisputed way. In order to enhance the reliability of the classification method, in this study, additional evaluation criteria were used, namely the Ct value of the samples in RT-qPCR and the vaccination history of the birds. Although it cannot be excluded that in some cases vaccine strains and field strains have been confused, this way of working was suitable to provide insights in the overall IBV situation of chickens in Belgium. A basic difference between field and vaccine strains is their virulence. An *in vitro* test determining virulence of IBV strains would therefore be a useful tool for distinguishing field and vaccine strains, especially when they are having a very high degree of S1 homology.

Virulence mechanisms in IBV are however poorly understood (Jackwood and de Wit, 2014). Armesto et al. (2009) have demonstrated experimentally that activity of the replicase gene may be of importance but more research in this field is needed.

At the time this study was initiated, published data on IBV infections in Belgian chicken flocks were scarce. Data obtained by Meulemans et al. (2001) related to the period 1986-1995 and the situation in broilers only. Worthington et al. (2008) organized a more recent study between 2002 and 2006 but it is unclear whether or not their examinations related to all categories of chickens. Despite some limitations, comparing these authors' results with the present ones showed clear changes over time. Indeed, as Massachusetts and D274-D207 were the most prominent types up to the mid-nineties, their prevalence has continuously declined to become rather occasional findings at present. The B1648 variant (Meulemans et al., 1987), which accounted for 11% of the isolates collected between 1986 and 1995, was not recovered in the subsequent surveys. On the other hand, the prevalence of the 4/91 – 793B type, which was observed originally in less than 1% of the cases, has continuously increased to become involved nowadays in approximately 40 % of the IBV field infections in Belgium, especially in breeders and layers. The type D388 – QX first appeared in Belgium in 2004 (personal observations) and quickly became the primary IBV type causing problems at present, especially in broilers.

Besides the major types of IBV mentioned above, several others may sporadically occur in Belgium. As such, Worthington et al. (2008) reported the Italy02 (Jones et al., 2005) and D1466 (Davelaar et al., 1984) variants in 1.9% and 4.4% of the cases, respectively. These strains were not encountered in the present survey. CK/CH/Guandong/Xindadi/0903, Ukr/27/2011, Q1 and NGA/295/2006 variants were documented but none of them accounted for more than 2% of the isolates. A possible explanation for the fact that these variants do not expand could be that currently used vaccination schemes provide protection against them. This can be supported by the fact that infected flocks showed only low virus loads, most probably indicating that the infections were not significantly related to the problems in the flocks and thus were coincidental findings. Further, experimental challenge data (de Wit et al., 2014 ; Massi et al., 2006) have demonstrated a high level of protection against Q1 and Italy02 variants in chickens vaccinated according to the protectotype approach proposed by Cook et al. (1999), a vaccination concept which is often practiced in Belgium. Briefly, improved protection can be achieved against many IBV strains by using a combined vaccination programme incorporating two antigenically different IBV vaccines, as it has been amply elaborated for Massachusetts and 4/91 vaccine strains (Cook et al., 1999 ; Cook et al., 2001 ; de Wit et al., 2014 ; Terregino et al., 2008).

In the past, IBV strains were classified through serotyping. This was done by examining the reaction pattern of isolates with reference antisera in virus neutralization tests. Nowadays, serotyping has largely been abandoned and replaced by genotyping. Genotypes are defined mostly on the basis of genome sequences encoding the IBV S1 protein. For most isolates, serotyping and genotyping lead to the same outcome but exceptions may occur, as demonstrated by Majó et al. (2004). It has been suggested (Jackwood and de Wit, 2014) that different results in serotyping and genotyping are found especially when the level of S1 amino acid homology of an isolate compared to the reference strain, drops below 90%. In the present study, the percentage of homology between field strains and reference vaccine strains was below 90% in 2 % of the cases, at least for the examined S1 fragment. For one of the strains, the homology reached only 72%. It would be interesting to examine these strains further through serotyping and in experimental challenge trials as this could indicate whether mutations relevant to protective immunity building are present.

The results of the present study indicate that IBV infections are highly prevalent in Belgian commercial chicken flocks. At least eight types of IBV appeared to be circulating in the past three years. This underlines the necessity of providing chickens with a strong vaccinal immunity against IBV. A broad protection against a wide range of IBV types can be obtained by applying vaccines according to the protectotype concept (Cook et al., 1999).

REFERENCES

- Armesto M., Cavanagh D., Britton P. (2009). The replicase gene of avian coronavirus Infectious Bronchitis Virus is a determinant of pathogenicity. *PloS ONE* 4(10): e7384. doi:10.1371/journal.pone.0007384
- Beato M.S., De Battisti C., Terregino C., Drago A., Capua I., Ortali G. (2005). Evidence of circulation of a Chinese strain of infectious bronchitis virus (QXIBV) in Italy. *Veterinary Record* 156, 720.
- Callison S.A., Hilt D.A., Boynton T.O., Sample B.F., Robison R., Swayne D.E., Jackwood M.W. (2006). Development and evaluation of a real-time Taqman RT-PCR assay for the detection of infectious bronchitis virus from infected chickens. *Journal of Virological Methods* 138, 60-65.
- Cavanagh, D., Mawditt, K., Britton, P., Naylor, C.J. (1999). Longitudinal field studies of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus in broilers using type-specific polymerase chain reactions. *Avian Pathology* 28, 593-605.
- Cook J.K.A., Orbell S.J., Woods M.A., Huggins M.B. (1996). A survey of the presence of a new infectious bronchitis virus designated 4/91 (793B). *Veterinary Record* 138, 178-180.
- Cook J.K.A., Orbell S.J., Woods M.A., Huggins M.B. (1999). Breadth of protection of the respiratory tract pro-

- vided by different live-attenuated IB vaccines against challenge with IB viruses of heterologous serotypes. *Avian Pathology* 28, 477-485.
- Cook J.K., Cheshier J., Baxendale W., Greenwood N., Huggins M.B., Orbell S.J. (2001). Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Avian Pathology* 30, 423-426.
- Davelaar F.G., Kouwenhoven B., Burger A.G. (1984). Occurrence and significance of infectious bronchitis virus variant strains in egg and broiler production in the Netherlands. *The Veterinary Quarterly* 6, 114-120.
- de Wit J.J., Cook J.K., van der Heijden H.M. (2011a). Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. *Avian Pathology* 40, 223-235.
- de Wit J.J., Nieuwenhuisen-van Wilgen J., Hoogkamer A., van de Sande H., Zuidam G.J., Fabri T.H.F. (2011b). Induction of cystic oviducts and protection against early challenge with infectious bronchitis virus serotype D388 (genotype QX) by maternally derived antibodies and by early vaccination. *Avian Pathology* 40, 463-471.
- de Wit J.J., Koopman R., Villarreal L.Y. (2014). Efficacy of MA5 and 4/91 vaccines applied in combination at D0 or separately at D0 and D14 against a D388, Q1 and Variant 2 challenge. In: *Proceedings of the VIIth International Symposium on Avian Corona -and Pneumoviruses, and Complicating Pathogens*. Rauschholzhausen, Germany, pp. 72.
- Ducatez M.F., Martin A.M., Owoade A.A., Olatoye I.O., Alkali B.R., Maikano I., Snoeck C.J., Sausy A., Cordioli P., Muller C.P. (2009). Characterization of a new genotype and serotype of infectious bronchitis virus in Western Africa. *Journal of General Virology* 90, 2679-2685.
- Gough R.E., Randall C.J., Dagless M., Alexander D.J., Cox W.J., Pearson D. (1992). A 'new' strain of infectious bronchitis virus infecting domestic fowl in Great Britain. *Veterinary Record* 130, 493-494.
- Huang Y-P., Wang C-H. (2007). Sequence changes of infectious bronchitis virus isolates in the 3' 7.3 kb of the genome after attenuating passage in embryonated eggs. *Avian Pathology* 36, 59-67.
- Jackwood M.W., de Wit S. (2014). Infectious bronchitis. In: Swayne D.E., Glisson J.R., McDougald L.R., Nolan L.K., Suarez D.L., Nair V. (editors). *Diseases of Poultry*. thirteenth edition, Wiley-Blackwell, Ames, IA., p. 139-159.
- Ji J., Xie J., Chen F., Shu D., Zuo K., Xue C., Qin J., Li H., Bi Y., Ma J., Xie Q. (2011). Phylogenetic distribution and predominant genotype of the avian infectious bronchitis virus in China during 2008-2009. *Virology Journal* 8, 184.
- Jones, R.C., Worthington, K.J., Gough, R.E. (2005). Detection of the Italy 02 strain of infectious bronchitis virus in the UK. *Veterinary Record* 156, 260.
- Jordi B.J.A.M., Kremers D.A.W.M., Kusters H.G., van der Zeijst B.A.M. (1989). Nucleotide sequence of the gene coding for the peplomer protein (= spike protein) of infectious bronchitis virus, strain D274. *Nucleic Acids Research* 17, 6726.
- Landman W.J.M., Dwars R.M., de Wit J.J. (2005). High incidence of false layers in (re)production hens supposedly attributed to a juvenile infectious bronchitis infection. In: *Proceedings of the XIVth International Congress of the World Veterinary Poultry Association*. Turkey, Istanbul, p. 369.
- Liu S., Kong X. (2004). A new genotype of nephropathogenic infectious bronchitis virus circulating in vaccinated and non-vaccinated flocks in China. *Avian Pathology* 33, 321-327.
- Majó N., Dolz R., Pujols J., Ordonze G., Porta R. (2004). A survey of infectious bronchitis virus strains isolated in Spain between 1992 and 2000. In: *Proceedings of the IVth Symposium on Avian Corona - & Pneumovirus Infections*. Rauschholzhausen, Germany, pp. 112-115.
- Massi P., Tosi G., Meini A. (2006). Protection of chickens vaccinated with different schemes including the 4/91 vaccine strain against field IBV strain Italy 02: preliminary results. *Italian Journal of Animal Science* 5, 302-308.
- Meulemans G., Carlier M.C., Gonze M., Petit P., Vandebroek M. (1987). Incidence, characterisation and prophylaxis of nephropathogenic avian infectious bronchitis viruses. *Veterinary Record* 120, 205-206.
- Meulemans G., Boschmans M., Decaesstecker M., van den Berg T.P., Denis P., Cavanagh D. (2001). Epidemiology of infectious bronchitis virus in Belgian broilers: a retrospective study, 1986 to 1995. *Avian Pathology* 30, 411-421.
- Ovchinnikova E.V., Zinyakov N.G., Drygin V.V. (2012). Molecular characterization of infectious bronchitis viruses isolated in Russia and CIS countries. *EMBL/GenBank/DBJ databases*, GenBank JX233491.1
- Schalk, A.F., Hawn, M.C. (1931). An apparently new respiratory disease of baby chicks. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 78, 413-422.
- Terregino C., Toffan A., Beato M.S., De Nardi R., Vascelari M., Meini A., Ortali G., Mancin M., Capua I. (2008). Pathogenicity of a QX strain of infectious bronchitis virus in specific pathogen free and commercial broiler chickens, and evaluation of protection induced by a vaccination programme based on the Ma5 and 4/91 serotypes. *Avian Pathology* 37, 487-493.
- Toffan A., Terregino C., Mazzacan E., Castaldello I., Capua I., Bonci M. (2011). Detection of Chinese Q1 strain of infectious bronchitis virus in Europe. *Veterinary Record* 169, 212-213.
- Worthington K.J., Currie R.J., Jones R.C. (2008). A reverse transcriptase-polymerase chain reaction survey of infectious bronchitis virus genotypes in Western Europe from 2002 to 2006. *Avian Pathology* 37, 247-257.
- Yu L., Jiang Y., Low S., Nam S.J., Liu W., Kwangac J. (2001). Characterization of three infectious bronchitis virus isolates from China associated with proventriculus in vaccinated chickens. *Avian Diseases* 45, 416-424.

Multicentric B-cell lymphoma in a pygmy goat

Multicentrisch B-cellymfoom bij een dwerggeit

¹H. Versnaeyen, ²I. Kolkman, ³M. Van Aert, ³S. Ribbens, ¹K. Chiers, ⁴P. Deprez, ⁴B. Pardon

¹ Department of Pathology, Bacteriology and Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

² Veterinary practice A7 Noord dierenartsen, Nipkowlaan 17, 9207 JA Drachten, the Netherlands

³ Department of Reproduction, Obstetrics and Herd Health, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

⁴ Department of Internal Medicine and Clinical Biology of Large Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

Han.Versnaeyen@ugent.be

ABSTRACT

A six-year-old, male pygmy goat was referred with a sudden onset of peripheral lymphadenopathy, which initially started as enlarged inguinal lymph nodes. Clinical examination showed swollen retropharyngeal, prescapular and inguinal lymph nodes. Serologic testing for bovine leukemia, caprine arthritis-encephalitis virus and caseous lymphadenitis was negative. Fine needle aspirates of the prescapular lymph nodes were taken and revealed multiple, large lymphoblastic cells on cytology. Because of the poor prognosis and clinical deterioration, the animal was euthanized. Full necropsy was performed and showed generalized lymphadenopathy. Further histological and immunohistochemical investigation of the lymph nodes characterized this neoplasia as a multicentric large B-cell lymphoma.

SAMENVATTING

In dit artikel wordt een zes jaar oude, mannelijke dwerggeit met acute perifere lymfadenopathie beschreven die initieel begon met opzetting van de inguinale lymfeknopen. Op het lichamelijk onderzoek werd ook zwelling van de retrofaryngeale, de boeg- en de inguinale lymfeknopen vastgesteld. Serologisch onderzoek naar boviene leukemie, capriene arthritis-encefalitisvirus en caseuze lymfadenitis was negatief. Cytologisch onderzoek van een dunne naaldaspiraats van de prescapulaire lymfeknopen toonde multi-pele, grote lymfoblastische cellen. Vanwege de algemene klinische achteruitgang en slechte prognose werd besloten het dier te euthanaseren. Op autopsie werd een veralgemeende vergroting van de lymfeknopen waargenomen. Na histologisch en immunohistochemisch onderzoek van de lymfeknopen werd deze neoplasie als een multicentrisch B-cellymfoom gekarakteriseerd.

INTRODUCTION

Lymphoma is a sporadic disease in ruminants. It has been described in cattle (De Vlieghe et al., 2000; Malatestinic, 2003; Schweizer et al., 2003; Braun et al., 2005; Duncan et al., 2005; Loh, 2007), sheep (Valenti and McDonough, 2003) and goats (Olson and Baumgartner, 1975; Olson et al., 1981a,b; Baker et al., 1982; Bakers and Sherman, 1982; Higgins et al., 1984; de Silva et al., 1985; Craig et al., 1986; Smith and Sherman, 1996; Puette and Lalimer, 1997), but also in deer (Madson and Opriessnig, 2009; Kleinschmidt et al., 2012; Reissig et al., 2013) and water buffalo (Vale-Echeto, 2009). In goats, as in other species, clinical presentation varies and depends on the localization of the tumor. Predilection sites are liver, spleen, lungs and peripheral lymph nodes (Rozaer et al., 1998; Matthews, 1999). The most common associ-

ated clinical signs are anorexia, weight loss, depression, fever, dyspnea and peripheral lymphadenopathy (Higgins et al., 1984; DiGrassie et al., 1997; Matthews, 1999). The involved cell type has only been reported in two goats, one T- and one B-cell (Rozaer et al., 1998; Valentine et al., 2011). In this report, the clinical, pathologic and histologic examination of a six-year-old male goat with multicentric B-cell lymphoma is described.

CASE DESCRIPTION

Case history and clinical examination

A routine consultation with preventive hoof care and deworming was performed, by the referring veterinarian, on two goats. The owner noticed that one of



Figure 1. A six-year-old, male pygmy goat with multicentric large B-cell lymphoma. Enlarged inguinal lymph nodes were noticed on clinical examination.

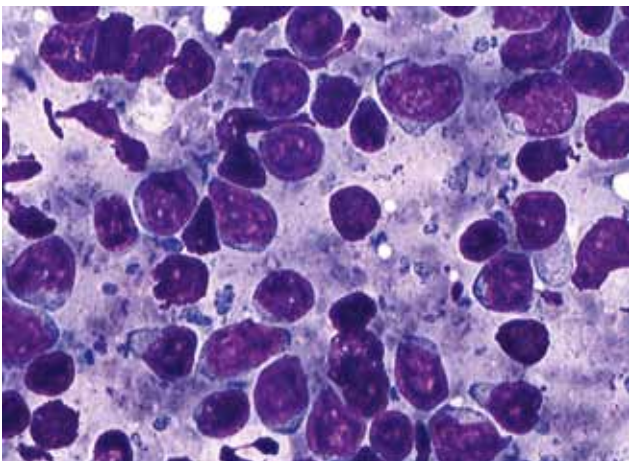


Figure 2. Cytology of a fine needle aspiration from the prescapular lymph node: monomorphic population of large round cells with a large dark blue and round nucleus and a small amount of light blue cytoplasm intermixed with some small, most likely reactive T-lymphocytes (Hemacolor®, Merck KGaA, Germany).

the goats (male and six years old) seemed more dull recently and showed a stiff gait. A thorough clinical examination was performed, but no significant abnormalities were detected, apart from mild swelling of the left inguinal lymph node. Treatment with 10 mg doramectine (Dectomax®, Pfizer AH, Belgium) and 2 mg dexamethasone (Rapidexon®, Eurovet, Belgium) was started. On a control visit one month later, there was clinical deterioration and the animal demonstrated dysphagia. Clinical examination revealed swollen retropharyngeal, prescapular and inguinal lymph nodes (Figure 1). Complete bloodwork was performed and serologic testing was done for bovine leukemia, caprine arthritis-encephalitis virus and caseous lymphadenitis; all tested negative (Table 1). Treatment was started with 1500 mg natriummetamizol en 12 mg butylhyoscine (Buscopan compositum ad us vet®, Boeinger, Belgium) and 6 mg dexamethasone (Rapidexon®, Eurovet, Belgium).

Despite treatment, the animal didn't improve and was referred the next day to the Large Animal Internal Medicine Department of the Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium. Complete bloodwork was repeated and revealed a mild leukocytosis with elevation of the segmented neutrophils (Table 1). Leukocyte differentiation on a blood smear (Hemacolor®, Merck KGaA, Germany) revealed 43% lymphocytes and 57% neutrophils. No abnormal cells were detected. Blood biochemistry revealed several mild abnormalities and a sharply increased creatine kinase, which was probably due to hemolysis. An abdominal and thoracic ultrasound was performed, but no internal mass or any other abnormality could be visualized. Ultrasound of peripheral lymph nodes showed sharp delineation of these lymph nodes with a homogenous echogenicity. Fine needle aspirates were taken (20G needle, 4 cm long) from the left and right prescapular lymph node for cytological evaluation and stained with Hemacolor® (Merck KGaA, Germany). Both aspirates revealed a monomorphic population of large round cells (20-35µm) with a large dark blue and round nucleus and a small amount of light blue cytoplasm (Figure 2). These cells were identified as lymphoblasts. Since these findings were indicative of lymphoma, it was decided to euthanize the animal.

Necropsy, histology and immunohistochemistry

Full necropsy was performed and confirmed the generalized peripheral lymphadenopathy primarily of the prescapular, mandibular, inguinal and popliteal lymph nodes (Figure 3). On closer inspection, enlargement of the deep cervical (Inn. cervicalis profundum, cranialis and caudalis), retropharyngeal (Inn. retropharyngealis) and thoracic lymph nodes (Inn. thoracicum dorsalis and ventralis) was noted. The abdominal lymph nodes of the rumen (Inn. ruminalis), mesentrium (Inn. mesentericum cranialis and ventralis) and aortic lymph nodes (Inn. hemales) were also enlarged. The liver was pale and showed a marked zonal pattern. Gross lesions were not detected in other organs. Within the hour after euthanasia, a bone marrow cytologic sample was taken, using a 18G needle, for a cytologic smear and stained (Hemacolor®, Merck KGaA, Germany). The number of lymphocytes was increased, but no abnormal cells were observed.

Samples of the prescapular lymph node, spleen, lung and liver were fixed in a 4% neutral-buffered formalin, routinely processed and embedded in paraffin. Five-µm-thick sections were mounted and stained with hematoxylin and eosin for histological examination. There were no significant histological abnormalities present in the spleen, lung and liver. The lymph nodes however, had completely lost their normal architecture due to massive infiltration of a monomorphic population of large (12-15µm) neoplastic lymphoblasts. There were mild anisokaryosis and anisocytosis. Mitotic numbers were less than one per ten high power field. The neoplastic population infiltrated the capsule multifocally. Immunolabelling for CD3 (T-cells) and

CD20 (B-cells) was performed as previously described (Vangeel et al., 2012). More than 95% of the cells demonstrated a membranous labeling for CD20, while only a small population of cells were positive for CD3 (Figure 4). Based on these results, this neoplasia was characterized as a multicentric large B-cell lymphoma.

DISCUSSION

Pygmy goats are increasingly popular as companion animals, which increases their lifetime and the amount of veterinary attention demanded by their owners. Lymphoma is the most common tumor in goats, followed by cutaneous squamous cell carcinoma and thymoma (Löhr, 2012). Multicentric lymphoma is the most common type of caprine lymphoma (De Silva et al., 1985; Craig et al., 1986; DiGrassie, 1997 and Löhr, 2012). Age ranges from one to nine years and no breed or gender predilection has been detected so far (Löhr, 2012). The most common clinical sign is loss of normal body condition (Higgins et al., 1984; Craig et al., 1986 and DiGrassie et al., 1997). General peripheral lymphadenopathy, as described in the present case, is not a consistent clinical finding, but has been described in other cases (Baker and Sherman, 1982; Higgins et al., 1984; De Silva et al., 1985; Craig et al., 1986; DiGrassie et al., 1997; Guedes et al., 1998). Other clinical signs are variable and related to the localization of the tumor. Involvement of the head with mandibular and maxillary bone swelling as well as conjunctival swelling or exophthalmos have been described (Baker and Sherman, 1982; De Silva et al., 1985; Craig et al., 1986; Guedes et al., 1998; Valentine et al., 2011). Paraparesis has been reported in a case of lymphoma with involvement of the spinal cord (Gygi et al., 2004).

Coughing and dyspnea were present in a case of caprine pulmonary lymphoma (Matthews, 1999). It has been suggested that lymphoma should be considered as a differential diagnosis in any goat over two years of age with any signs of disease (Craig et al., 1986).

A retroviral cause for caprine lymphoma has been proposed because some goats infected with bovine leukemia virus develop multicentric lymphoma (Olson et al., 1981). Unfortunately, in only two cases, serological testing was performed for exposure to bovine leukemia virus and the results were negative (Valentine et al., 2011). In addition, serologic examination for bovine leukemia virus was also negative in the present case, so the role of a retrovirus in the etiopathogenesis of caprine lymphoma still needs to be demonstrated.

In this case report, fine needle aspirates of two enlarged peripheral lymph nodes were taken for cytologic evaluation and proved to be accurate for the diagnosis of lymphoma. Since fine needle aspiration is minimally invasive, does not require patient sedation, is rapidly performed and inexpensive, it is commonly used in humans and dogs for the diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma/leukemia (Caniatti et al., 1996; Young et al., 1998; Culmsee et al., 2001; Dong et al., 2001; Zeppa et al., 2003; Bangerter et al. 2007). In cattle, it was demonstrated that fine needle aspiration of enlarged peripheral lymph nodes is more specific than core needle biopsy of enlarged peripheral lymph nodes for the ante mortem diagnosis of enzootic bovine lymphosarcoma (Washburn et al., 2007). In goats, this technique has seldom been reported (Baker et al., 1982; de Silva, 1985), but it is a useful tool for practitioners. Furthermore, it is the experience of the authors that unstained cytological specimens can be used for immunophenotyping.

Table 1. Hematology and biochemistry results in a 6 year old male pygmy goat with multicentric large B-cell lymphoma.

	Parameter	Result 28/08	Result 12/09	Reference
Hematology	Hematocrit	152 ml/l	220 ml/l	300-400 ml/l
	Leukocytes	26,9 x 10 ⁹ /l	14,0 x 10 ⁹ /l	4-13 x 10 ⁹ /l
	Neutrophils	0,2 x 10 ⁹ /l	1,3 x 10 ⁹ /l	0,6-4 x 10 ⁹ /l
	Lymphocytes	2,3 x 10 ⁹ /l	2,2 x 10 ⁹ /l	2,5-7,5 x 10 ⁹ /l
	Monocytes	0,39 x 10 ⁹ /l	/	0,025-0,84 x 10 ⁹ /l
	Eosinophils	0 x 10 ⁹ /l	/	0-2,4 x 10 ⁹ /l
	Basophils	0,001x 10 ⁹ /l	/	0-0,2 x 10 ⁹ /l
Biochemistry	Total serum protein	64 g/l	51 g/l	64-70 g/l
	Albumin	65,3%	/	25-49%
	Alfa globulins	19,7%	/	8,18 ± 3%
	Beta-globulins	7,9%	/	5,6 ± 1%
	Gamma-globulins	7,1%	/	20,4 ± 5%
	Total bilirubin	0,1 mg/dl	/	0-0.1 mg/dl
	Urea	/	14,1 mmol/l	2,16-10,5 mmol/l
	GPT	/	214 U/L	50-130 U/L
	AST	/	2500 U/L	46-161 U/L
	LDH	/	8400 U/L	123-392 U/L
	CPK	/	22500U/L	104-219 U/L
	AF	/	50 U/L	27-210 U/L
	γ-GT	/	71 U/L	34-65 U/L



Figure 3. Necropsy of a six-year-old, male pygmy goat with multicentric large B-cell lymphoma. Bilateral enlarged mandibular lymph nodes.

The cell origin of caprine lymphoma has been poorly studied and in only two cases of caprine lymphoma, immunophenotyping has been reported. In one case, a diagnosis of T-cell lymphoma was made (Rozaer et al., 1998), whereas the second case was a multicentric B-cell lymphoma (Valentine et al., 2011). Since in the present case, a B-cell origin was also demonstrated in the multicentric form, it would be interesting to immunophenotype further cases. Improved knowledge of phenotype could be useful to evaluate therapies and/or to predict prognosis.

Treatment of lymphoma in goats is not routinely performed, but since more and more pygmy goats are kept as companion animals, it is likely that owners will demand it in the future. Currently, there are no reports of effective treatment. Only administration of glucocorticoids might cause transient improvement because of lympholysis (Radostits, 2007). Treatment has been extensively studied in small companion animals and the treatment options vary from inexpensive single-agent prednisolone to aggressive chemotherapy, radiation therapy and even bone marrow transplantation. In dogs and cats, the backbone of the current therapy for B and T-cell lymphoma is systemic multi-agent chemotherapy, using drugs, such as vincristine, cyclophosphamide and doxorubicin, with or without L-asparaginase (Chun, 2009; Marconato, 2010).

The prognosis for dogs with multicentric lymphoma is influenced by the clinical stage and substage of disease according to WHO classification at the time of diagnosis. Immunophenotyping is also clinically relevant, because T-cell immunophenotype is a significantly adverse prognostic factor (Teske et al., 1994; Ruslander et al., 1997). For both B- and T-cell lymphoma's, an important factor influencing survival time is the presence or absence of complete remission during chemotherapy (Jagielsky et al., 2002). In goats, this disease has a very rapid course, with most animals dying within one to two months after clinical diagnosis (Jubb and Kennedy, 2007).

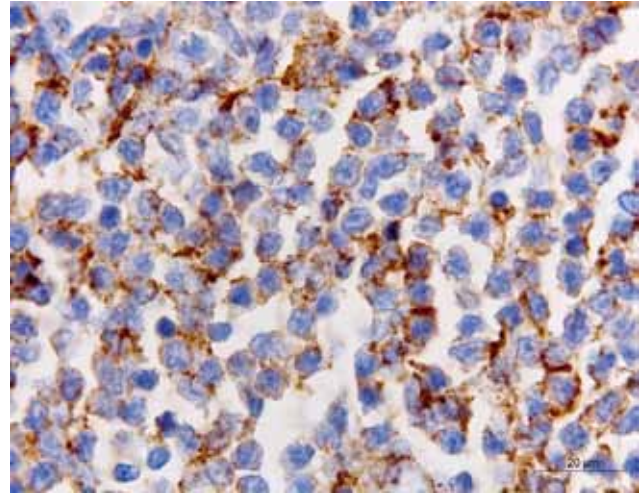


Figure 4. Immunolabeling for CD20 of a sample of the prescapular lymph node. More than 95% of the cells demonstrated a positive membranous labeling. (bar: 20µm).

In conclusion, clinicians should keep caprine lymphoma as a differential diagnosis in mind in many rather vague clinical presentations. Careful inspection and palpation of the peripheral lymph nodes during clinical examination are crucial. In this case report, cytologic evaluation of fine needle aspirates proved to be a simple and useful method to confirm the diagnosis in vivo. Immunophenotyping could be useful to predict prognosis.

REFERENCES

- Baker J.C., Sherman D.M. (1982). Lymphosarcoma in a Nubian goat. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician* 77, 557-559.
- Bangerter M., Brudler O., Heinrich B., Grieshamner M., (2007). Fine needle aspiration cytology and flow cytometry in the diagnosis and subclassification of non-Hodgkin's lymphoma based on the World Health Organization classification. *Acta Cytologica* 51, 390-398.
- Braun U., Jehle W., Soldati G. (2005). Malignant cerebellar lymphoma in a calf. *Veterinary Record* 156, 215-216.
- Canniatti M., Roccabianca P., Scanziani E., et al. (1996). Canine lymphoma: immunocytochemical analysis of fine-needle aspiration biopsy. *Veterinary Pathology* 33, 204-212.
- Chun R. (2009). Lymphoma: which chemotherapy protocol and why? *Topics in Companion Animal Medicine* 24 (3), 157-162.
- Craig R., Roth L., Smith M.C. (1986). Lymphosarcoma in goats. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 8, 190-197.
- Culmsee K., Simon D., Mischke R., et al. (2001). Possibilities of flow cytometric analysis for immunophenotypic characterization of canine lymphoma. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 47, 199-206.
- de Silva L.N.A., Winter M.H., Jackson P.G.G., Bostock D.E. (1985). Lymphosarcoma involving the mandible in two goats. *Veterinary Record* 117, 276.
- De Vlieghe S., Opsomer G., Hoflack G., De Bosschere H., Deprez P., de Kruijff A. (2000). Een thymus lymfoma bij

- een vaars. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 69, 44-46.
- DiGrassie W.A., Wallace M.A., Sponenberg D.P. (1997). Multicentric lymphosarcoma with ovarian involvement in a Nubian goat. *The Canadian Veterinarian Journal* 38, 383-384.
- Dong H.Y., Harris N.L., Preffer F.I., Pitman M.B. (2001). Fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis and classification of primary and recurrent lymphoma: a retrospective analysis of the utility of cytomorphology and flow cytometry. *Modern Pathology* 14, 472-481.
- Gygi M., Kathmann I., Konar M., Rottenberg S., Meylan M. (2004). Paraprese bei einer Zwergziege: Abklärung mittels Magnetresonanztomographie. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 146, 523-528.
- Guedes RMD., Facury Filho E.J., Lago L.A. (1998). Mandibular lymphosarcoma in a goat. *Veterinary Record* 143, 51-52.
- Hemsley S., Bailey G., Canfield P. (2002). Immunohistochemical characterization of lymphosarcoma in two alpacas (*Lama pacos*). *Journal of Comparative Pathology* 127, 69-71.
- Higgins R.J., Poole A., Wilson K.E. (1984). Multicentric lymphosarcoma in a Saanen Goat. *Veterinary Record* 114, 170.
- Irwin J.A. (2001). Lymphosarcoma in an alpaca. *The Canadian Veterinary Journal* 42, 805-806.
- Jagielski D., Lechowski R., Hoffmann-Jagielska M., Winiarczyk S. (2002) A Retrospective Study of the Incidence and Prognostic Factors of Multicentric Lymphoma in Dogs (1998-2000) *Journal of Veterinary Medicine Series*, 49 (8), 419-424.
- Kleinschmidt S., Peters M., Wohlsein P. (2012). Presumptive primary central nervous system T cell lymphoma in a deer (*Capreolus capreolus*). *Research in Veterinary Science* 93, 1334-1336.
- Löhr C.V. (2012). One hundred two tumors in 100 goats (1987-2011). *Journal of Veterinary Pathology* 50 (4), 668-675.
- Madson D.M. and Opriessnig T. (2009). Multicentric T-cell lymphosarcoma in a White-tailed Deer. *Journal of Wildlife Diseases* 45 (3), 791-794.
- Malastestic A. (2003). Bilateral exophthalmos in a Holstein cow with lymphosarcoma. *The Canadian Veterinary Journal* 44, 664-666.
- Matthews J. (1999). External swellings. In: *Diseases of the Goat*. Second edition. Blackwell Science, Paris, France. 122-132.
- Marconata L. (2011). The staging and treatment of multicentric high-grade lymphoma in dogs: A review of recent developments and future prospects. *The Veterinary Journal* 188, 34-38.
- Olson C. (1981a). Lymphosarcoma. In: *Current Veterinary Therapy Food Animal Practice I*. Saunders, Philadelphia: 640-642.
- Olson C., Baumgartner L.E. (1975). Lymphosarcoma of cattle. *Bovine Practice* 10, 15-22.
- Olson C., Kettmann R., Burny A., Kaja R. (1981b). Goat lymphosarcoma from bovine leukemia virus. *Journal of the National Cancer Institute* 67, 671-675.
- Puette M., Latimer K.S. (1997). Acute granulocytic leukemia in a slaughter goat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 9, 318-319.
- Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W., Constable P.D. (2007). Diseases of the hemolymphatic and immune systems. In: *Veterinary Medicine, a Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*. Tenth edition, Saunders Elsevier, Spain: 462-463.
- Reissig E.C., Valli V.E., Pesavento P., Massone A.R., Iovanitti B., Gimeno E.J., Uzal, F.A. (2013) Extranodal follicular lymphoma in the lung of a free-ranging red deer. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 25 (1), 158-161.
- Rozear L., Love N.E., Van Camp S.L. (1998). Radiographic diagnosis: pulmonary lymphosarcoma in a goat. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 39, 528-531.
- Ruslander D.A., Gebhard D.H., Tompkins M.B., Grindem C.B., Page R.L. (1997) Immunophenotypic characterization of canine lymphoproliferative disorders. *In Vivo*. 11(2), 169-72.
- Smith J.A. (1989). Noninfectious diseases, metabolic diseases, toxicities, and neoplastic diseases of South American camelids. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 5, 101-143.
- Smith M.C., Sherman D.M. (1996). Lymph node enlargement. In: *Goat Medicine*. Lea & Febiger, Philadelphia, 197.
- Teske E., Wisman P., Moore P.F., van Heerde P. (1994). Histologic classification and immunophenotyping of canine non-hodgkins lymphoma: unexpected high frequency of t cell lymphomas with B cell morphology. *Experimental hematology* 22, 1179-1187.
- Underwood W.J., Bell T.G. (1993). Multicentric lymphosarcoma in a lama. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 5, 117-121.
- Vale-Echeto O.E., Montiel-Urdaneta N., Simoes D., Vale-Oviedo O.R., Parra-Maldonado O., Oviedo de Vale M.G., García A. (2009). Multicentric lymphoma or multicentric lymphosarcoma in water buffalo (*Bubalus bubalis*): pathologic anatomy. Report of one case. *Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia* 19 (3), 257-263.
- Valentine B.A., Stieger-Vanegas S., Brown S. R., Tornquist S. J., Young K. (2011). Exophthalmos due to multicentric B-cell lymphoma in a goat. *Canadian Veterinary Journal* 52 (12), 1350-1352.
- Vangeel L., Houf K., Geldhof P., Nollet H., Vercruyse J., Ducatelle R., Chiers K. (2012). Intramuscular inoculation of cattle with *Sarcocystis* antigen results in focal eosinophilic myositis. *Journal of Veterinary Parasitology* 183 (3-4), 224-230.
- Washburn KE., Streeter RN., Lehenbauer TW., Snider TA., Rezabek GB., Ritchey JW., Meinkoth JH., Allison RW., Rizzi TE., Boileau MJ. (2007). Comparison of core needle biopsy and fine-needle aspiration of enlarged peripheral lymph nodes for antemortem diagnosis of enzootic bovine lymphosarcoma in cattle. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 230, 228-232.
- Young NA., AL-Saleem TI., Ehya H., et al. (1998). Utilization of fine-needle aspiration cytology and flow cytometry in the diagnosis and subclassification of primary and recurrent lymphoma. *Cancer Cytopathology* 84, 252-261.
- Zeppa P., Picardi M., Marino G., Troncone G., Fulciniti F., Vetrani A., Rotoli B., Palombini L. (2003). Fine-needle aspiration biopsy and flow cytometry immunophenotyping of lymphoid and myeloproliferative disorders of the spleen. *Cancer* 99, 118-127.

NIEUW

NexGard
SPECTRA™

BREDER SPECTRUM BREDERE BESCHERMING

VLOOIEN-
BESTRIJDING

BESCHERMING
TEGEN TEKEN

PREVENTIE VAN
HARTWORMZIEKTE

BEHANDELING VAN
GASTRO-INTESTINALE
NEMATODEN

NEXGARD SPECTRA™, de unieke smakelijke chew, speciaal ontworpen om in één behandeling de meest voorkomende uitwendige én inwendige parasieten bij honden te bestrijden



- Biedt snelle en betrouwbare bescherming tegen vlooien en teken
- Voorkomt hartwormziekte
- Bestrijdt de meest voorkomende inwendige parasieten: spoelwormen, haakwormen en zweepwormen
- Zeer gemakkelijk toe te dienen dankzij de uiterst aantrekkelijke rundvleesmaak
- Zorgt voor een veilige maandelijkse preventie

Een nieuwe uitbreiding binnen de NexGard familie dankzij de combinatie van het innoverende Afoxolaner molecuul met het welbekende Milbemycine Oxime.

Uitsluitend verkrijgbaar op diergeneeskundig voorschrift (UDA)



MERIAL  LINE
DESIGNED FOR PETS MADE FOR VETS

NEXGARD® SPECTRA 9 mg/2 mg kauwtabletten voor honden < 2,5 kg, **NEXGARD SPECTRA** 19 mg/4 mg kauwtabletten voor honden > 2,5-7,5 kg, **NEXGARD SPECTRA** 38 mg/8 mg kauwtabletten voor honden > 7,5-15 kg, **NEXGARD SPECTRA** 75 mg/15 mg kauwtabletten voor honden > 15-30 kg, **NEXGARD SPECTRA** 150 mg/30 mg kauwtabletten voor honden > 30-60 kg (Afoxolaner/Milbemycine Oxime). **Doeliersoort:** Honden. **Indicaties:** Voor de behandeling van vlooien- en tekeninfestaties bij honden, wanneer gelijktijdige preventie van hartwormziekte en/of behandeling van infestaties met gastro-intestinale nematoden is geïndiceerd. **Behandeling van:** Vlooiëninfestaties (*Ctenocephalides felis* en *C. canis*) bij honden gedurende 5 weken. Tekeninfestaties (*Dermacentor reticulatus*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus*) bij honden gedurende 4 weken. Vlooien en teken moeten hechten aan de gastheer en zich voeden om te worden blootgesteld aan de werkzame stof. Infestaties met volwassen gastro-intestinale nematoden van de volgende soorten: rondwormen (*Toxocara canis* en *Toxocara leonina*), haakwormen (*Ancylostoma caninum* en *Ancylostoma braziliense*) en zweepworm (*Trichuris vulpis*). Preventie van hartwormziekte (*Dirofilaria immitis* larven) bij maandelijkse toediening. **Contra-indicaties:** Niet gebruiken bij overgevoeligheid voor de werkzame bestanddelen, of (één van) de hulpstoffen. **Bijwerkingen (frequentie en ernst):** In klinische studies werden geen ernstige bijwerkingen toegeschreven aan de combinatie van afoxolaner met milbemycine oxime. Broeken, diarree, lethargie, anorexia en pruritus werden soms gezien. Deze gebeurtenissen waren over het algemeen zelflimiterend en van korte duur. **Voorzorgsmaatregelen voor gebruik bij dieren:** voor behandeling van puppy's jonger dan 8 weken en/of van honden die minder dan 2 kg wegen een baten/risicobeoordeling van de behandelend dierenarts. In endemische gebieden voor hartworm, dienen honden getest te worden op een bestaande hartworminfestatie, voorafgaand aan de toediening van NEXGARD SPECTRA. Geïnfesteerde honden dienen, naar het oordeel van de dierenarts, behandeld te worden met een adulticide om volwassen hartworm te verwijderen. NEXGARD SPECTRA is niet geïndiceerd voor klaring van microfilaria. De aanbevolen dosis moet strikt worden nageleefd in collies of verwante rassen. **Gebruik tijdens dracht of lactatie:** Uitsluitend gebruiken overeenkomstig de baten/risicobeoordeling van de behandelend dierenarts. **Dosering en toedieningsweg:** Orale gebruik. **Dosering:** 2,50-5,36 mg/kg afoxolaner en 0,50-1,07 mg/kg milbemycine oxime, overeenkomend met 1 NEXGARD SPECTRA 9 mg/2 mg kauwtablet voor < 2,5 kg; 1 NEXGARD SPECTRA 19 mg/4 mg kauwtablet voor > 2,5-7,5 kg; 1 NEXGARD SPECTRA 38 mg/8 mg voor > 7,5-15 kg; 1 NEXGARD SPECTRA 75 mg/15 mg kauwtablet voor > 15-30 kg en 1 NEXGARD SPECTRA 150 mg/30 mg kauwtablet voor > 30-60 kg. Gebruik een geschikte combinatie van kauwtabletten voor honden boven 60 kg. **Methoden van toediening:** De tabletten zijn kauwbaar en smakelijk. Indien niet direct geaccepteerd, kunnen ze worden toegediend met voedsel. **Behandelschema:** Het behandelingschema dient gebaseerd te zijn op veterinaire diagnose en op de lokale epidemiologische situatie. EU/2/14/177/001-015 (REG NL 115045-49). Uitsluitend op diergeneeskundig voorschrift verkrijgbaar diergeneesmiddel (UDA). Verdere informatie beschikbaar bij Merial Belgium NV, Leonardo Da Vinci laan 19, 1831 Diegem of Merial B.V., Kleermakerstraat 10, 1991 JI Velsbroek. f060214. © geregistreerd handelsmerk van Merial. © Merial 2015. Alle rechten voorbehouden. MathArt 17688_3VL/08/15

Traumatische hernia diafragmatica gecompliceerd met tensiegastrothorax bij een hond

Traumatic diaphragmatic hernia complicated with tension gastrothorax in a dog

¹L. Geerinckx, ¹E. Van der Vekens, ²B. Van Goethem, ¹J.H. Saunders

¹Vakgroep Medische Beeldvorming van de Huisdieren en Orthopedie van de Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

²Vakgroep Geneeskunde en Klinische Biologie van de Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

Jimmy.Saunders@UGent.be

SAMENVATTING

Een tien maanden oude, mannelijke cavalierkingcharles-spaniël werd twee maanden na een abdominaal bijtrauma aangeboden met inspiratoire dyspnee en positionele pijnklachten. Afwezige long- en hartgeluiden bij auscultatie van de linkerhemithorax deden traumatische hernia diafragmatica vermoeden. Radiografische opnamen bevestigden dit maar bijkomend werd tympanie van de gehernieerde maag vastgesteld. Dit wordt tensiegastrothorax genoemd en is steeds een acute levensbedreigende complicatie van de hernia. Omwille van de progressief verergerende cardiorespiratoire toestand en het onvermogen om de maag te sonderen werd overgegaan tot een spoedoperatie. Via standaard chirurgische benadering werd de maag geherpositioneerd en de traumatische hernia diafragmatica hersteld. Het postoperatief herstel verliep ongecompliceerd en één jaar na de operatie stelde de hond het nog steeds goed.

ABSTRACT

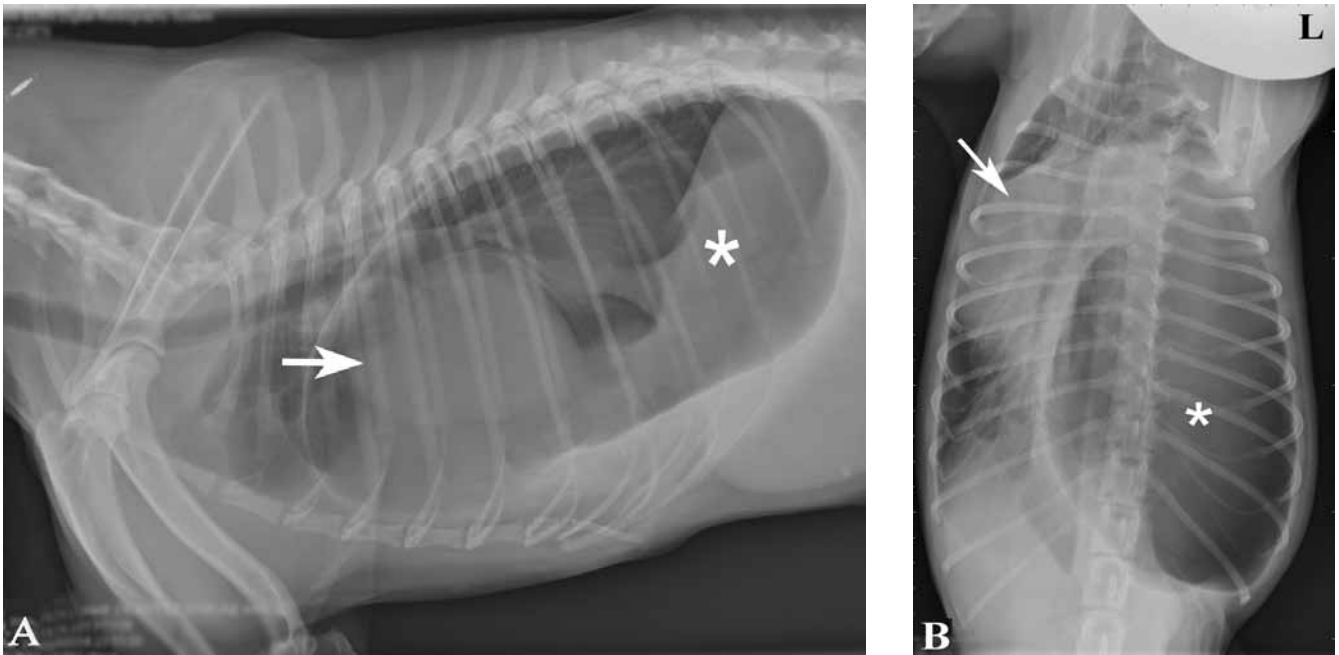
A ten-month-old, intact, male Cavalier King Charles spaniel was presented two months after an abdominal bite incident with inspiratory dyspnea and positional pain. A diaphragmatic herniation was suspected, based on absent lung- and cardiac sounds on auscultation of the left hemithorax. Radiography confirmed this but also showed the presence of severe tympany of a herniated stomach. This is called tension gastrothorax and is an immediate life-threatening complication of the herniation. Because of the progressive worsening of the cardiorespiratory condition of the patient and the inability to intubate the stomach, immediate surgical correction was necessary. A standardized surgical approach was used to reposition the stomach and close the hernia. There were no postoperative complications and one year after the surgery, the dog was still doing well.

INLEIDING

Bij hernia diafragmatica is er een defect aanwezig in het diafragma. Er wordt onderscheid gemaakt tussen een diafragmatische hernia en een diafragmatische ruptuur, twee termen die in de literatuur niet altijd correct worden gebruikt (Paster et al., 2001; Pratschke, 2012). Bij diafragmatische hernia worden de gehernieerde abdominale organen omgeven door een breukzak bestaande uit het pericard, de pariëtale pleura of het peritoneum. Dit type hernia ontstaat door een foutieve fusie van de verschillende compartimenten van het diafragma (McGeady et al., 2006). Bij een diafragmatische ruptuur komen de gehernieerde abdominale organen vrij in de thorax te liggen. De meest voorkomende oorzaken hiervan zijn auto-

ongevallen of bijtincidenten, waarbij een plotse drukstijging in het abdomen ontstaat bij een open glottis (Schwarz et al., 2008). Bij de patiënt uit deze casuïstiek zou dus eigenlijk moeten gesproken worden van een diafragmatische ruptuur. Omdat de term diafragmatische hernia echter meer courant gebruikt wordt in de literatuur, wordt hier de term traumatische diafragmatische hernia gebruikt (Schwarz et al., 2008).

Via het defect in het diafragma kunnen abdominale organen in de thorax terechtkomen. Aangezien de maag luchthoudend is en gedeeltelijk de schok van het abdominale trauma opvangt, komt de ruptuur in het diafragma vaker rechts voor en zijn de organen die het meest herniëren leverlobben en dunne darmlussen. De gehernieerde abdominale organen verminderen de beschikbare ruimte voor hart en longen in de thorax



Figuur 1. A. Rechts laterale en B. dorsoventrale radiografie van de hond. De crura diafragmatica zijn onduidelijk afgevlind. Er is een grote, met gas gevulde structuur te zien die bijna de volledige linkerthoraxhelft inneemt (asterix). Deze zorgt voor een verschuiving van trachea, hoofdbronchen en hartschaduw (pijl) naar rechts en dorsaal. A. Craniaal bevindt zich links en B. bovenaan L: links.

en veroorzaken daardoor respiratoire en cardiovasculaire hinder bij de patiënt. Dyspnee, tachypnee, sterke abdominale ademhaling en uitzonderlijk zelfs cardiovasculaire shock worden gezien (Schwarz, 2008). De verplaatsing van de gastro-intestinale organen kan ook resulteren in anorexie, braken en/of regurgiteren (Litman, 2001). Ook pijn bij het neerliggen wordt beschreven (Suter et al., 1984). Wanneer de diafragmatische hernia links in het diafragma gelegen is en de maag hernieert, wordt dit gastrothorax genoemd (Hyun, 2004; Schwarz et al., 2008). Door een abnormale ligging van de maag vult deze zich met gas, vocht en/of voeding. Wanneer dit kan accumuleren in de maag door een verstoorde aan- en afvoer via slokdarm en duodenum, ontstaat tympanie van de maag. Dit wordt tensiegastrothorax genoemd en wordt snel levensbedreigend voor de patiënt (Horst et al., 2005).

In deze casus wordt chronische traumatische hernia diafragmatica bij een jonge hond beschreven die plots gecompliceerd wordt doordat de gehernieerde maag aanleiding gaf tot tensiegastrothorax. De aanwezigheid van een tympanische maag in de thorax is acuut levensbedreigend en vraagt dan ook een andere aanpak dan de klassieke hernia diafragmatica. Hierna worden de specifieke diagnose en behandeling van een traumatische diafragmatische hernia met tensiegastrothorax beschreven.

CASUÏSTIEK

Een tien maanden oude, mannelijke, intacte cavalierkingcharles-spaniël werd door een andere hond in het abdomen gebeten. Initieel werden, op een kneuzing

van de huid na, geen symptomen opgemerkt. Maar twee maanden later vertoonde de hond progressief ergerere klachten van inspiratoire dyspnee en pijn bij het neerliggen en optillen. Hij werd hiervoor aangeboden op de Vakgroep Geneeskunde en Klinische Biologie van de Kleine Huisdieren van de Faculteit Diergeneeskunde (UGent).

Op het moment dat de hond aangeboden werd, gaf hij een zeer alerte indruk. De capillaire vullingstijd en de mucosae waren normaal; echter, de femorale pols was slechts matig krachtig. De hond vertoonde sterke tachycardie (250 keer per minuut) en lichte, inspiratoire dyspnee. Zowel hart- als longauscultatie waren volledig gedempt aan de linkerzijde. Percussie werd niet uitgevoerd. Shocktherapie werd opgestart met zuurstofsupplementatie en intraveneuze vloeistoftherapie (Hartmann B. Braun, B. Braun Medical N.V./S.A., Diegem, België).

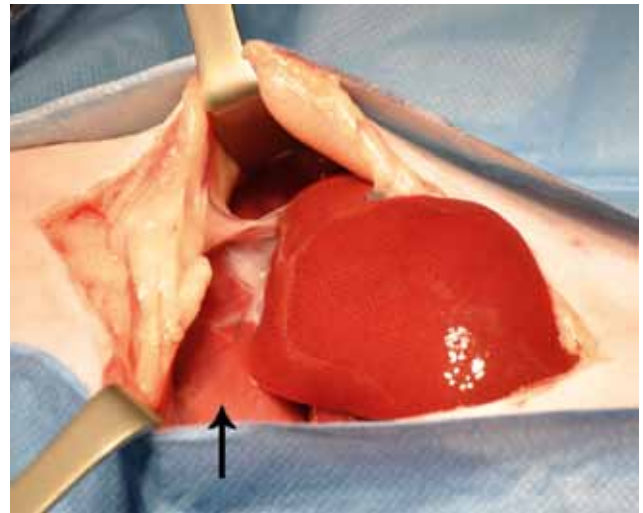
Op basis van het klinisch onderzoek werd chronische traumatische hernia diafragmatica vermoed. Daarom werden twee orthogonale radiografieën van de thorax en het craniale abdomen gemaakt (Figuur 1). De normale aflijning van het diafragma ontbrak aan de linkerzijde en ventraal. Een grote, met gas gevulde structuur nam bijna de volledige linkerhemithorax in en verplaatste de intrathoracale organen naar rechts (mediastinum, trachea en hoofdbronchen). Bijkomend werd de hartapex naar dorsaal verplaatst door de aanwezigheid van een structuur met wekedelenopaciteit ventraal in de thorax. In het abdomen was de maag niet op haar anatomische positie terug te vinden. De lever daarentegen was wel in het abdomen aanwezig. De positie van de andere abdominale organen kon niet eenduidig geïdentificeerd worden.

Op basis van deze radiografieën en het klinisch onderzoek werd een ruptuur van het linkerdiafragma geïdiagnosticeerd. De met gas gevulde structuur in de thorax werd geïnterpreteerd als zijnde de maag, die door intrathoracale dilatatie, zoals dat voorkomt bij obstructie van de pylorus of het duodenum, erg tympanisch geworden was. Dit verschijnsel wordt tensiegastrothorax genoemd. Ook de milt en het omentum waren vermoedelijk mee gehernieerd en lagen ventraal in de thorax, waardoor de hartapex was verplaatst.

Tijdens het verder onderzoek bleef de algemene klinische toestand van de patiënt zeer snel verslechteren. De hond werd lethargisch, de tachycardie hield aan en de femorale puls werd zwak. Hij vertoonde symptomen van decompensatoire shock. Wegens de ernstige radiografische bevindingen en kritieke klinische toestand werd meteen overgegaan tot chirurgische correctie.

Preoperatief werd nog getracht om een gastro-oesofagale sonde te plaatsen, om zo voor decompressie van de tympanische maag te zorgen, maar deze kon niet tot in de maag worden opgeschoven. Dit deed vermoeden dat er eerder een intrathoracale torsie van de maag was opgetreden.

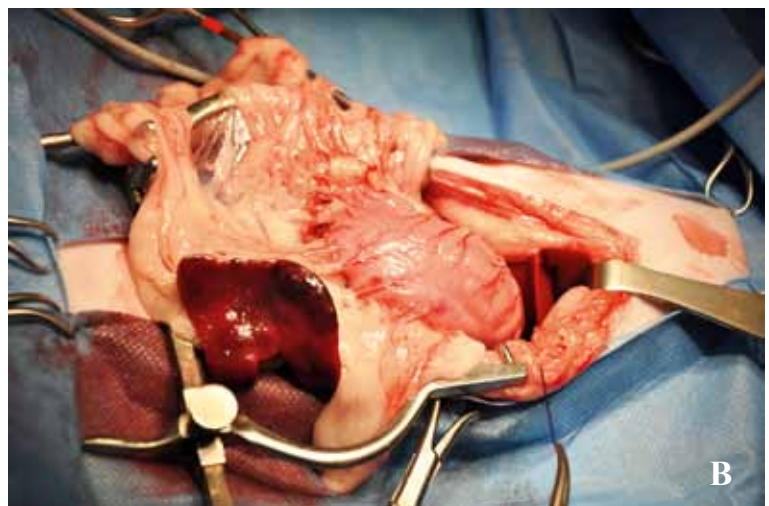
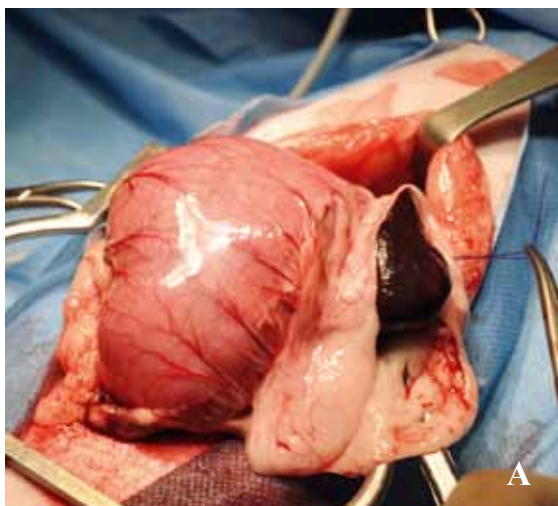
Op basis van het anesthesisch risico werd de hond geklasseerd als een ASA IV-patiënt, wat overeenkomt met patiënten met een levensbedreigende systemische aandoening die zonder acuut chirurgisch ingrijpen tot de dood leidt (Van Loon et al., 2003). Na preoxygenatie werd de hond intraveneus gepremediceerd met 0,2 mg/kg methadon (Comfortan, Eurovet Animal Health, Bladel, Nederland). De inductie gebeurde met 0,2 mg/kg midazolam (Dormicum, Roche Nederland BV, Woerden, Nederland) en het onderhoud met isofluraan (Isoflo, Aesica Queensborough Limited, Kent, Engeland). Na tracheale intubatie (6,5 mm ID endotracheale tube met cuff) werd de patiënt gekoppeld aan een gesloten cirkelanesthesietoestel (Dräger Cicero, Lubeck, Duitsland). De monitoring gebeurde met be-



Figuur 2. Inspectie van het craniale abdomen waarbij de lever rechts tegen het diafragma aanwezig is maar de maag links ontbreekt. Het diafragma heeft een gebombeerd aspect wat wijst op een ruimte-innemend proces in de thorax (pijl). Craniaal bevindt zich links.

hulp van een multiparameteranalyse (Datex-Ohmeda GE S/5, DRE Medical inc., Louisville, VSA) met electrocardiografie (Cardiicap, Datex), multigasanalyse (Cisero, Dräger), pulsoximetrie (Cisero, Dräger) en invasieve bloeddrukmeting. Tijdens de operatie kreeg de hond een continue intraveneuze toediening van 5 µg/kg fentanyl (Fentadon, Dechra Veterinary Products Limited, Shropshire, Engeland) en 10 ml/kg/ uur intraveneuze infuustherapie (Hartmann B. Braun, B. Braun Medical N.V./S.A., Diegem, België).

De chirurgische benadering gebeurde via standaard mediane celiotomie van xifoïd tot pubis. Bij het openen van het abdomen was er een gebombeerd diafragma zichtbaar, vermoedelijk door de aanwezigheid van de tympanische en geroteerde maag in de thorax (Figuur 2). Bij verdere inspectie werd bevestigd dat in het abdomen geen maag aanwezig was. Alle andere abdominale organen bevonden zich wel in het



Figuur 3. A. De nog steeds gedilateerde maag onmiddellijk na het reponeren in het abdomen. B. Het leegmaken door sondage en het opnieuw in zijn anatomisch correcte positie plaatsen.

abdomen. De milt was naar craniaal tot tegen het diafragma verplaatst. Dorsaal in de linkerdiafragmapijler werd een opening van een vijftal centimeter diameter gevonden. Het defect in het diafragma werd radiaal vergroot naar ventraal toe. Een grote, gedilateerde maag werd aangetroffen in de linkerthorax. De maag was bijkomend getordeerd. Ze werd aangeprikt met een 18G-injectienaald om de omvang te doen vermindern. Dit was slechts gedeeltelijk succesvol omwille van een grote hoeveelheid vloeibare maaginhoud. Desondanks kon de maag nadien op haar oorspronkelijke positie in het abdomen geplaatst en gedetordeerd worden (Figuur 3). Daarna werd een transoesofageale sonde geplaatst, waarlangs de maag verder werd leegemaakt. De uitwendige maagwand werd geïnspecteerd en vertoonde, op enkele puntbloedingen ter hoogte van de cardia na, geen afwijkingen. Het defect in het diafragma werd doorlopend appositioneel gesloten met 2-0 polydioxanone (PDSII, Ethicon, VSA). De negatieve druk in de thorax werd hersteld met behulp van een tijdelijke thoraxdrain. De buikwand werd gesloten met 2-0 polydioxanone, de subcutis en huid met 3-0 polyglecaprone 25 (Monocryl, Ethicon, VSA).

Het postoperatief herstel verliep vlot. De patiënt vertoonde geen dyspnee meer en op auscultatie waren geen afwijkingen waarneembaar. Antibiotica (15 mg/kg BID cefazoline, Rilexine, Virbac SA, Carros, Frankrijk), analgetica (2 mg/kg BID carprofen, Rimadyl, Pfizer Animal Health, IJssel, Nederland; 0,2 mg/kg methadon, Comfortan, Eurovet Animal Health, Bladel, Nederland), anti-emetica (0,5 mg/kg BID metoclopramide, Emeprid, CEVA Sante Animale BV, Naaldwijk, Nederland; 1 mg/kg SID omeprazole, Losec, AstraZenica BV, Zoetermeer, Nederland; 1 mg/kg SID maropitant, Cerenia, Pfizer Limited, Kent, Verenigd Koninkrijk) en intraveneuze vloeistoftherapie (40 ml/kg/dag Hartmann) werden toegediend. De hond werd gedurende drie dagen gehospitaliseerd, waarna hij geen pijn meer vertoonde bij buikpalpatie en de kliniek kon verlaten. De eigenaars gaven thuis nog Rilexine (15 mg/kg BID cefazoline, Virbac SA, Carros, Frankrijk) en Rimadyl (2 mg/kg BID carprofen, Pfizer Animal Health, IJssel, Nederland).

Twee maanden na de operatie werd een controle uitgevoerd bij de eigen dierenarts. De hond vertoonde klinisch geen afwijkingen. Ook het algemene bloedonderzoek en radiografisch onderzoek van thorax en abdomen waren volledig normaal (Figuur 4).

DISCUSSIE

Bij (sub)acute traumatische hernia diafragmatica is chirurgische correctie steeds aangeraden. Enkel op die manier kunnen verdere vergroeiingen van abdominale organen en progressieve compressie van het ademhalings- en cardiovasculaire stelsel voorkomen worden. Over het ideale tijdstip van de operatie is er geen eensgezindheid in de literatuur. Een studie van Gibson et al. (2005) toonde aan dat een chirurgische

interventie binnen de 24 uur na het trauma geassocieerd is met gunstigere overlevingskansen. Echter, volgens Litman (2001) en Hoddinott (2013) wordt net het beste niet geopereerd binnen 24 uur na het ontstaan van het trauma, omdat de patiënt op dat moment mogelijk nog onvoldoende stabiel is en er dus kans is op het ontstaan van systemisch orgaanfalen.

Er zijn vier situaties waarbij altijd onmiddellijk geopereerd dient te worden: de aanwezigheid van ernstige thoracale bloedingen, een darmruptuur, ernstige ademhalings symptomen en/of gastrothorax (Litman, 2001). Bij gastrothorax is een spoedoperatie nodig omdat de maag zeer snel kan dilateren tot tensiegastrothorax. Dit leidt enerzijds tot druk op de longen en het hart en anderzijds tot een risico op maagruptuur (Hoddinott, 2013).

Omdat de toestand van patiënten met gastrothorax snel kan verergeren, is het van groot belang dat de diagnose snel en efficiënt gebeurt. Bij anamnese van trauma en respiratoire symptomen is hernia diafragmatica een van de belangrijkste differentiaaldiagnosen. Indien echter de maag in de thorax hernieert, maakt dit de situatie kritieker (Ricco en Graham, 2007; Schwarz et al., 2008; Thrall et al., 2013). Wanneer de patiënt ook ernstige cardiovasculaire symptomen vertoont, moet tensiegastrothorax zeker opgenomen worden in de differentiaaldiagnose.

De meeste diafragmatische hernia's (85%) zijn traumatisch van oorsprong (Thrall et al., 2013). Ze ontstaan door een uitgesproken drukgradiënt tussen thorax en abdomen, zoals dit optreedt bij abdominale compressie met een open glottis (Schwarz et al., 2008). Hierbij kan een ruptuur in het diafragma veroorzaakt worden of kunnen de organen door een al bestaand congenitaal defect herniëren. Waar de ruptuur in het diafragma exact ontstaat, is afhankelijk van de positie van de patiënt op het moment van impact. De regio die op dat moment het minst beschermd wordt door de abdominale organen, zal het meest waarschijnlijk scheuren (Worth en Machon, 2005). De meeste hernia's komen rechts voor. De lever geeft namelijk drukstijgingen door aan het diafragma, terwijl het gas in de maag een deel van de druk kan absorberen. In 88% van de gevallen van diafragmatische hernia is de lever aanwezig in de thorax (Wilson en Hayes, 1986; Boudrieau en Muir, 1987). Bij linkerhernia's hernieert vooral de maag, zoals bij deze patiënt het geval was (Hyun, 2004; Schwarz et al., 2008). Het brachycephaal obstructief syndroom (BOS), dat aanwezig is bij cavalierkingcharles-spaniëls (Torrez en Hunt, 2006), zorgt bij deze patiënt voor het extra aanzuigen van organen in de thorax. Dit is een gevolg van de hogere negatieve druk die aanwezig is in de thorax bij inspiratie door de bemoeilijkte ademhaling.

Gastrothorax komt sneller voor wanneer er een defect aanwezig is in het linkerdeel van het diafragma, zoals ook in de humane geneeskunde bekend is (Ayala et al., 2008). Een aantal ligamenten bevestigt de maag immers aan de linker crus van het diafragma. De belangrijkste hiervan zijn het ligamentum gastrolienale, phrenicolienale en gastrophrenicum (Evans

en de Lahunta, 2012). Bij een defect in het linkerdeel van het diafragma kunnen deze ligamenten de maag onmogelijk vasthouden op haar originele positie, waardoor verplaatsing, dilatatie en torsie makkelijker kunnen voorkomen (Ayala et al., 2008). De maag ligt links ook meteen achter het diafragma, terwijl rechts de lever een afscherming vormt over het defect in het diafragma.

De gehernieerde maag bevindt zich in de thorax onder een abnormale hoek ten opzichte van de slokdarm en het duodenum, waardoor een accumulatie van gas, vocht en/of voedsel ontstaat (Horst et al., 2005). Ook een bemoeilijkte ademhaling en daaropvolgend aerofagie kunnen zorgen voor accumulatie van grote hoeveelheden lucht in de maag. Al deze factoren zorgen voor tympanie van de maag en voor de evolutie van gewone gastrothorax naar tensiegastrothorax.

Het is belangrijk te weten dat hernia diafragmatica enkel vage symptomen kan geven, zoals een pijnlijke reactie bij het optillen en lichte dyspnee die voornamelijk 's nachts voorkomt (Spencer en Ackerman, 1980). Verder vertoonde de hond in deze casus pijn bij het neerliggen. Andere symptomen die bij hernia diafragmatica kunnen voorkomen zijn spijsverteringsproblemen, zoals anorexie, braken en regurgitatie, ten gevolge van strangulatie van abdominale organen in de thorax (Schwarz, 2008). Ook bij gastrothorax kunnen voornamelijk deze vage symptomen voorkomen. Bij tensiegastrothorax zijn echter meer uitgesproken symptomen waarneembaar, zoals bij de patiënt in deze casuïstiek. Dyspnee komt het vaakst voor, maar ook tachypnee en een abdominale ademhaling zijn mogelijk (Suter en Lord, 1984; Litman, 2001). De druk op het cardiovasculaire stelsel zorgt voor shock-symptomen. Net zoals abdominale maagdilatatie en -volvulus (MDV) kan tensiegastrothorax ernstige cardiovasculaire symptomen veroorzaken. Bij beide worden de symptomen onder andere veroorzaakt door de ontwikkeling van "systemic inflammatory response syndrome" (SIRS) en "multiple organ dysfunction syndrome" (MODS). Dit is het gevolg van een combinatie van factoren: de druk op abdominale vaten die het slagvolume van het hart en zo de "cardiac output" verlaagt, hypoperfusie van de maag en ischemie van de pancreas (Rozanski en Sharp, 2014). Bij abdominale MDV geeft de tympanische maag rechtstreekse druk op de caudale vena cava en indirecte druk op de longen, waardoor deze aandoening snel levensbedreigend wordt (Walker en Hall, 1965; Garson et al., 1980). Intrathoracale MDV is nog gevaarlijker voor de patiënt dan gewone MDV. De rechtstreekse druk van de tympanische maag op het hart, de caudale vena cava en de longen verstoren de cardiovasculaire efficiëntie immers nog meer dan bij MDV. Daarom is het uitermate belangrijk om tensiegastrothorax zo snel mogelijk te diagnosticeren en te behandelen.

Bij klinisch onderzoek van diafragmatische hernia's zijn voornamelijk auscultatie en percussie van belang. Bij auscultatie wordt een demping van de hart- en longgeluiden waargenomen. Deze demping wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van abdo-



Figuur 4. Postoperatieve radiografie van de patiënt. Craniaal bevindt zich links. Het diafragma is opnieuw normaal scherp afgeïjnd. De maag is aanwezig aan de abdominale zijde en het longveld heeft een normaal aspect.

minale organen in de thorax of door pleurale effusie. Hierdoor kan het punctum maximum, waarop het hart het beste te ausculteren is, ook van positie veranderen. Bij tensiegastrothorax zal typisch een zeer tympanische toon hoorbaar zijn ter hoogte van de linkerhemithorax. Percussie kan een veranderde toon geven in de thorax, afhankelijk van welk orgaan exact in de thorax is terechtgekomen (Kahn, 2010). Bij tensiegastrothorax wordt duidelijk een hogere toon dan normaal gehoord.

Kort na het ontstaan van het trauma wordt vaak een subklinische fase waargenomen (Spencer en Ackerman, 1980; Deschamps et al., 2012), waardoor de diagnose gemist wordt bij 20% van de honden. Deze subklinische fase kan verklaard worden doordat de abdominale organen mogelijk niet meteen doorheen het defect in het diafragma in de thorax terechtkomen. Dit is meestal omdat organen zoals de lever het diafragmatisch defect obstrueren en vermijden dat kleinere organen in de thorax herniëren (Snyder et al., 1990).

Zowel de anamnese, de symptomen als de auscultatie zorgden bij deze specifieke patiënt voor een sterk vermoeden van traumatische hernia diafragmatica. Radiografieën zijn steeds noodzakelijk voor de bevestiging van dit vermoeden en leiden meestal tot een definitieve diagnose (Paster et al., 2001). Belangrijk is dat steeds minstens twee orthogonale radiografieën worden genomen (Hyun, 2004). De verschillende radiografische tekenen zijn immers soms slechts duidelijk op één van beide opnamen. Meestal wordt bij patiënten gekozen voor een laterale en een ventrodorsale radiografie. Bij dieren met ernstige ademhalingsproblemen, zoals in deze casus, wordt echter een dorsoventrale radiografie verkozen boven een ventrodorsale (Thrall, 2013). Bij patiënten met een vermoeden van hernia diafragmatica is het aangewezen om een radiografie van zowel de thorax als het craniale deel van het abdomen te nemen (Schwarz, 2008). De af-

wezigheid van abdominale organen in de buikholte is immers een belangrijk radiografisch hulpmiddel voor de diagnose in geval van twijfel (Spencer en Ackerman, 1980; Spattini et al., 2003). Bij de patiënt uit de casus was er duidelijk tensiegastrothorax aanwezig en was er dus geen twijfel over de aanwezigheid van een hernia. Het nemen van abdominale radiografieën blijft zelfs dan nuttig om voor de operatie beter te kunnen inschatten welke abdominale organen er in de thorax gelegen zijn. Radiografieën zijn ook zeer belangrijk voor het onderscheid tussen een tensiegastrothorax en een tensiepneumothorax, gezien beide dezelfde klinische symptomen uitlokken (Zarelli et al., 2010).

De anesthesie van patiënten met hernia diafragmatica gebeurt het beste na preoxygenatie (Wilson, 1992; Fossum et al., 2013). Meestal wordt gekozen voor anesthetica met zo weinig mogelijk effecten op het ademhalingsstelsel. Premedicatie gebeurt enkel bij patiënten zonder ernstige respiratoire problemen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van benzodiazepinen, eventueel in combinatie met opiaten (Ricco en Graham, 2007). Bij de patiënt uit deze casus werd midazolam gebruikt in combinatie met methadon. Verder onderhoud van de anesthesie gebeurde met isofluraan, wat meestal het geval is bij dit type patiënten (Fossum, 2013).

Preoperatief kan bij tensiegastrothorax geprobeerd worden om het volume van de maag te verminderen om de efficiëntie van zowel het respiratoire als het cardiovasculaire stelsel van de hond te verbeteren. Dit kan gebeuren door het plaatsen van een gastrooesofagale sonde via de muil. Deze manier is het minst invasief en bovendien kan zo blijvend gas en vocht afgevoerd worden tijdens de operatie. Bij deze patiënt lukte de sondage echter niet door de aanwezigheid van een torsie van de gehernieerde maag. Het uitvoeren van een percutane, intercostale gastrocentese is een andere mogelijkheid. De nadelen zijn echter dat het volume slechts eenmalig wordt verminderd, waardoor gas en vocht zich snel weer kunnen opstapelen, en dat er kans bestaat op intrathoracale contaminatie (Holt et al., 2012). Om deze redenen werd geen preoperatieve gastrocentese uitgevoerd bij deze patiënt.

De operatieve benadering van hernia diafragmatica kan gebeuren via intercostale thoracotomie, sternotomie, laparotomie of mediane celiotomie (Perdikis et al., 1997; Stokhof, 2005; Adamiak et al., 2008; Schmiedt, 2009; Mison, 2011). Deze laatste is nog steeds de meest gebruikte methode in de praktijk (Fossum et al., 2013) en werd ook bij de patiënt uit deze casus verkozen. Bij de chirurgische correctie van hernia diafragmatica gebeuren verschillende dingen: ten eerste moeten de abdominale organen op hun oorspronkelijke positie worden teruggeplaatst, daarna worden ze gecontroleerd op eventuele schade, het defect in het diafragma wordt gesloten en tot slot wordt de negatieve druk in de thorax hersteld. Complicaties die postoperatief kunnen voorkomen zijn pneumothorax en longoedeem ten gevolge van de re-expansie van de longen. Pneumothorax wordt vermeden met

behulp van een postoperatieve thoraxdrain (Worth en Machon, 2005). Om postoperatief longoedeem te vermijden wordt tijdens de ingreep gewerkt met een intermitterende positieve druk ventilatie (IPPV) lager dan 10 cm H₂O (Holt et al., 2012). Deze zorgt voor een meer graduele expansie van de longen (Fossum et al., 2013).

Wanneer de ingreep wordt uitgevoerd bij een cardiorespiratoir stabiele patiënt is de prognose uitstekend bij 94% van de patiënten (Peterson et al., 2015). De eerste 24 uur postoperatief zijn het meest kritiek. Postoperatief moet vooral de ademhaling zorgvuldig worden gemonitord. Eventueel kunnen extra analgetica, om hypoventilatie door pijn te vermijden, en zuurstof toegediend worden. Ook bloeddrukmeting, ECG-opvolging en bloedgasanalyse kunnen aangewezen zijn in geval van cardiorespiratoire complicaties de eerste dagen postoperatief. De chirurgische correctie bij de patiënt uit deze casuïstiek gebeurde net op tijd en er traden geen cardiovasculaire of respiratoire problemen op postoperatief. Ook waren er geen bijkomende traumatische afwijkingen aanwezig (Fossum et al., 2013). De hond had slechts drie dagen postoperatieve ondersteuning nodig, wat overeenkomt met de gemiddelde hersteltijd beschreven door Gibson et al. (2005).

BESLUIT

Wanneer met een voorgeschiedenis van abdominaal trauma acute ademhalings- of spijsverterings-symptomen ontstaan, is het steeds belangrijk om aan hernia diafragmatica te denken. Wanneer het diafragmatisch defect links gelegen is, is gastrothorax het meest waarschijnlijk. Omdat deze aandoening snel kan evolueren naar een levensbedreigende tensiegastrothorax, dient de diagnose zo snel en efficiënt mogelijk te gebeuren. Radiografieën van thorax en abdomen zijn hierbij de belangrijkste stap, terwijl anamnese, symptomen, auscultatie en percussie een klinisch vermoeden kunnen genereren.

Tensiegastrothorax heeft een specifieke aanpak nodig, waarbij snel moet gehandeld worden. De situatie kan immers snel levensbedreigend worden voor de patiënt door cardiorespiratoire insufficiëntie. Bij onmiddellijke chirurgische interventie zijn de postoperatieve resultaten zeer goed.

LITERATUUR

- Adamiak Z., Holak P., Szalecki P. (2008). Thoracoscopic treatment of the diaphragmatic hernia in dog – case report. *Medycyna Weterynaryjna* 64(2), 210-212
- Ayala J.A., Naik-Mathuria B., Olutoye O.O. (2008). Delayed presentation of congenital diaphragmatic hernia manifesting as combined-type acute gastric volvulus: a case report and review of the literature. *Journal of Pediatric Surgery* 43, 35-39
- Boudrieau S.J., Muir W.W. (1987). Pathophysiology of traumatic diaphragmatic hernia in dogs. *Compendium on*

- Continuing Education for the Practising Veterinarian* 9, 379
- Deschamps J.Y., Kolb H., Descol C., Roux F.A. (2012). Chronic diaphragmatic hernia with herniation of the gravid uterus in a female dog – A case report and review. *Revue de Médecine Vétérinaire* 163(6), 299-301
- Evans H.E., de Lahunta A. (2012). The digestive apparatus and abdomen. In: Evans H.E., de Lahunta A. (editors). *Miller's Anatomy of the Dog*. Fourth edition, Saunders, Missouri, p. 281-337
- 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). Chapter 31: Surgery of the lower respiratory system. In: Fossum T.W. (editor). *Small Animal Surgery*. Fourth edition, Elsevier, Missouri, p. 991-1032
- Garson H.L., Dodman N.H., Baker G.J. (1980). Diaphragmatic hernia: analysis of fifty-six cases in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* 21(9), 469-481
- Gibson T.W., Brisson B.A., Sears W. (2005). Perioperative survival rates after surgery for diaphragmatic hernia in dogs and cats: 92 cases (1990-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 227(1), 105-109
- Hoddinott K. (2013). Traumatic diaphragmatic hernia in a 5-month-old Boxer dog. *The Canadian Veterinary Journal* 54(5), 507-509
- Holt D. en Wilson J. (2012). Preoperative stabilization. In: Baines S.J., Lipscomb V., Hutchinson T. (editors). *BSAVA Manual Of Canine And Feline Surgical Principles: A Foundation Manual*. First edition, BSAVA, Gloucester, p. 88-103
- Horst M., Sacher P., Molz G., Willi U.V., Meuli M. (2005). Case report: tension gastrothorax. *Journal of Pediatric Surgery* 40(9), 1500-1504
- Hyun C. (2004). Radiographic diagnosis of diaphragmatic hernia: review of 60 cases in dogs and cats. *Journal of Veterinary Science* 5(2), 157-162
- Kahn C.M. (2010). Respiratory system: diaphragmatic hernia. In: Kahn C.M. (editor). *The Merck Veterinary Manual*. Tenth edition, Merck & co, Pennsylvania, p. 1295-1378
- Litman L.M. (2001). Traumatic diaphragmatic hernia in a clinically normal dog. *The Canadian Veterinary Journal* 42(7), 564-566
- McGeady T.A., Quin P.J., FitzPatrick E.S., Ryan M.T., Cahalan S. (2006). Coelomic cavities. In: McGeady (editor). *Veterinary Embryology*. First edition, Blackwell Publishing, Oxford, p. 59-64
- Mison M.B. (2011). Diseases and disorders: Diaphragmatic hernia. In: Sellon R.K., Coté E. (editors). *Clinical Veterinary Advisor*. Second edition, Elsevier Mosby, Canada, p. 1-1190
- Monnet E. (2003). Gastric dilatation-volvulus syndrome in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33(5), 987-1005
- Paster E.R., Pacchiana P.D., Gillings S.L. (2001). What is your diagnosis? Gastric dilatation and herniation of the stomach into the caudal region of the thorax. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 219(8), 1061-1062
- Perdikis G., Hinder R.A., Filipi C.J., Walenz T., McBride P.J., Smith S.L., Katada N. en Klingler P.J. (1997). Laparoscopic paraesophageal hernia repair. *Archives of Surgery* 132(6), 586-590
- Peterson N.W., Buote N.J., Barr J.W. (2015). The impact of surgical timing and intervention on outcome in traumatized dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 25(1), 63-77
- Pratschke K.M. (2012). Chapter 8: Preoperative assessment. In: Baines S.J., Lipscomb V., Hutchinson T. (editors). *BSAVA Manual Of Canine And Feline Surgical Principles: A Foundation Manual*. First edition, BSAVA, Gloucester, p. 75-87
- Ricco C.H., Graham L. (2007). Undiagnosed diaphragmatic hernia – the importance of preanesthetic evaluation. *The Canadian Veterinary Journal* 48(6), 615-618
- Rozanski E., Sharp C. (2014). Cardiovascular and systemic effects of gastric dilatation and volvulus in dogs. *Topics in Companion Animal Medicine* 29(3), 67-70
- Schmiedt C. (2009). Small animal exploratory thoracoscopy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 39(5), 953-964
- Schwarz T. en Johnson V. (2008). The thoracic boundaries. In: Schwarz T., Johnson V. (editors). *BSAVA Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging*. Second edition, BSAVA, Gloucester, p. 340-374
- Snyder H.S., Salo D.F., Kelly P.H. (1990). Congenital diaphragmatic hernia presenting as massive gastrothorax. *Annals of Emergency Medicine* 19(5), 562-564
- Spattini G., Rossi F., Vignoli M., Lamb C.R. (2003). Use of Ultrasound to diagnose diaphragmatic rupture in dogs and cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 44(2), 226-230
- Spencer C.P., Ackerman N. (1980). Thoracic and abdominal radiography of the trauma patient. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 10(3), 541-559
- Stokhof A.A. (2011). Diagnosis and treatment of acquired diaphragmatic hernia by thoracotomy in 49 dogs and 72 cats. *Veterinary Quarterly* 8(3), 177-183
- Suter P.F., Lord P.F. (1984). Abnormalities of the diaphragm. In: Suter P.F. (editor). *Thoracic Radiography: Thoracic Diseases of the Dog and Cat*. First edition, Libraries Australia, Wetswill, p. 179-204
- Thrall D.E., Randall E.K., Park R.D. (2013). The diaphragm. In: Thrall D.E. (editor). *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*. Sixth edition, Elsevier Saunders (Duncan L.), United States, p. 538-545
- Torrez C.V., Hunt G.B. (2006). Results of surgical correction of abnormalitites associated with brachycephalic airway obstruction syndrome in dogs in Australia. *The Journal of Small Animal Practice* 47, 150-154
- Van Loon T., van Oostrom H., de Grauw J., l'Ami J., Akkerdaas I. (2003). Introductie anesthesie. *Diergeneeskundig Memorandum* 2, 9-14
- Walker R.G., Hall L.W. (1965). Rupture of the diaphragm: report of 32 cases in dogs and cats. *The Veterinary Record* 77, 830-837
- Wilson D.V. (1992). Anesthesia for patients with diaphragmatic hernia and severe dyspnea. *The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 22(2), 456-459
- Wilson G.P., Hayes H.M. (1986). Diaphragmatic hernia in the dog and cat: a 25-year overview. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)* 1(4), 318-326
- Worth A.J., Machon R.G. (2005). Traumatic diaphragmatic herniation: Pathophysiology and management. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 27, 178-190
- Zarelli M., Carrillo J.D., Soler M., Belda E., Agut A. (2010). What is your diagnosis? Tension gastrothorax. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 236(7), 733-734

Zelfs de meest toegewijde melkveehouders hebben extra hulp nodig om hun koppel te beschermen.



Imrestor™ (injectie van pegbivogastrim), het eerste immuunherstellend diergeneesmiddel voor melkkoeien en vaarzen. Tijdens de kritische periode rond afkalven, wanneer nagenoeg alle koeien een immuunsuppressie ondergaan, helpt Imrestor™ het aantal en de werking van bacterie-dodende neutrofielen herstellen, waarbij het risico op klinische mastitis significant wordt verminderd. Precies de helpende hand waaraan een melkveebedrijf behoefte heeft.

Imrestor™, het eerste immuunherstellend geneesmiddel voor melkkoeien

Elanco

Imrestor™

Benaming: Imrestor 15 mg oplossing voor injectie voor runderen **Werkzaam bestanddeel:** Elke gevulde spuit van 2,7 ml bevat: Pegbivogastrim (gepegyleerde rundergranulocyt-koloniestimulerende factor [PEG bG-CSF]) 15 mg **Doelersoorten:** Runderen (melkkoeien en vaarzen). **Indicaties:** Als hulpmiddel in een kuddemanagementprogramma, om het risico op klinische mastitis te verminderen bij hoogdrachtige melkkoeien en vaarzen gedurende 30 dagen na het afkalven. **Contra-indicaties:** Niet gebruiken bij overgevoeligheid voor het werkzame bestanddeel of een van de hulpstoffen. **Bijwerkingen:** In de klinische studies werden soms niet-typische anafylactische reacties waargenomen. De koeien vertoonden zwelling van de slijmvliezen (met name vulva en ooglid), huidreacties, versnelde ademhaling en speekselvoed. In zeldzame gevallen kan het dier in elkaar zakken. Deze klinische verschijnselen treden meestal op tussen 30 minuten en 2 uur na de eerste dosis en verdwijnen binnen de 2 uur. Symptomatische behandeling kan nodig zijn. Subcutane toediening van het product kan lokale zwelling van voorbijgaande aard veroorzaken op de injectieplaats, alsmede ontstekingsreacties die binnen 14 dagen na de behandeling verdwijnen. Alle bijwerkingen dienen te zijn gerangschikt op "frequentie" aan de hand van de volgende indeling: - zeer vaak (meer dan 1 op de 10 dieren vertonen bijwerking(en) gedurende de duur van één behandeling) - vaak (1 tot 10 van de 100 dieren) - soms (1 tot 10 van de 1.000 dieren) - zelden (1 tot 10 van de 10.000 dieren) - zeer zelden (minder dan 1 van de 10.000 dieren, inclusief geïsoleerde rapporten) **Wachtermijn:** (Orgaan)vlies: nul dagen. **Melk:** nul dagen. **Dosering en toedieningsweg:** Subcutane toediening De behandeling bestaat uit twee spuiten. De inhoud van een enkele gevulde spuit moet 7 dagen vóór de verwachte datum van het afkalven subcutaan worden ingespoten bij een melkoe of vaars. De inhoud van een tweede gevulde spuit dient binnen 24 uur na het afkalven subcutaan te worden ingespoten. De intervallen tussen de twee toedieningen dienen niet minder dan 3 dagen en niet meer dan 17 dagen te bedragen. Een enkele spuit bevat voor de meeste koeien een dosis van 20-40 µg/kg pegbivogastrim afhankelijk van het lichaamsgewicht; bv. een dosis van 21 µg/kg lichaamsgewicht voor een koe van 700 kg of 33 µg/kg lichaamsgewicht voor een vaars van 450 kg. Overmatig schudden van de spuit kan opeenhoping van pegbivogastrim veroorzaken, waardoor de biologische activiteit vermindert. De oplossing moet vóór gebruik visueel geïnspecteerd worden. Alleen heldere oplossingen zonder deeltjes mogen worden gebruikt. **Reg.:** EU/2/15/193/001-003 Diergeneesmiddel, enkel op voorschrift verkrijgbaar. **Verantwoordelijke Onderneming:** Eli Lilly and Company Limited Elanco Animal Health Priestley Road Basingstoke Hampshire RG24 9NL Verenigd Koninkrijk Verdere informatie is beschikbaar op aanvraag.

Elanco, Imrestor™ en de diagonale balk zijn handelsmerken die eigendom zijn van of in licentie gegeven zijn aan Eli Lilly and Company, haar dochterondernemingen of filialen. © 2016 Elanco Animal Health. BEDRYRS00034

Congenital cutaneous fibropapillomatosis in a warmblood foal

Congenitale cutane fibropapillomatose bij een warmbloedveulen

¹E. Van de Water, ²R. de Moree, ³H. de Cock, ⁴T. Picavet, ¹A. Martens, ¹M. Oosterlinck

¹Department of Surgery and Anesthesiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

²Breeërsteenweg 240, 3640 Kinrooi, Belgium

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

⁴DBP Veterinary Services, Spelonckvaart 44, 9180 Moerbeke-Waas, Belgium

Eline.VandeWater@UGent.be

ABSTRACT

In this report, clinical and histological findings of a rare case of a large congenital fibropapilloma on the forehead of a warmblood foal are reported. Surgical excision was curative and no recurrence was observed after nine months. The foal did not present any other abnormalities. Morphologically, the lesion was classified as a fibro-epithelial type of skin hamartoma. The fibrous component has thus far only been reported in pigs. Although fibropapillomas are common in adult animals and are associated with papillomavirus infection, this association has not been demonstrated in foals and piglets. Additionally, there were no histopathological indications of papillomavirus infection in the present study, nor could PCR reveal the presence of papillomavirus DNA.

SAMENVATTING

In deze casuïstiek wordt een zeldzaam geval van een congenitaal fibropapilloma op het voorhoofd van een warmbloedveulen beschreven. Chirurgische excisie van de massa was succesvol en na negen maanden nog steeds zonder recidief. Er werden geen andere abnormaliteiten bij het veulen vastgesteld. Morfologisch gezien betreft het letsel een fibro-epitheliaal type hamartoma van de huid. De fibreuze component werd tot dusver enkel bij varkens beschreven. Alhoewel bij volwassen dieren fibropapilloma's vaak voorkomen en geassocieerd zijn met papillomavirusinfecties, werd zowel bij veulens als biggen voor de congenitale fibropapilloma's nog geen virale oorzaak aangetoond. Ook in deze casus waren geen histopathologische indicaties voor infectie met papillomavirus en kon evenmin de aanwezigheid van papillomavirus-DNA aangetoond worden met PCR.

INTRODUCTION

Congenital cutaneous (fibro)papillomas have occasionally been described in cattle (Desrochers et al., 1994) and pigs (Vitovec et al., 1999; Misdorp, 2003a; Nishiyama et al., 2011), and have only rarely been reported in horses (Garma-Aviña et al., 1981; White et al., 2004; Ruppín et al., 2013). Most of these cases are single verrucous or cauliflower-like lesions that occur on the head (Garma-Aviña et al., 1981; Misdorp, 2003b; White et al., 2004). However, recently, extensive congenital lesions with a linear distribution have been described (Ruppín et al., 2013). In this report, the clinical and histological findings and the treatment of a large congenital fibropapilloma on the forehead of a warmblood foal is described.

CASE REPORT

After normal gestation, a pluriparous, seventeen-year-old, grey warmblood mare gave birth to a male foal with a pedunculated, black, oval, exophytic mass of approximately 10 x 9 x 3 cm on his forehead (Figure 1). The mass had a rubbery consistency and was not painful on palpation. Parturition went uneventfully. The mare had been routinely vaccinated against tetanus and influenza but not against EHV-1 and -4. The owner's herd did not have a history of papillomavirus infection and did not have any contact with cattle.

No other abnormalities were noticed in the foal. At around seven hours of age, the mass was excised en bloc after local infiltration of anesthetic solution (Pro-

caine hydrochloride 4%; VMD, Arendonk, Belgium) at the basis of the peduncle (Figure 2). A central artery was ligated and the small wound (2 cm diameter) was closed with a simple continuous subcutaneous suture of polyglactin 910 (Vicryl USP 2/0; Ethicon, Johnson & Johnson, Norderstedt, Germany) and skin staples (Manipler AZ-35W, B Braun, Melsungen, Germany). Wound healing was uneventful (Figure 3) and there was no recurrence nine months later. Histology revealed a cauliflower-like, exophytic proliferation of the skin, lined by a highly irregular hyperplastic, pigmented parakeratotic epithelium. The epithelium rested on a broad branched peduncle of highly vascularized collagen stroma. The lesion was diagnosed as fibro-epithelial hamartoma, compatible with equine congenital cutaneous fibropapillomatosis (Figure 4). There was no histological evidence (inclusion bodies, koilocytes, clumping of keratohyalin granules) of papillomavirus infection. Identification of viral particles was attempted by screening of the tissue with an available consensus-PCR for human papillomaviral DNA (MY9/11), RT-PCR for BPV-1 & 2 DNA (Bogaert et al., 2007), and conventional PCR for EcPV-1 (Postey et al., 2007), EcPV-2 (Scase et al., 2010) and EcPV-3 DNA (van den Top et al., 2015), but all results were negative.

DISCUSSION

In this case report, the clinical and histological findings and treatment of a rare case of a large congenital fibropapilloma on the forehead of a warm-blood foal is detailed. Notwithstanding the fact that the macroscopic aspect of these lesions was rather pathognomonic, the low prevalence may make the diagnosis challenging for equine practitioners. Nevertheless, surgical excision is curative and can easily be performed in the field.

It has been stated that congenital papillomas show the same clinical and histological features as epidermal hamartomas (nevi) in humans (Scott and Miller, 2003; White et al., 2004; Scott and Miller, 2011; Rup-



Figure 1. Macroscopic lateral view of the black, flat, oval, pedunculated exophytic mass with a rubber aspect of approximately 10 x 9 x 3 cm on the foal's forehead.

pin et al., 2013). The latter are benign tumor-like lesions consisting of hyperplasia of normal mature tissue components, due to an embryonic developmental error (Stosiek et al., 1994; Campen et al., 2003). Based on these histological similarities between equine congenital papillomas and human nevi, some controversy in terminology has been introduced in the veterinary literature. However, the combination of epithelium and fibrous tissue as seen in the present case, has not been described in human nevi. Therefore, the authors prefer the term congenital fibropapilloma in this case, which previously has only been described in piglets (Vitovec et al., 1999; Nishiyama et al., 2011).

Besides the embryonic developmental error as seen in human nevi, the macroscopic appearance is highly similar to that seen in viral papillomas, and it could be speculated that the congenital appearance of these lesions in horses is explained by intrauterine infection with papillomavirus. In piglets born with similar congenital fibropapillomatosis lesions, an association has been made with the presence of cutaneous viral papillomas on prepuce and scrotum of boars. However, in the case of the piglets, no viral particles were identified ultrastructurally (Vitovec et al., 1999).

A viral component in this disease would open perspectives for medical treatment and/or vaccination in



Figure 2. A. Macroscopic dorsal and B. ventral view of the mass after surgical excision through the vascularized peduncle.

case excision would be difficult or even impossible, for example in the ocular region. In contrast with equine cutaneous papillomas acquired later in life, and in contrast with congenital anogenital papillomas associated with papillomavirus infection in humans (Dias et al., 1995), this case study is in agreement with other reports that histopathological evidence of viral infection in equine congenital papillomas is lacking. Therefore, clinical or experimental proof for this viral pathogenesis remains elusive. Immunohistochemical examination of equine papillomas can be performed as described in a case series by White et al. (2004), but this test does not use specific equine antibodies. Furthermore, PCR can be used to detect viral DNA (Postey et al., 2007), and recent studies have shown the presence of EcPV-1 in equine cutaneous papillomas, EcPV-2 in genital papillomas and EcPV-3 in aural plaques (Ghim et al., 2004; Scase et al., 2010; Lange et al., 2011). However, depending on the developmental stage of the papilloma, Postey et al. (2007) suggested that papillomavirus DNA may be present at levels less than detectable by PCR, and the same limitation may apply to the immunohistochemical detection of viral antigen (Junge et al., 1984). Based on these studies, specificity of immunohistochemical and PCR analysis may be suboptimal and negative results may not rule out viral infection. Moreover, even the lack of histological abnormalities does not rule out a viral etiology, as bovine papillomavirus DNA has been detected in histologically normal equine skin (Bogaert et al. 2008).

It is unclear whether spontaneous regression would be possible in large lesions as described in the present study. Retrospective analysis of a larger sample of histologically confirmed cases and follow-up of cases without surgical treatment are needed to elucidate this issue. Based on the low prevalence, multicenter studies will therefore be required. Moreover, additional molecular studies are required to investigate whether or not papillomavirus is involved in this pathology.



Figure 3. Macroscopic view of the foal two months after excision of the mass.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Prof. dr. Davy Vanden Broeck, Brenda Gabriels (AML, Antwerp, Belgium) and Cindy De Baere (Faculty of Veterinary Medicine of Ghent University, Merelbeke, Belgium) for performing PCR analyses.

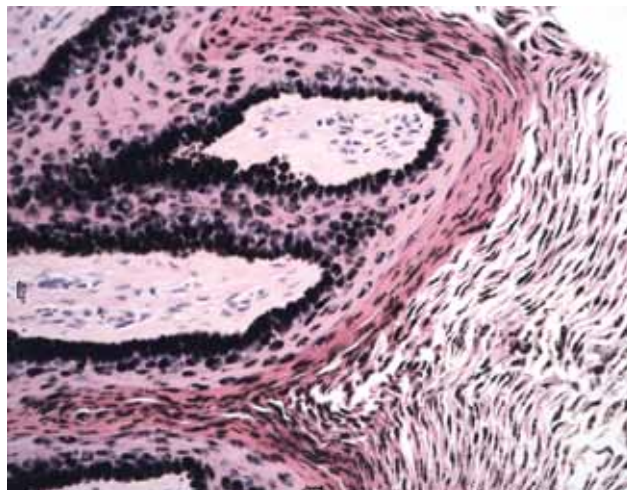
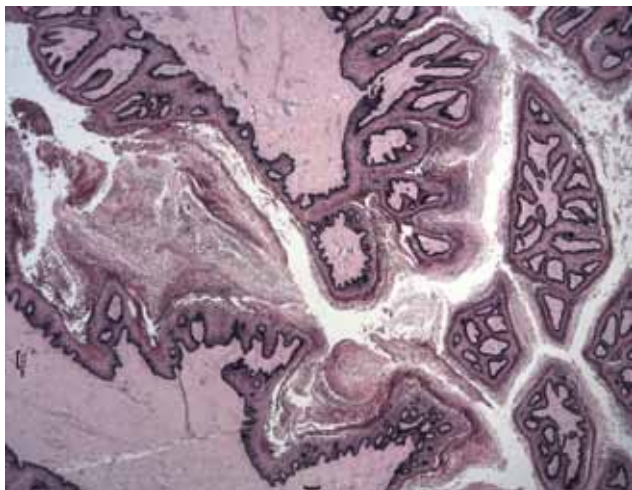


Figure 4. A. Histopathologic image illustrating the arborized stalk lined by irregular hyperplastic, pigmented parakeratotic epithelium (HE, x20). B. Detail of the epithelial lining (HE, x200).

REFERENCES

- Bogaert L., Van Poucke M., De Baere C., Dewulf J., Peelman L., Ducatelle R., Gasthuys F., Martens A. (2007). Bovine papillomavirus load and mRNA expression, cell proliferation and p53 expression in four clinical types of equine sarcoid. *Journal of General Virology* 88, 2155-2161.
- Bogaert L., Martens A., Van Poucke M., Ducatelle R., De Cock H., Dewulf J., De Baere C., Peelman L., Gasthuys F. (2008). High prevalence of bovine papillomaviral DNA in the normal skin of equine sarcoid-affected and healthy horses. *Veterinary Microbiology* 129, 58-68.
- Campen R., Zembowicz A., Liu V., Wrona D. (2003). Linear ectodermal cutaneous hamartoma. *International Journal of Dermatology* 42, 376-379.
- Desrochers A., St-Jean G., Kennedy G.A. (1994). Congenital cutaneous papillomatosis in a one-year-old Holstein. *Canadian Veterinary Journal* 35, 646-647.
- Dias A.P., Barcelos J.M.P., Fonseca M.E.F., da Silva Basso N.G. (1995). Congenital papillomas and papillomatosis associated with the Human Papilloma Virus (HPV) – report on 5 cases. *Sao Paulo Medical Journal* 113, 957-963.
- Garma-Aviña A., Valli V.E., Lumsden J.H. (1981). Equine congenital cutaneous papillomatosis: a report of 5 cases. *Equine Veterinary Journal* 13, 59-61.
- Ghim S-J., Rector A., Delius H., Sundberg J.P., Bennett Jensen A., Van Ranst M. (2004). Equine papillomavirus type 1: complete nucleotide sequence and characterization of recombinant virus-like particles composed of the EcPV-1 L1 major capsid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 324, 1108-1115.
- Junge RE, Sundberg JP, Lancaster WD. (1984). Papillomas and squamous cell carcinomas of horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 185, 656-659.
- Lange CE, Tobler K, Ackermann M, Favrot C. (2011). Identification of two novel equine papillomavirus sequences suggests three genera in one cluster. *Veterinary Microbiology* 149, 85-90.
- Misdorp W. (2003a). Congenital and hereditary tumours in domestic animals 2. Pigs. A Review. *Veterinary Quarterly* 25, 17-30.
- Misdorp W. (2003b). Congenital tumours and tumour-like lesions in domestic animals, 3. Horses. A Review. *Veterinary Quarterly* 25, 61-71.
- Nishiyama S., Akiba Y., Kobayashi Y., Shiga A., Kamiie J., Shiota K. (2011). Congenital cutaneous fibropapillomatosis with no evidence of papillomavirus infection in a piglet. *Journal of Veterinary Medical Science* 73, 283-285.
- Postey R.C., Appleyard G.D., Kidney B.A. (2007). Evaluation of equine papillomas, aural plaques and sarcoids for the presence of equine papillomavirus DNA and papillomavirus antigen. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 71, 28-33.
- Ruppin M.P., Dennis M.M., Smith C.L., Vogelnest L.J. (2013). Extensive epidermal naevus in a foal. *Australian Veterinary Journal* 91, 407-410.
- Scase T., Brandt S., Kainzbauer C., Sykora S., Bijmolt S., Hughes K., Sharpe S., Foote A. (2010). Equus caballus papillomavirus-2 (EcPV-2): an infectious cause for equine genital cancer. *Equine Veterinary Journal* 42, 738-745.
- Scott D.W., Miller W.H. (2003). Neoplastic and non-neoplastic tumors. In: *Equine Dermatology*. W.B. Saunders, Elsevier, London, p. 700-707; p. 778-779.
- Scott D.W., Miller W.H. (2011). Neoplasms, cysts, hamartomas, and keratoses. In: *Equine Dermatology*. Second edition, Saunders, Elsevier, London, p. 468-473; p. 510-512.
- Stosiek N., Ulmer R., von den Driesch P., Claussen U., Hornstein O.P., Rott H-D. (1994). Chromosomal mosaicism in two patients with epidermal verrucous nevus. *Journal of the American Academy of Dermatology* 30, 622-625.
- van den Top J.G., Harkema L., Lange C., Ensink J.M., van de Lest C.H., Barneveld A., van Weeren P.R., Gröne A., Martens A. (2015). Expression of p53, Ki67, EcPV2- and EcPV3 DNA, and viral genes in relation to metastasis and outcome in equine penile and preputial squamous cell carcinoma. *Equine Veterinary Journal* 47, 188-195.
- Vitovec J., Kurša J., Kratochvil P., Skalova A. (1999). Congenital fibropapillomatosis in a piglet. *Veterinary Pathology* 36, 83-85.
- White K.S., Fuji R.N., Valentine B.A., Bildfell R.J. (2004). Equine congenital papilloma: pathological findings and results of papillomavirus immunohistochemistry in five cases. *Veterinary Dermatology* 15, 240-244.

België ontsnapt niet aan het “rabbit hemorrhagic disease virus-2” (RHDV2) bij konijnen

Also Belgian rabbits are affected by the rabbit hemorrhagic disease type 2 virus

K. Hermans, I. Moeremans, M. Verlinden, A. Garmyn

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

Katleen.Hermans@UGent.be

SAMENVATTING

Sinds 2016 is in België een duidelijke spreiding aan de gang van een nieuwe variant van het “rabbit hemorrhagic disease virus” (RHDV), aangeduid als RHDV2. Acute sterfte van konijnen is bij beide varianten van het virus het vaakst geziene verschijnsel.

Vaccinatie tegen beide virusvarianten is mogelijk. Het vaccin dat momenteel in België geregistreerd is tegen RHD, beschermt niet tegen de variantstam. Via het cascadesysteem kan de dierenarts op eigen verantwoordelijkheid een vaccin invoeren dat in een andere EU-lidstaat daarvoor geregistreerd is. De actuele epidemiologische situatie verantwoordt dat konijnen preventief gevaccineerd worden tegen RHD. Ook myxomatose maakt echter nog steeds zeer veel slachtoffers, zowel onder wilde als onder tamme konijnen. Omwille van de actualiteit van het RHDV2 krijgt myxomatose momenteel te weinig aandacht. Er is een belangrijke taak weggelegd voor de dierenarts om konijneneigenaars correct te informeren over de belangrijke virale ziekten bij konijnen en de mogelijkheden tot preventie.

ABSTRACT

Since 2016, an extensive spread of RHDV2, a virus variant of the classical rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV) is ongoing in the Belgian rabbit population. Both variants of the virus usually cause acute death without prior symptoms.

Vaccination against both variants of the virus is possible. In Belgium, only a vaccine protecting against the classical RHDV has been registered. On their own responsibility, veterinarians are allowed to import a vaccine protecting against RHDV2 that is registered in another EU member state, in accordance with the so-called legislative waterfall-system.

The current epidemiological situation warrants preventive vaccination of rabbits against RHD. It should be noted that myxomatosis is currently rather neglected in view of the increased attention for the RHDV2 spread. Myxomatosis also still causes a high mortality in both wild and domesticated rabbits. Veterinarians should correctly inform the public about the two important viral diseases in rabbits and the possibilities for prevention.

HISTORIEK EN HUIDIGE SITUATIE

Rabbit hemorrhagic disease (RHD), bij onze noorderburen ook wel aangeduid als VHS (viraal hemorrhagisch syndroom), is reeds sedert de jaren tachtig van de vorige eeuw bekend als een dodelijke ziekte bij konijnen, veroorzaakt door het RHD-virus (RHDV). RHDV behoort tot het genus *Lagovirus* (waarvan de *Lagomorpha* de gastheer zijn) van de familie *Caliciviridae*, RNA-virussen zonder envelop.

Het virus werd voor de eerste keer vastgesteld in

China in 1984 – oudere konijnenhouders spreken nog wel over de “Chinese ziekte” – en begon daarna aan een opmars over de hele wereld. Vooral in de jaren negentig van de vorige eeuw was het virus in België verantwoordelijk voor massale, acute sterfte bij konijnen. Reeds in 1996 werd in Italië een eerste antigene variant, de zogenaamde RHDVa, beschreven. Deze variant was niet pathogeen voor konijnen (Capucci et al., 1996). Wellicht mede door toepassing van vaccinatie, leek RHDV als doodsoorzaak steeds minder belangrijk te worden in de jaren 2000. Eind 2010 werd men

in Frankrijk plots geconfronteerd met een hoge mortaliteit op konijnenbedrijven waar de konijnen gevaccineerd waren tegen RHDV. Een nieuwe variant van het virus, aangeduid als RHDV2 (of RHD-2), bleek hiervoor verantwoordelijk te zijn (Le Gall-Reculé et al., 2011). Hoewel veel bedrijven in het noorden van Frankrijk aangetast waren, leek het virus initieel niet naar België te verspreiden. Bij een geval van massale sterfte op één commercieel konijnenbedrijf in West-Vlaanderen werd in januari 2012 wel het RHDV2 als oorzakelijk agens aangetoond (gegevens van de autopsie: Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent). Sedert het academiejaar 2011-2012 werd dan ook aan de studenten diergeneeskunde – en tijdens bijscholingen voor dierenartsen – meegegeven dat een nieuwe variant van het virus, die ook bij gevaccineerde konijnen kon aanslaan, mogelijk voor problemen kon zorgen. Het was echter pas toen in het najaar van 2015 in Nederland meerdere gevallen werden gemeld van sterfte ten gevolge van RHDV2 (IJzer et al., 2016), dat in België de waakzaamheid vergrootte. In de autopsiezaal van de Faculteit Diergeneeskunde, UGent, werd in maart 2016 een eerste geval van RHDV2 bevestigd. In april werd een tweede geval aangeboden, van meerdere gevaccineerde konijnen met een beeld compatibel met RHD. De eigenaars kozen er om financiële redenen voor de verdere moleculaire bepaling – die een onderscheid tussen de klassieke RHD-stam en RHDV2 mogelijk maakt – niet te laten uitvoeren. In mei werden drie gelijkaardige gevallen aangeboden. Intussen deed dit nieuws snel de ronde onder konijnenhouders en dierenartsen die veel bijzondere dieren behandelen. Wellicht door een combinatie van verscherpte aandacht en een snelle

verspreiding van het virus, werden in juni en juli 2016 nog twintig dergelijke gevallen aangeboden. Intussen is het RHDV2virus in België aan een opmars bezig, waarbij er reeds bevestigde gevallen zijn in alle Vlaamse provincies. Ook in zeer veel andere Europese landen werd de virusvariant vastgesteld (OIE, 2015), evenals in Australië (Hall et al., 2015).

EPIDEMIOLOGIE EN PATHOGENESE

Er zijn nogal wat verschillen tussen het klassieke RHDV en het in opmars zijnde RHDV2. Deze worden samengevat in Tabel 1.

Het klassieke RHDV tast in principe enkel het Europese konijn (*Oryctolagus cuniculus*) aan. Van hazen en andere lagomorfen werd tot voor kort aangenomen dat ze niet gevoelig zijn. Recent is echter gebleken dat in 1999 twee Iberische hazen in Portugal toch besmet werden met het klassieke RHDV (Lopes et al., 2014). RHDV2 is – hoewel typisch voorkomend bij konijnen – ook beschreven bij twee hazensoorten in Italië (Puggioni et al., 2013; Camarda et al., 2014). Er werd eveneens melding gemaakt van detectie van RHDV2 bij de Europese haas (*Lepus europaeus*) in Duitsland in 2014 en in Frankrijk in 2015 (FAVV, 2016), maar een Nederlands onderzoek naar tachtig wilde hazen kon geen RHDV2 aantonen (IJzer et al., 2016). De Europese haas kan wel aangetast worden door een ander Lagovirus dat het zogenaamde “European brown hare syndrome” veroorzaakt.

Een konijn kan worden besmet via orale, nasale en conjunctivale weg. Mogelijke bronnen van infectie zijn gecontamineerd voer, bedding en drinkwater.

Tabel 1. Verschillen tussen het klassieke RHDV en RHDV2.

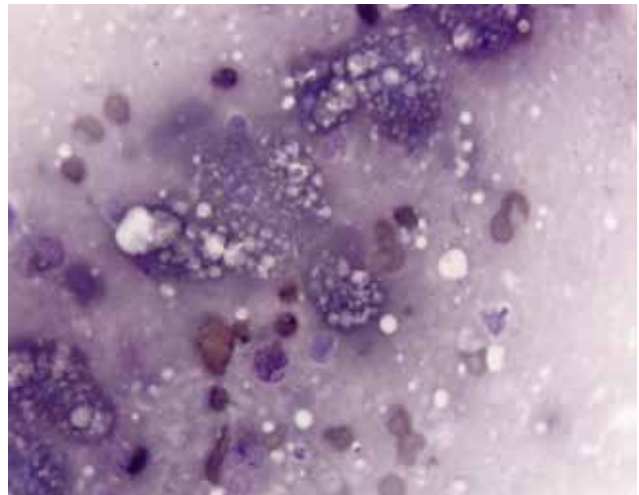
	Klassieke RHDV	RHDV2
Gastheer	Europees konijn (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) ook aangetoond bij Iberische haas (<i>Lepus granatensis</i>)	Europees konijn (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) eveneens aangetoond bij minimum 3 hazensoorten (<i>Lepus europaeus</i> , <i>Lepus capensis mediterraneus</i> en <i>Lepus corsicanus</i>)
Leeftijdsresistentie	Dieren jonger dan 6 weken enkel subklinisch aangetast	Sterfte mogelijk vanaf 14 dagen oud
Symptomen en letsels	Meestal peracute of acute sterfte, eventueel met bloeding uit de lichaamsopeningen of neurologische symptomen, zelden meer chronisch (geelzucht en sterfte na 1-2 weken)	Idem als klassieke RHDV maar iets vaker chronisch
Mortaliteit	Bij dieren van gevoelige leeftijd: tot 100%	Meer variabel, gemiddeld 20%, tot 70%
Vaccinatiemogelijkheden	Slechts één vaccin geregistreerd in België (Nobivac Myxo-RHD®, MSD)	Geen geregistreerd vaccin in België (situatie augustus 2016, registratieproces is bezig, firma Hipra), in andere EU-landen wel. Cascadesysteem kan toegepast worden op verantwoordelijkheid van de dierenarts.



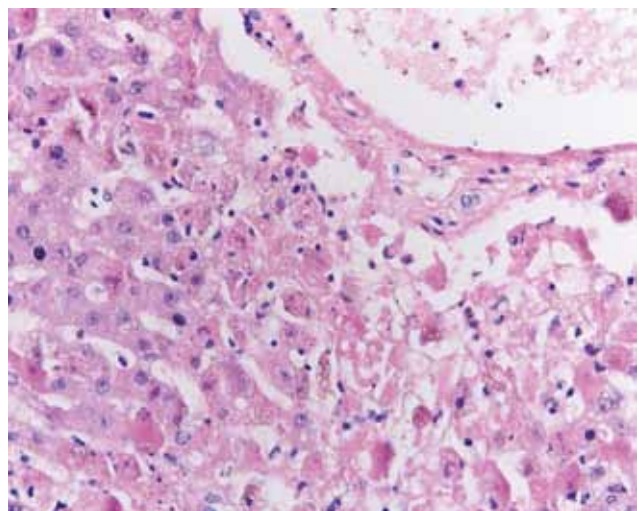
Figuur 1. Macroscopisch autopsiebeeld van rabbit hemorrhagic disease. De long vertoont enkele bloedingen en de lever heeft een bleek aspect. Bij manipulatie is de lever ook broos. In combinatie met een anamnese van plotsse sterfte en het cytologisch beeld kan een sterk vermoeden worden geuit van RHD als oorzaak van de sterfte. De bevestiging gebeurt via histologisch onderzoek en PCR om de virusvariant te bepalen.

Deze kunnen gecontamineerd worden door excreties van geïnfecteerde (wilde) konijnen, maar ook indirect via gecontamineerde materialen en wilde dieren en huisdieren die het virus verslepen. In 1998 beschreven Asgari et al. het belang van vliegen als mechanische vectoren van het virus: één enkele “flyspot” (anale en/of orale secreties van een vlieg die zich gevoed had op een geïnfecteerde lever) was in staat om via orale weg een konijn te infecteren met RHDV. Ook via de conjunctiva zouden vliegen het konijn kunnen besmetten. Stekende insecten die bloed gezogen hebben bij een viremisch konijn, zouden het virus ook rechtstreeks parenteraal bij een ander konijn kunnen inoculeren. Een overzicht van reeds eerder uitgevoerde studies naar insectvectoren staat in het artikel van Cooke en Fenner (2002). Ook via feces van andere aaseters die zich gevoed hebben met aangetaste karkassen, zou het virus overgedragen kunnen worden (Frölich et al., 1998; Cooke en Fenner, 2002). Het RHDV is zeer resistent en kan zeer lang overleven in de omgeving. In karkassen van gestorven konijnen blijft het virus bijvoorbeeld tot drie maanden infectieus (McCull et al., 2002). Het virus overleeft eveneens vriestemperaturen, waardoor de OIE (2015) zelfs suggereert dat diepgevroren vlees van geïnfecteerde konijnen verantwoordelijk kan zijn voor spreading van het virus naar nieuwe regio's of continenten.

Wilde konijnen vormen een belangrijke besmettingsbron voor konijnen die als huisdier of vleesproducerend dier worden gehouden. In Frankrijk werd aangetoond dat het RHDV2 de klassieke RHD-stam bij wilde konijnen bijna volledig heeft verdrongen (Le Gall-Reculé et al., 2013). Deze auteurs speculeren in hun epidemiologische studie dat de densiteit van de wildekonijnenpopulatie in een bepaalde regio



Figuur 2. Microscopisch beeld van een afdruckpreparaat van de lever van een konijn overleden ten gevolge van “rabbit hemorrhagic disease”. De hepatocyten zijn sterk gevacuoliseerd. Dit zijn de zogenaamde schuimcellen. Hemacolor®-kleuring, vergroting 10x100 (immersie).



Figuur 3. Histologisch beeld van een lever van een konijn, compatibel met “rabbit hemorrhagic disease”. Er is een duidelijke periportale necrose van de hepatocyten zichtbaar, waarbij de normale balkjesstructuur van de lever verloren is gegaan. Hematoxyline-eosine (HE)-kleuring, vergroting 10x40.

zal bepalen hoe snel het virus zich over die regio verspreidt en of het klassieke RHDV al dan niet verdrongen wordt. In Frankrijk, waar zeer veel wilde konijnen over het ganse land voorkomen, spreidde het RHDV2 enorm snel (in minder dan een jaar tijd waren konijnen over het ganse land aangetast), terwijl in Italië, waar wilde konijnen meer dispers voorkomen, het virus trager spreidde en het klassieke RHDV de belangrijkste stam bleef.

Doordat het virus niet in cultuur gebracht kan worden, ontbreekt veel kennis over de pathogenese van RHDV. Wel is duidelijk dat de pathogenese verschilt

naargelang de leeftijd van de geïnfecteerde konijnen. Bij een klassieke RHD-infectie zijn jonge dieren (volgens de meeste bronnen minder dan zes weken oud) refractair voor de ziekte en stijgt de mortaliteit met de leeftijd van de dieren. Dit zou zowel te maken hebben met het ontbreken van bepaalde receptoren bij jonge dieren (Ruvoën-Clouet et al., 2000) als met verschillen in immuunrespons en structurele en functionele verschillen in de lever tussen volwassen en jonge dieren (Abrantes et al., 2012). Bij de variant RHDV2 echter blijkt dat jonge dieren gevoelig zijn voor ziekte. Dalton et al. (2012) beschreven sterfte bij konijnenjongen van 14 dagen oud.

Uitscheiding van het virus door geïnfecteerde konijnen zou gebeuren via feces, urine en secreties van de ademhalingswegen. Bij de klassieke RHD is er een korte incubatieperiode van één tot drie dagen en sterven de dieren zeer snel. Le Gall-Reculé et al. (2013) voerden experimentele infecties uit en stelden vast dat RHDV2 daarentegen een iets langere incubatieperiode kende: sterfte trad pas op drie tot negen dagen na de infectie, terwijl dat met de klassieke RHD gewoonlijk twee tot zes dagen na infectie is. Hoewel de uitscheidingsperiode door aangetaste konijnen dus vrij kort is, kunnen jonge dieren die geïnfecteerd worden en niet sterven, evenals de enkelingen die de infectie overleven, het virus langer uitscheiden en doorgeven.

KLINISCHE VERSCHIJNSELEN EN PATHOLOGIE

Er zijn meerdere vormen van RHD beschreven, maar de peracute vorm blijft bij verre de belangrijkste.

Bij de peracute vorm ziet men geen klinische symptomen bij de dieren. Het konijn sterft plots en werd door de eigenaars enkele uren voordien meestal nog compleet normaal gezien, zonder tekenen van ongemak of anorexie. Bij de acute vorm gaan de konijnen ook snel dood, maar treedt eerst een korte periode (12-36 uur) op van koorts ($> 40^{\circ}\text{C}$), anorexie, apathie soms met dyspnee en cyanose, eventueel gepaard gaande met variabele neurologische symptomen (tremoren, ataxie, epileptiforme aanvallen, torticollis, ophistotonus, etc.). Soms worden hematurie, vaginale bloeding of neusbloeding waargenomen. Zeker deze bloedingen in combinatie met acute sterfte worden als bijna pathognomonisch voor RHD beschouwd. Sommige dieren ontwikkelen een subacute tot chronische vorm, waarbij icterus ontstaat gepaard gaand met gewichtsverlies en lethargie, en de dieren na één à twee weken meestal alsnog overlijden. In zeldzame gevallen overleeft een konijn de ziekte. Het verloop van de ziekte wordt in meerdere overzichtsartikels beschreven, meest recent door Abrantes et al. (2012).

Bij een klassieke RHDV-infectie wordt het tragere verloop van de ziekte gezien in 5-10% van de gevallen, en dit zou iets vaker het geval zijn bij aantasting door RHDV2. De mortaliteit verschilt eveneens: een klassieke RHD-uitbraak geeft massale sterfte, bij de

volwassen dieren kan 80-100% van de konijnen uit een groep sterven. Bij RHDV2-infectie is de sterfte meer variabel: tot 70% van de dieren sterft, maar in sommige gevallen blijft de sterfte beperkt tot 5%. Gemiddeld sterft 20% van de dieren. In een studie met experimentele infecties werd een verschil in mortaliteit gezien al naargelang de stam van RHDV2 waarmee de konijnen geïnoculeerd werden (Le Gall-Reculé et al., 2013).

Bij lijkschouwing zijn de letsels die gezien worden analoog bij de klassieke RHDV- en bij RHDV2-infecties, al hebben de auteurs de indruk dat ze niet altijd even uitgesproken en duidelijk zijn bij RHDV2. Er ontstaat levernecrose – wat macroscopisch aanleiding geeft tot een broze, bleke lever – ten gevolge van apoptose, evenals bloedingen in verschillende organen (milt, long, trachea) ten gevolge van diffuse intravasale stolling (DIS) (Jung et al., 2000). Een macroscopisch autopsiebeeld van RHD wordt weergegeven in Figuur 1. De levernecrose kan cytologisch bevestigd worden door een snelle bloedkleuring (bijvoorbeeld Hemacolor® of DiffQuick®) te maken van een leverafdrukje: er is dan vacuolisatie van de hepatocyten te zien, de zogenaamde schuimcellen, zoals in Figuur 2. Bij histologisch onderzoek wordt in de lever necrotiserende hepatitis met bijzonder erge necrose en weinig ontstekingscellen gezien (Figuur 3). De histologische letsels in andere organen zijn weinig karakteristiek.

DIAGNOSE

Het klinisch verloop en de autopsieletsels zijn vrij karakteristiek voor RHD. De diagnose kan bevestigd worden door cytologisch en histologisch onderzoek van de lever. Definitieve bevestiging kan gebeuren met (RT-)PCR, de meest ideale test voor diagnose van RHD omwille van zijn hoge sensitiviteit (OIE, 2015). Er werden tests ontwikkeld die de verschillende RHD-varianten herkennen. In Vlaanderen is er volgens de auteurs één laboratorium dat de diagnostiek voor specifiek RHDV2 kan uitvoeren met behulp van een PCR-test. Stalen waarop dit kan gebeuren zijn lever, long, milt, tracheale swabs, urine, feces en serum (S. Goessens en T. Nagels, persoonlijke mededeling, 2016). Dus ook bij levende konijnen die zich in de viremische fase bevinden, kan de diagnose reeds gesteld worden.

PREVENTIE

Zoals bij de meeste virale infecties is behandeling van RHD niet mogelijk. Het meestal zeer snelle verloop van de ziekte en de erg korte incubatieperiode zorgen ervoor dat er bij een uitbraak ook nog zeer weinig kan gedaan worden voor de aangetaste dieren en de andere konijnen uit de groep. De mortaliteit in

de groep hangt af van de virusstam die de problemen veroorzaakt. Noodvaccinatie kan, maar heeft mogelijk slechts een beperkt effect omdat meestal pas vanaf zeven dagen na vaccinatie voldoende immuniteit aanwezig is. Preventie is dus uitermate belangrijk.

Allereerst dient uiteraard contact (zowel direct als indirect) met besmette dieren vermeden te worden. Hygiënemaatregelen dienen daarbij rigoureus te worden toegepast. Verdachte konijnen of dieren die in contact zijn geweest met verdachte of gestorven dieren, moeten in quarantaine geplaatst worden. De aanwezigheid van het virus in het wild, en dus ook mogelijk op in openlucht geoogste voeders (hooi, groenvoer) dienen in acht te worden genomen. Ook via bijvoorbeeld schoeisel dat mogelijk in contact is gekomen met excreta van wilde konijnen, kan het virus worden binnengebracht. Handhygiëne, en beter nog, het dragen en het te gepasten tijde wisselen van handschoenen, zijn ook van belang. Men moet er rekening mee houden dat ook konijnen die er (nog) gezond uit zien, het virus kunnen dragen. Ontsmetting van mogelijk besmette materialen en hokken kan gebeuren met 1-2% formaline of 0,5% natriumhypochloriet (OIE, 2015) of met bijvoorbeeld Virkon-S® (IJzer et al., 2016).

Omwille van de aanwezigheid van de ziekte bij wilde konijnen en het feit dat insecten als mechanische vectoren voor het virus kunnen fungeren, is vaccinatie de betere optie. In België is het enige vaccin dat geregistreerd is en tegen de klassieke stam van RHDV beschermt, Nobivac Myxo-RHD® (MSD). Dit vaccin is één maal per jaar subcutaan toe te dienen en beschermt eveneens tegen sterfte ten gevolge van het myxomatosevirus. Bij de uitbraak in Frankrijk in 2010 bleken de meeste vaccins tegen het klassieke RHDV geen kruisbescherming te bieden tegen het RHDV2 (Le Gall-Reculé et al., 2011), enkele gaven een partiële bescherming. Enkele fabrikanten van konijnenvaccins in andere EU-landen waar konijnen nog zeer vaak als vleesproducerend dier worden gehouden (Frankrijk, Spanje) ontwikkelden vervolgens vaccins die wel bescherming boden tegen de nieuwe variant. Geen van deze vaccins is in België of Europees geregistreerd. Het invoeren van deze vaccins gebeurt op het ogenblik van het schrijven van dit artikel, augustus 2016, via het cascadesysteem, op verantwoordelijkheid van de dierenarts. Een overzicht van de geregistreerde vaccins in andere EU landen is te vinden op de website van de Faculteit Diergeneeskunde van Utrecht, Nederland: http://www.uu.nl/sites/default/files/20160108_tabel_info_vaccins_def5.pdf. Voor geen van de beschikbare vaccins is een beschermingsduur langer dan zes maanden tegen RHDV2 aangetoond. Bijna alle vaccins worden verkocht in flacons met multidoses die binnen enkele uren na het aanpakken moeten toegediend zijn. Hoewel aantrekkelijk vanuit economisch standpunt, dient het samenbrengen van onbeschermd konijnen voor zogenaamde “vaccinatiedagen” met de nodige omzichtigheid te

gebeuren. Zoals hoger vermeld moet terdege rekening worden gehouden met het besmettingsrisico dat de dieren daarbij lopen. Hetzelfde geldt trouwens voor alle consultaties en huisbezoeken bij konijnen: de hygiënemaatregelen dienen steeds met de nodige zorg te worden toegepast.

De fabrikant van het vaccin Cunipravac RHD variant®, is op dit ogenblik bezig met een Europese registratieprocedure voor zijn vaccin. De huidige bijsluiter vermeldt de noodzaak van een boostervaccinatie na zes weken, terwijl de bijsluiter na Europese registratie geen melding meer zal maken van de noodzaak van een booster en één vaccinatie om de zes maanden zal aanraden. Wanneer deze Europese registratieprocedure afgerond is, zal het vaccin, wellicht onder de naam “Eravac” (Emulsified Rabbit Vaccine) op de Belgische markt komen in flacons van 10 en 40 doses (S. Verhoeven, persoonlijke mededeling, 2016). Het zal op dat ogenblik het enige vaccin tegen RHDV2 zijn dat in België geregistreerd is.

CONCLUSIE

Het is duidelijk dat de actuele epidemiologische situatie verantwoordt dat konijnen preventief gevaccineerd worden tegen “rabbit hemorrhagic disease”. Er mag echter niet uit het oog verloren worden dat ook myxomatose, reeds jaren bekend als een dodelijke virale ziekte bij konijnen, nog steeds zeer veel slachtoffers maakt, zowel onder wilde als onder tamme konijnen. Omwille van de actualiteit van het RHDV2, krijgt myxomatose momenteel (te) weinig aandacht. Er is dus een belangrijke taak weggelegd voor de dierenarts om konijneneigenaars correct te informeren over de belangrijke virale ziekten bij konijnen en de mogelijkheden tot preventie.

REFERENTIES

- Abrantes J., van der Loo W., Le Pendu J., Esteves P.J. (2011). Rabbit haemorrhagic disease (RHD) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV): a review. *Veterinary Research* 43, 12.
- Asgari S., Hardy J.R., Sinclair R.G., Cooke B.D. (1998). Field evidence for mechanical transmission of rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) by flies (Diptera: Calliphoridae) among wild rabbits in Australia. *Virus Research* 54, 123-132.
- Camarda A., Cavadini P., Circella E., Capucci L., Caroli A., Legretto M., Mallia E., Lavazza A. (2014). Detection of the new emerging rabbit haemorrhagic disease type 2 virus (RHDV2) in Sicily from rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and Italian hare (*Lepus corsicanus*). *Research in Veterinary Science* 97, 642-645.
- Capucci L., Fusi P., Lavazza A., Pacciarini M.L., Rossi C. (1996). Detection and preliminary characterization of a new rabbit calicivirus related to rabbit hemorrhagic disease virus but non pathogenic. *Journal of Virology* 70, 8614-8623.

- Cooke B.D., Fenner F. (2002). Rabbit haemorrhagic disease and the biological control of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, in Australia and New Zealand. *Wildlife Research* 29, 689-706.
- Dalton K.P., Nicieza I., Balseiro A., Muguerza M., Rosell J.M., Casais R., Alvarez A.L., Parra F. (2012). Variant rabbit hemorrhagic disease virus in young rabbits, Spain. *Emerging Infectious Diseases* 18, 2009-2012.
- Frolich K., Klima F., Dedek J. (1998) Antibodies against rabbit hemorrhagic disease virus in free-ranging red foxes from Germany. *Journal of Wildlife Diseases* 34, 436-442.
- FAVV (2016). Newsletter voor de dierenartsen, n° 141. Te raadplegen via <http://www.favv-afsc.fgov.be/newsletter-da-vt/newsletter141.asp> (laatst geraadpleegd op 10/08/2016).
- Hall R.N., Mahar J.E., Haboury S., Stevens V., Holmes E.C., Strive T. (2015). Emerging rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDVb), Australia. *Emerging Infectious Diseases* 21, 2276-2278.
- Ijzer J., van Zeeland Y.R.A., Montizaan M.G.E., Egberink H.F., König P., van Geijlswijk I.M. (2016). Rabbit Hemorrhagic Disease Virus-2 (RHDV2): bij de konijnen af. Introductie van een nieuw type virus in Nederland in 2015. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 141, 24-29.
- Jung J.Y., Lee B.J.; Tai J.H., Park J.H., Lee Y.S. (2000) Apoptosis in rabbit haemorrhagic disease. *Journal of Comparative Pathology* 123, 135-140.
- Le Gall-Reculé G., Lavazza A., Marchandeu S., Bertagnoli S., Zwingelstein F., Cavadini P., Martinelli N., Lombardi G., Guérin J.L., Lemaitre E., Decors A., Boucher S., Le Normand B., Capucci L. (2013). Emergence of a new lagovirus related to rabbit haemorrhagic disease virus. *Veterinary Research* 44, 81.
- Le Gall-Reculé G., Zwingelstein F., Boucher S., Le Normand B., Plassiart G., Portejoie Y., Decors A., Bertagnoli S., Guérin J.L., Marchandeu S. (2011). Detection of a new variant of rabbit haemorrhagic disease virus in France. *Veterinary Record* 168, 137-138.
- McCull K.A., Morrissy C.J., Collins B.J., Westbury H.A. (2002). Persistence of rabbit haemorrhagic disease virus in decomposing rabbit carcasses. *Australian Veterinary Journal* 80, 298-299.
- OIE (2015), http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/RHD.pdf (laatst geraadpleegd op 24/08/2016).
- Puggioni G., Cavadini P., Maestrone C., Scivoli R., Botti G., Ligios C., Le Gall-Reculé G., Lavazza A., Capucci L. (2013). The new French 2010 Rabbit Hemorrhagic Disease Virus causes an RHD-like disease in the Sardinian Cape hare (*Lepus capensis mediterraneus*). *Veterinary Research* 44, 96.
- Ruvoën-Clouet N., Ganière J.P., André-Fontaine G., Blanchard D., Le Pendu J. (2000). Binding of rabbit hemorrhagic disease virus to antigens of the ABH histo-blood group family. *Journal of Virology* 74, 11950-11954.



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

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

Persoonlijke service en klinische interpretatie.

medvet | diergeneeskunde

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

WAAR BLIJVEN DE AFGESTUDEERDE DIERENARTSEN NA HUN STUDIE?

VRAAG

”Waar blijven die afgestudeerde dierenartsen na hun studie? is een vraag die voor mij al jaren onbeantwoord blijft.

Wij zijn een groepspraktijk kleine huisdieren uit de Kempen en merken dat, telkens wij een vacature hebben, zowel voor een voltijdse als voor een interimbetrekking, er amper tot geen respons op komt. Dit is al ruim een zestal jaar aan de gang. Ook collega's uit de omgeving stellen een gelijkaardig probleem vast. Het betreft vaak afgelijnde uren (weliswaar met gelijkwaardige deelname in wachtdienst en weekenddienst, hetgeen van een dierenarts verwacht wordt). Bovendien is er ruimte voor sociale ontwikkeling en vrije tijd buiten de werkuren.

In de meeste gevallen lijkt mij het loon evenmin het struikelblok. Uiteraard gaat het om een loon in functie van ervaring en werkdruk. Mogelijkheden tot verdere ontwikkeling binnen de praktijk, zowel op het vlak van kennis als kunde als associatie spelen blijkbaar evenmin een grote rol. Meer nog, ik hoor van veel collega's dat ze geen associé meer vinden. De jeugd wil niet meer investeren ...

Dit kan toch niet? Anderzijds hoor je de jonge collega's klagen dat ze geen werk vinden. Ze gaan nog liever aan de kassa staan ... En dit terwijl ik hier in de buurt minstens een tiental goede vacatures kan opnoemen.

Waar ligt het probleem? Wil de jeugd gewoon niet meer werken? Is een intensieve opleiding van zes jaar of langer dan wel verantwoord? Kan er niet beter, zoals in sommige landen al het geval is, een grondige screening gedaan worden nog vóór de studies gestart worden? Zo kunnen diegenen die het echt menen en vol vuur en passie afstuderen eindelijk beginnen aan hun langverwachte carrière als dierenarts.

Dit is een vraag die ik, maar ook vele andere collega's, ongetwijfeld graag beantwoord willen zien.”

ANTWOORD**Het (niet) vinden van collega's**

Waarom het zo moeilijk blijkt om jonge collega's aan te trekken, terwijl er ieder jaar heel veel jonge dierenartsen afstuderen, is niet zo makkelijk te beantwoorden. Het is wel erg goed dat de vraag hier gesteld wordt omdat het benoemen van het probleem bijdraagt tot het vinden van oplossingen. Er moet echter vermeden worden dat er gepolariseerd wordt. “Wil de jeugd niet meer werken” suggereert een stugge stellingname. Het is evenwel een gedachtegang die al langer bestaat bij de collega's die op zoek zijn naar nieuwe medewerkers terwijl studenten en pasafgestudeerde dierenartsen wel eens ventileren dat “oudere collega's hen enkel het zware werk (zullen) laten doen en hen (zullen) onderbetalen”. Beide gedachten zijn vermoedelijk niet geheel onjuist maar er is nood aan genuanceerder denken om oplossingen te vinden.

Niet toevallig organiseerde de Nederlandstalige Gewestelijke Raad van de Orde der Dierenartsen vorig jaar op Expovet een debat met als onderwerp “De polarisatie tussen generaties (studenten, pasafgestudeerde dierenartsen en dierenartsen-in-de-praktijk)”. Het debat kwam er naar aanleiding van de vaststelling dat onze studenten diergeneeskunde en de pasafgestudeerde dierenartsen vaak het idee hebben dat er geen mooie toekomst meer voor hen is weggelegd in de Vlaamse praktijk, dit terwijl de “dierenartsen-in-de-praktijk” van mening zijn dat dit wel het geval is. Daarenboven hebben (laatstejaars) studenten en pasafgestudeerde collega's vaak het gevoel dat er een overaanbod aan dierenartsen bestaat en dat het zeer moeilijk is om een job te vinden, terwijl de “dierenartsen-in-de-praktijk” vaak problemen ondervinden om hun openstaande vacatures ingevuld te krijgen. Net zoals bijvoorbeeld ook vacatures voor onderzoeksmandaten op de Faculteit Diergeneeskunde vaak slechts een beperkte respons opleveren.

Een zestigtal jonge dierenartsen in de zaal kon via televoting hun mening geven over elf stellingen (over werk zoeken en solliciteren, verloning, werkdruk, takenpakketten, verwachtingen, mogelijkheden tot associëren, etc.) waarna enkele vertegenwoordigers per generatie de discussie aangingen. Uit de antwoorden van de jonge dierenartsen kwam onder andere naar voor dat 75% reeds vóór het afstuderen begint te solliciteren en dat bijna de helft dit doet door rechtstreeks contact op te nemen met (buurt-)prak-

tijken. Vacatures via interimbureaus of dierenartsenverenigingen consulteren ze veel minder terwijl de “dierenartsen-in-de-praktijk” net via deze kanalen jobs aanbieden. Tijdens het debat bleek duidelijk dat jonge dierenartsen (in spe) wel degelijk gemotiveerd zijn om aan het werk te gaan maar dat werkgevers en werkzoekenden elkaar moeilijk vinden, onder andere net door gebruik te maken van verschillende kanalen. De jonge dierenartsen (in spe) geven daarnaast aan dat verloning, ligging van de praktijk en het aantal collega's in de praktijk voor hen van minder belang zijn maar dat de infrastructuur, de (werk-)sfeer en vooral de visie van de praktijk doorslaggevend zijn bij het maken van een keuze.

Van de jonge dierenartsen (in spe) met interesse voor of reeds actief in de nutsdierensector, zegt 57% tussen de 40 en 50 uur per week te willen werken en zelfs 33% meer dan 50 uur per week. Voor de jonge collega's (in spe) uit de kleinehuisdierensector ligt dit op respectievelijk 70% en 17%. Meer dan 90% van de jonge collega's (in spe) is bereid om (in een beurttrol) nacht- en weekenddiensten te doen.

Ook over de wil om te associëren blijken wel wat misverstanden te bestaan. Zesentwintig procent van de jonge dierenartsen (in spe) blijkt bereid te zijn om zich binnen de drie jaar financieel te engageren in een praktijk en 65% binnen de vijf tot tien jaar, wanneer ze betrokken worden in de ontwikkeling van de praktijk en zelf ook verantwoordelijkheden krijgen.

Opmerkelijk is ook dat meer dan de helft van de jonge dierenartsen stelt dat de Faculteit Diergeneeskunde de studenten tijdens de opleiding te veel negatieve informatie geeft over wat hun toekomstkansen betreft. Dat zou in de toekomst vermeden moeten worden, vinden ook de oudere dierenartsen.

Er werd beslist om in 2016, dit jaar dus, tijdens Expovet een jobbeurs te organiseren waar werkzoekenden en zij die werk aanbieden elkaar tussen pot en pint kunnen treffen. Dit is een stap voorwaarts die zeker een deel van de oplossing kan brengen al was het maar omdat er op een dergelijk event gepraat kan worden over de verwachtingen van beide partijen, over toekomstvisies, etc. Daarnaast is het eveneens interessant op te merken dat de Faculteit Diergeneeskunde een door studenten druk bezochte website ter beschikking stelt waarop vacatures voor dierenartsen gratis kunnen gepost worden: <http://www.ugent.be/di/nl/actueel/externe-vacatures>. Het volstaat een eenvoudig verzoek te verzenden naar de faculteit op volgend emailadres: jan.bauwens@ugent.be. Illustratief voor het succes van deze website is dat het FAVV vorig jaar een aantal vacatures moeilijk ingevuld kreeg na bekendmaking via de reguliere kanalen, terwijl na het posten op de facultaire website er heel wat sollicitaties binnen kwamen en de vacatures werden ingevuld.

Waar blijven de dierenartsen na hun studie

Waar de afgestudeerde studenten blijven na hun studies werd reeds enkele malen in kaart gebracht door de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent aan de hand van enquêtes die naar recent afgestudeerde dierenartsen werden verzonden. De eerste studie werd uitgevoerd in 2009 en betrof dierenartsen afgestudeerd tussen 1998 en 2008 (Van Nieland et al., 2010) terwijl de tweede studie werd uitgevoerd in 2013 en twee groepen dierenartsen insloot, namelijk deze die waren afgestudeerd tussen 2002 en 2004 en een groep afgestudeerd tussen 2009 en 2011. In deze enquêtes werd naast een evaluatie van de opleiding ook uitvoerig gepeild naar de jobinvulling na het afstuderen. Hieruit kwamen een aantal belangrijke conclusies die niet fundamenteel verschilden tussen de eerste en de tweede enquête. Een eerste belangrijke vaststelling is dat van de recent afgestudeerde dierenartsen (enkel dierenartsen ondervraagd die tussen één en tien jaar geleden zijn afgestudeerd) twee derden aan de slag zijn in de praktijk terwijl één derde zijn of haar job uitoefent buiten de klassieke praktijk. Die laatste groep omvat dierenartsen die actief zijn in het onderzoek (doctoraatstudenten), het onderwijs binnen en buiten de universiteit, bij de overheid (FAVV, FAGG, FOD, etc.), de farmaceutische industrie of nog andere functies. Een tweede vaststelling is dat er ongeveer evenveel dierenartsen naar het buitenland vertrekken als dat er niet-Belgische studenten zijn afgestudeerd. In grote mate zijn dit de Nederlandse dierenartsen die na hun studies in Gent terug naar Nederland trekken maar verschillende onder hen blijven ook in België hangen (al dan niet door de liefde gebonden) terwijl ook heel wat Vlaamse studenten naar het buitenland trekken. Deze twee fenomenen samen zorgen ervoor dat er van de diploma's die jaarlijks worden uitgereikt ongeveer 80% op de Vlaamse arbeidsmarkt terechtkomen (20% buitenlanders), waarvan er dan weer 65%-70% in de praktijk aan de slag gaat. Samen genomen komt dit neer op iets tussen de 50% en 55% van de jaarlijks uitgereikte diploma's. Als je weet dat het gemiddeld aantal uitgereikte diploma's dierenarts in Gent (2010 tot 2015) 188 betrof dan komt een eenvoudige rekensom uit op 95-105 dierenartsen die jaarlijks naar de praktijk trekken.

Verder blijkt uit de enquêtes dat 90% van de ondervraagde dierenartsen voltijds werkt en slechts 3% werkzoekend is. Ook blijkt dat de werkbelasting voor iedereen relatief hoog is (>50u per week) en onafhankelijk is van het type job (praktijk versus geen praktijk) dat men uitvoert. Voor de dierenartsen die in de praktijk aan de slag zijn, blijkt dat de overgrote meerderheid effectief ook een job uitoefent die in het verlengde ligt van de gevolgde optierichting. Hier is slechts één uitzondering, namelijk veel afgestudeerden in optie paard blijken naderhand een kleinehuisdierenpraktijk uit te voeren. Over het algemeen blijken de dierenartsen tevreden tot heel tevreden te zijn over hun werksituatie en ook dit is niet signi-

ficant verschillend tussen de verschillende groepen. Tenslotte blijkt uit de enquête dat jong afgestudeerde dierenartsen vaak via stageplaatsen of kennissen en familie na gemiddeld twee maanden reeds een job vinden.

Uit alle bovenstaande gegevens blijkt dat afgestudeerde dierenartsen, in tegenstelling tot wat misschien algemeen gedacht wordt, relatief snel aan een job geraken en dat deze job ook heel divers is. Dit verklaart vermoedelijk ook deels waarom de vraagsteller, samen met veel collega's, opmerkt dat vacatures niet zo eenvoudig ingevuld geraken als men zou vermoeden.

In 2016 zal de Faculteit Diergeneeskunde opnieuw een gelijkaardige enquête organiseren om verder de vinger aan de pols te houden. We zullen niet nalaten te informeren over de resultaten van de enquête.

REFERENTIE

Van Nielandt P., Dewulf J., De Vliegheer S., de Kruif A., 2010. Tewerkstelling van dierenartsen afgestudeerd aan de universiteit gent tussen 1998 en 2008. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 79, 59-65.

Drs. D. Valckenier, diergeneeskundig adviseur
NGROD
Prof. dr. S. De Vliegheer, Prof. dr. J. Dewulf
Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en
Bedrijfsdiergeneeskunde,
Faculteit Diergeneeskunde, Salisburylaan 133,
B-9820 Merelbeke

Uit het verleden

SMID GENEEST PAARD (1323 – 1324)

Item den smet die tgrauwe paerde ghenas te Ghent

(betaald) 45 s- 4 d. (45 schellingen en 4 denieren of 544 denieren)

Een rekening bewaard in het Gentse rijksarchief (Gysseling, 1951) bevat een van de oudste gegevens in het Nederlands over de rol van smeden, meer bepaald hoefsmeden, in de geneeskunde van dieren. Deze voorlopers van de dierenartsen waren in hoofdzaak betrokken in de verzorging van paarden, veruit het belangrijkste en duurste huisdier. In die tijd nog 'het' attribuut van edellieden, de ridders (afgeleid van 'ruiters') of chevaliers (afgeleid van 'cheval'). Het document is dan ook uit dergelijke kringen afkomstig. Vermoedelijk werd de rekening opgemaakt voor een Gentse patriciër, een zekere Symoen Willebaerds. Over de identiteit van de smid komen we niets te weten, evenmin iets over de door hem toegepaste middelen en methoden.

Goedkoop was de behandeling niet. We kunnen het bedrag (544 denieren, afgekort d.), vergelijken met andere posten in de rekening. Dezelfde smid ontving 90 d. *van beslaene ende van zalve ten zuwarten paerde*. Ons verder beperkend tot betalingen in de door Gysseling gepubliceerde en becommentarieerde rekening die met dieren te maken hebben, vermelden we: voor twee roskammen (*heurscamme*): 6 d.; voor een breidel (*bredele*): 48d., voor een muizenval (*muse vale*): 4d., voor 25 koppels duiven (25 *paeren duven*): 96 d., voor 19 kiekens (*kiekinnen*): 76 d., voor 4 konijnen (*kuninnen*): 26d. Verder nog enkele dure posten: 72 d. om een paard op te leren (*van den zomer paert te leere telle*): 160d., voor twee varkens (*verekinnen*): 492 d. en voor het allerduurste, het bouwen van een duifhuis (*duifhuus*): 1922 d. Voor het basisvoedsel in die tijd, het 'dagelijks' brood, moest men volgens een berekening voor dat zelfde (volledige) jaar 1163 d. uitgeven, hetzij 18 % van het maximale jaarloon in de bouwsector (Blockmans en Prevenier 1975). De bedragen zijn uitgedrukt in het Parijse muntstelsel (parisis), toen gangbaar in het graafschap Vlaanderen.

LITERATUUR

- Blockmans, W.P., Prevenier, W. (1975). Armoede in de Nederlanden van de 14de tot het midden van de 16de eeuw. *Tijdschrift voor Geschiedenis* 88, 501 - 538.
Gysseling, M. (1951). Een rentmeestersrekening voor een Gents patriciër uit de eerste helft van de 14^{de} eeuw. *Mededelingen van de Koninklijke Commissie voor Geschiedenis*, 245 - 265.



EXAMENUITSLAGEN EERSTE EN TWEEDE ZITTIJD 2015-2016

Behaalden de academische graad van dierenarts

Optie herkauwers

Alexander Vantighem, Alexis Deprez, Anne Vastmans, Antoon Ricou, Bram Schuurman, Britt Van Severen, Christophe Verroken, Detliff Velghe, Dylan Beyls, Ella Engels, Evi Canniere, Fien Verhaert, Ilse Smolenaers, Isabell Pröger, Jacqueline Nelis, Jana Van Den Steen, Jolien Marga, Jonas Mergaert, Joyce Francisca van der Burgt, Karel Verdru, Katharina van Leenen, Ken Wybaillie, Laurens den Haan, Leis Bode, Lien Van Damme, Lieze De Cremer, Lisa Beuckelaere, Liselot Van Parys, Maaïke De Schepper, Mandy Vermeij, Marie Pierre, Marissa Loeff, Matthias Buyck, Michiel De Ben, Mirke Sluiter, Nathalie de Mul, Nicky Couwels, Pieter-Jan Kerkhof, Raf Bolckmans, Ralph Eussen, Robin Maes, Ryan Tjon-Lim-Sang, Simone Roosen, Stefanie Boeykens, Tessa Soer, Tom Sleghe, Tuur Swolfs

Optie varken, pluimvee en konijn

Annelies Van Poucke, Elise Bernaerd, Emiel Demeester, Hannes Meyns, Inge Jooren, Matthias Snijders, Michiel Cloet, Nienke Auping, Nikolai Ongena, Noémie Van Vyve, Stephanie De Cuyper

Optie gezelschapsdieren

Aline Lanckneus, An Smits, Anna Grappendorf, Anne Lauwers, Anne Marleen van den Bogerd, Annelies Breemersch, Annelore Willems, Anne-Sophie Dierckx de Casterlé, Arvid Cardinaels, Bente Kapteijns, Bo Vanbeselaere, Bob Smarius, Camille Vermeulen, Carlien Roothans, Charlotte De Voogt, Charlotte Robyns, Charlotte Van Hoey, Charlotte Wuyts, Charlyne Polderman, Chloé Janssen, Christiane Bayer, Christina Rahe, Daisy Schollaert, Eline Dessers, Eline Praet, Eline Segers, Ellen De Ryck, Emilie Callaghan, Erik Van Mechelen, Eveline Verheyen, Evy Robbens, Fabienne van den Broek, Farah Devos, Fien De Wilde, Francisca Wilhelmina van der Bij, Hanna Schoolmeesters, Ilse Claeyns, Ine Sijbers, Jan Van Waes, Jana Heremans, Jana Vermeiren, Janine Nathalie de Koning, Jeroen Verstreken, Jessica Cardon, Judith Verduijn, Jules Simard, Julie Nys, Julie Schelkens, Kim Ole Söhl, Kim Vervliet, Lara Schuurkes, Laura Vankeersbilck, Leen Rutten, Lena Schenk, Lidwina Ong, Lisa De Buyser, Lisa Krekt, Loes Fila, Lukasz Branica, Lynn Haesendonck, Lynn Van Acker, Maai Albers, Maarten Rathé, Margot De Vleminck, Marie Deflandre, Marie Geldof, Marjolein Fredrix, Marleen Petermann, Martin Noorland, Maryline Lamerand, Maya Kerkhove, Melissa Hauspie, Myrthe Haanstra, Natascha Elisabeth Lucia van Sambeek, Nathalie Herberz, Nicky Dijksman, Nikita Hompus, Nikki Hoogenboom, Ramon van der Horst, Renée Houben, Rianne Offermans, Roeland Brand, Ruben Van Vlasselaer, Rune Jacobs, Sally Vanmeulen, Sandra Van Eenoo, Sarah Roberts, Sarah Smets, Serafina Feys, Silke Cannaerts, Sofie Janssens, Stephanie Dhallé, Tine Provinciael, Tom Roggeman, Vincent Van Hove, Ward Noijen, Wendy Verhoeven, Ziggy Hoskens

Optie paard

Barbara Crols, Benthe Dieperink, Caroline Ribonnet, Charlotte Demesmaeker, Constance de Meeûs d'Argenteuil, Eline Vercruyse, Fleur Solleveld, Franziska Thünker, Gianna Van den Wyngaert, Glenn Van Steenkiste, Goele Versmissen, Guillaume Bocklandt, Han Opsomer, Helga Asscherickx, Ilse Gerits, Ilse Kerckhof, Ineke de Wilde, Inge Bayen, Iris Korpershoek, Jennifer Reimer, Jill Vandroogenbroeck, Judith Adriaensens, Julie Deleu, Kathleen Pauwels, Kristien De Grove, Lambertha van Riel, Lara Odersky, Lawrence Kadic, Leander De Mol, Lena Lombaers, Lena Tuerlinckx, Lies Claeyns, Lieselotte Baeyens, Lisa Braeckman, Lisa Karolin Coco, Lisa-Marie Hermans, Loes Verté, Lukas Plancke, Machiel Ysebaert, Maude Desmet, Michèle Gorissen, Milou Toetenel, Mireille Cappendijk, Naomi Terriere, Narda de Vos, Nazaré Storms, Nien Silkens, Nora Zucka, Philippe Hamerlinck, Phyllis Naeyaert, Sabina Vinke, Shady Taghizadeh, Shari De Win, Simon Buntinx, Suzanne Mooren, Ulrike Cocquyt

Optie onderzoek

Bart Cassiers, Claire Vanhoomissen, Dennis Dils, Ellen De Paepe, Gerald Demaerel, Helena Berlamont, Isabelle Clairhout, Joris Props, Katrien Quintelier, Kevin Van Tichelen, Lieselotte Van Bockstal, Lotte Giza, Ludmila Iesanu, Martine Verhavert, Michiel De Keyser, Nele Caekebeke, Quinten Bernaert



EXPOVET 2016

DE GROOTSTE VAKBEURS VOOR DE DIERENARTS

- 2712 dierenartsen verbreederen op 1 plaats...
- 300 studenten slaan de handen in elkaar op 1 plaats...
- 81 gerelateerde bedrijven netwerken op 1 plaats...

EXPOVET 2016: BEESTIG LEUK!

Nieuw!

→ Debatten

zaterdag Minister Ben Weyts stelt zijn beleid i.v.m. dierenwelzijn voor aan de praktiserende dierenarts

zondag Kansen en bedreigingen voor de diergeneeskunde anno 2016 gezien door de bril van managers met roots in de diergeneeskunde

GASTSPREKERS

Piet Vanthemsche, Pol Vanacker, Paul Lembrechts

→ Vetjob

Een stand waar werkgevende en werkzoekende dierenartsen elkaar ontmoeten

In de kijker!

→ Casussen en demonstraties, wegens succes verlengd

→ Bijscholingen i.s.m. Instituut Permanente Vorming van de universiteit Gent In hal 7

5 & 6 NOVEMBER

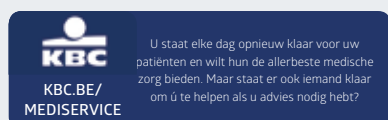
zaterdag van 13u tot 22u

zondag van 13u tot 20u

Flanders Expo – Hal 8

Maaltekouter 1, 9051 Gent

meer info: www.expo vet.be



flanders expo



UNIEKE BESCHERMING TEGEN BRD NIEUW VACCIN VEILIG EN GEMAKKELIJK

6 MAANDEN
BEWEZEN
BESCHERMING



BOVALTO Respi 3 suspensie voor injectie voor runderen. BOVALTO Respi 4 suspensie voor injectie voor runderen. Samenstelling: Een dosis (2 ml) bevat: Geïnactiveerde: bovine respiratory syncytial virus, stam BIO-24; bovine parainfluenza 3 virus, stam BIO-23; [Respi 4] bovine viral diarrhoea virus, stam BIO-25; *Mannheimia haemolytica*, serotype A1 stam DSM 5283; Aluminium hydroxide en Quillaja saponine (Quil A). **Indicaties:** Voor de actieve immunisatie van runderen in afwezigheid van maternale antistoffen tegen: - parainfluenza 3 virus, ter vermindering van virus excretie als gevolg van een infectie; - bovine respiratory syncytial virus, ter vermindering van virus excretie als gevolg van een infectie; - [Respi 4] bovine viral diarrhoea virus, ter vermindering van virus excretie als gevolg van een infectie; - *Mannheimia haemolytica* serotype A1, ter vermindering van klinische symptomen en longlaesies. Aanvang van immuniteit (aangetoond door challenge): 3 weken na de basisvaccinatie. Duur van immuniteit (aangetoond door challenge): 6 maanden na de basisvaccinatie. **Bijwerkingen:** Na vaccinatie kan zeer vaak een lokale zwelling ter hoogte van de injectieplaats worden opgemerkt. Deze zwelling kan een diameter tot 7 cm bereiken, die gewoonlijk progressief reduceert en verdwijnt binnen 6 weken na vaccinatie. Er treedt vaak een voorbijgaande stijging van de lichaamstemperatuur op, die hoger was na de tweede injectie (maximaal 1,5°C) en die tot 3 dagen na de vaccinatie duurde. Overgevoeligheidsreactie kunnen zeer zelden optreden na vaccinatie. In dergelijke gevallen dient een geschikte symptomatische behandeling te worden verstrekt. **Dosering en toedieningsweg:** Eén dosis van 2 ml, subcutaan toegediend. Opwarmen vóór gebruik tot een temperatuur van 15 tot 25°C en de inhoud van de flacon schudden. **Basisvaccinatie:** Kalveren kunnen gevaccineerd worden vanaf een leeftijd van 2 weken. Kalveren van niet-geïmmuniseerde koeien: 2 injecties met een interval van 3 weken, vanaf een leeftijd van 2 weken. Wanneer de immunestatus van de koe onbekend is, moet het vaccinatieschema aangepast worden volgens het inzicht van de dierenarts. **Herhalingsvaccinatie:** Dien een enkele dosis toe 6 maanden na het voltooien van het basisvaccinatieschema. Het effect van de herhalingsvaccinatie werd aangetoond door meten van de serologische responsie. De werkzaamheid van de herhalingsvaccinatie werd niet aangetoond door challenge. **Aflevering:** Op diergeneeskundig voorschrift. Verdere informatie zie bijsluiter of bij MERIAL Belgium N.V., Leonardo Da Vincielaan 19, 1831 Driegem. Respi 3: BE-V483244, BE-V483253, BE-V48326. Respi 4: BE-V483271, BE-V483280 en BE-V483297. hr120416. © 2016. Alle rechten voorbehouden. MattArt 17241_2/05/16

EICKEMEYER®

Competence in equine equipment

Powerful equine tools

NIEUW
6 maten



▶ **Intraveneuze catheter voor paarden**

- *Intraveneuze canule in 6 afmetingen*
- *3 röntgencontrast strepen*
- *Latexvrij, DEHP-vrij en PVC vrij*



▶ **Dentale paarden handstukken**

- *Diverse (handstuk) uitvoeringen*
- *Ook verkrijgbaar in speciale lichtmetalen uitvoering*
- *Optioneel met waterkoeling*



▶ **Cooperflex echohulp voor paardenartsen**

- *Uw persoonlijke hulp bij het maken van echo's*
- *Flexibel en lichtgewicht*
- *Stabiel maar zeer mobiel*

KIJK OOK ONLINE
NAAR ONS ASSORTIMENT OP
www.eickemeyer.nl

veterinary technology for life
Eickemeyer®

EICKEMEYER®
Bedrijventerrein
Pavijen-West, Bellweg 44
4104 BJ Culemborg

T +31 345 58 9400
F +31 345 58 9401
E info@eickemeyer.nl
www.eickemeyer.nl

12

12 WEKEN
BESCHERMING

NIEUW: BRAVECTO® SPOT-ON VOOR DE KAT

BRAVECTO®
EXPECT THE EXTRAORDINARY

Spot-on voor katten
Beschermt 12 weken
Tegen vlooien en teken
Innovatieve applicator: Twist and Use
Uitsluitend op diergeneeskundig voorschrift

Bravecto 112,5 mg spot-on oplossing voor kleine katten (1,2 - 2,8 kg), **Bravecto 250 mg** spot-on oplossing voor middelgrote katten (>2,8 - 6,25 kg), **Bravecto 500 mg** spot-on oplossing voor grote katten (>6,25 - 12,5 kg). **Indicaties:** Voor de behandeling van teken- en vlooieninfestaties bij katten. Dit diergeneesmiddel is een systemisch insecticide en acaricide met onmiddellijke en aanhoudende vlooien- (*Ctenocephalides felis*) en teken- (*Ixodes ricinus*) dodende werking gedurende 12 weken. Vlooien en teken moeten gehecht zijn aan de gastheer en beginnen met voeden om blootgesteld te worden aan het werkzame bestanddeel. Het product kan gebruikt worden als onderdeel van een behandelingsstrategie tegen vlooienallergiedermatitis (VAD). **Contra-indicaties:** Niet gebruiken bij overgevoeligheid voor het werkzame bestanddeel of één van de hulpstoffen. **Bijwerkingen:** Vaak voorkomende bijwerkingen in klinische studies waren milde en voorbijgaande huidreacties op de toedieningsplek (2,2% van de behandelde katten), zoals roodheid, jeuk of kaalheid. Overige symptomen die kort na toediening werden waargenomen zijn: apathie/trillen/gebrek aan eetlust (0,9% van de behandelde katten) of braken/speekselen (0,4% van de behandelde katten). De frequentie van bijwerkingen is als volgt gedefinieerd: zeer vaak (meer dan 1 op de 10 dieren vertonen bijwerkingen) gedurende de duur van één behandeling), vaak (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 100 dieren), soms (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 1.000 dieren), zelden (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 10.000 dieren), zeer zelden (minder dan 1 van de 10.000 dieren, inclusief geïsoleerde meldingen). **Dosering:** Voor spot-on gebruik. Bravecto dient toegediend te worden volgens onderstaande tabel (overeenstemmend met een dosering van 40-94 mg fluralaner/kg lichaamsgewicht): Gewicht van de kat (kg) / Sterkte en aantal van de toe te dienen pipetten: 1,2 - 2,8 kg: 1x Bravecto 112,5 mg, >2,8 - 6,25kg: 1x Bravecto 250 mg, >6,25 - 12,5kg: 1x Bravecto 500 mg. Voor katten boven 12,5 kg lichaamsgewicht dient een combinatie van twee pipetten te worden gebruikt die het beste bij het lichaamsgewicht past. **Toedieningswijze:** Stap 1: Onmiddellijk voor gebruik het sachet openen en de pipet eruit halen. De pipet dient bij de basis of bij het harde bovenste deel onder de dop rechtop vastgehouden te worden (punt naar boven) om deze te openen. De draai-en-gebruik dop dient met de klok mee of tegen de klok in één keer rondgedraaid te worden. De dop zal op de pipet blijven; het is niet mogelijk deze te verwijderen. De pipet is open en klaar voor gebruik als het breken van de verzegeling wordt gevoeld. Stap 2: De kat dient te staan of liggen met de rug horizontaal voor een gemakkelijke toediening. Plaats de pipetpunt aan de schedelbasis van de kat. Stap 3: Knijp zachtjes in de pipet en breng de gehele inhoud direct op de huid van de kat aan. Het product dient bij katten tot 6,25 kg lichaamsgewicht aangebracht te worden op één plek aan de schedelbasis en bij katten met meer dan 6,25 kg lichaamsgewicht op 2 plekken. **Behandelschema:** Voor optimale controle van een teken- en vlooieninfestatie dient het diergeneesmiddel met een interval van 12 weken te worden toegediend. EU/2/13/158/018-019, EU/2/13/158/022-023, EU/2/13/158/026-027



MSD
Animal Health