

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

 **FACULTEIT
DIERGENEESKUNDE**
accredited by FAEVF

MAART-APRIL 2022

VOL. 91 - NR 2

VERSCHIJNT TWEEMAANDELIJKS

PUBLISHED BIMONTHLY

ISSN 0303 9021

[HTTPS://OPENJOURNALS.UGENT.BE/VDT/](https://openjournals.ugent.be/vdt/)

Afgiftekantoor 9099 Gent X

v.u. Luc Peelman

Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke



UNIVERSITEIT
GENT



- Warburg-effect bij paarden
- Levercoccidiose bij konijnen
- Kleuringsmethoden voor vaginale uitstrijkjes bij hond en kat
- Obstructieve bovensteluchtwegaandoening bij een drachtig Belgisch-witblauw rund
- Contaminatie van vaccinatiespuiten bij varkens

DE CREDELIO-FAMILIE PRESENTEERT:

Credelio™ PLUS

(lotilaner + milbemyicine oxime)

- Snelle afdoding van vlooien en teken met lotilaner
- PLUS vertrouwde bescherming tegen larvale* en adulte intestinale wormen met milbemyicine oxime
- PLUS preventie van longworm- en hartwormziekte
- Smakelijke, maandelijkse kauwtablet met acceptatie door 100% van de honden¹
- Voor honden en puppy's vanaf 8 weken en 1,4 kg of meer

* *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*.

¹ Elanco data on file. Studie met 355 honden behandeld door de eigenaar.

NIEUW
18 tab kliniekverpakkingen



Naam van het diergeneesmiddel Credelio Plus 56,25 mg/2,11 mg kauwtabletten voor honden (1,4-2,8 kg) Credelio Plus 112,5 mg/4,22 mg kauwtabletten voor honden (> 2,8-5,5 kg) Credelio Plus 225 mg/8,44 mg kauwtabletten voor honden (> 5,5-11 kg) Credelio Plus 450 mg/16,88 mg kauwtabletten voor honden (> 11-22 kg) Credelio Plus 900 mg/33,75 mg kauwtabletten voor honden (> 22-45 kg) **Werkzame bestanddelen:** Per kauwtablet: Credelio Plus tabletten voor honden (1,4-2,8 kg) 56,25 mg lotilaner + 2,11 mg milbemyicine oxime; Credelio Plus tabletten voor honden (> 2,8-5,5 kg) 112,5 mg lotilaner + 4,22 mg milbemyicine oxime; Credelio Plus tabletten voor honden (> 5,5-11 kg) 225 mg lotilaner + 8,44 mg milbemyicine oxime; Credelio Plus tabletten voor honden (> 11-22 kg) 450 mg lotilaner + 16,88 mg milbemyicine oxime; Credelio Plus tabletten voor honden (> 22-45 kg) 900 mg lotilaner + 33,75 mg milbemyicine oxime. **Doeliersoort(en)** Hond **Indicatie(s) voor gebruik met specificatie van de doeliersoort(en)** voor gebruik bij honden met, of met risico op, gemengde parasitaire infestaties/infecties van teken, vlooien, gastro-intestinale nematoden, hartworm en/of longworm. Dit diergeneesmiddel is geïndiceerd wanneer gelijktijdige behandeling tegen teken/vlooien en gastro-intestinale nematoden vereist is of wanneer behandeling tegen teken/vlooien en preventie van hartwormziekte/angiostrongylose gelijktijdig vereist zijn. **Teken en vlooien** voor de behandeling van infestaties door teken (*Dermacentor reticulatus*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus sanguineus* en *I. hexagonus*) en vlooien (*Ctenocephalides felis* en *C. canis*) bij honden. Dit diergeneesmiddel zorgt voor een onmiddellijke en aanhoudende dodelijke werking tegen teken en vlooien gedurende 1 maand. Het diergeneesmiddel kan worden gebruikt als onderdeel van een behandelingsstrategie voor het onder controle houden van allergische dermatitis veroorzaakt door vlooien (Ita allergy dermatitis, FAD). Gastro-intestinale nematoden De behandeling van gastro-intestinale nematoden: taakworm (L4, onvolgroeide volwassen (L5) en volwassen *Ancylostoma caninum*), rondworm (L4, onvolgroeide volwassen (L5) en volwassen *Toxocara canis* en volwassen *Toxascaris leonina*) en zweepworm (volwassen *Trichouris vulpis*) Hartworm Preventie van hartwormziekte (*Dirofilaria immitis*). Longworm Preventie van angiostrongylose door verlagen van het niveau van infectie met onvolgroeide volwassen (L5) en volwassen stadia van *Angiostrongylus vasorum* (longworm) met maandelijkse toediening. **Contra-indicaties** Niet gebruiken bij overgevoeligheid voor de werkzame bestanddelen of één van de hulpstoffen. **Speciale voorzorgsmaatregelen voor gebruik bij dieren** Alle veiligheids- en werkzaamheidsgegevens werden verkregen bij honden en pups van 8 weken en ouder en met een lichaamsgewicht van 1,4 kg en meer. Gebruik van dit diergeneesmiddel bij pups jonger dan 8 weken of met een lichaamsgewicht van minder dan 1,4 kg moet gebaseerd zijn op een baten-/risico beoordeling door de behandelende dierenarts. De aanbevolen dosis moet strikt in acht worden genomen bij honden met MDR1-mutatie (-/-) met niet-functioneel P-glycoproteïne, waarbij collies en verwante rassen kunnen behoren. Voorafgaand aan de eerste toediening moeten honden in gebieden waar hartworm endemisch is, of die gebieden hebben bezocht waar hartworm endemisch is, worden getest op bestaande hartworminfectie.

Naar oordeel van de dierenarts moeten besmette honden worden behandeld met een adulticide om volwassen hartwormen te doden. Toediening van diergeneesmiddelen met milbemyicine oxime (zoals dit diergeneesmiddel) aan honden met een groot aantal circulerende microfilariae wordt niet aanbevolen, om overgevoelighedsreacties in verband met het vrijkomen van eiwitten uit dode of stervende microfilariae te voorkomen. **Bijwerkingen (frequentie en ernst)** Gastro-intestinale verschijnselen (diarree en braken), anorexie, spiertrekkingen, lethargie, pruritus en veranderingen in het gedrag werden soms gemeld. Deze voorvallen waren over het algemeen zelfbeperkend en van korte duur. Neurologische verschijnselen (convulsie, spiertrekking en ataxie) werden zelden geregistreerd in de veiligheidsaantrekening na het in de handel brengen van de werkzame stof lotilaner gebruikt als een enkelvoudig werkzaam bestanddeel (Credelio) met dezelfde dosis als in dit diergeneesmiddel. Deze verschijnselen verdwijnen meestal zonder behandeling. De frequentie van bijwerkingen wordt als volgt gedefinieerd: - Zeer vaak (meer dan 1 op de 10 behandelde dieren vertonen bijwerkingen) - Vaak (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 100 behandelde dieren) - Soms (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 1.000 behandelde dieren) - Zelden (meer dan 1 maar minder dan 10 van de 10.000 behandelde dieren) - Zeer zelden (minder dan 1 van de 10.000 behandelde dieren, inclusief geïsoleerde rapporten). **Dosering en toedieningsweg** Oraal gebruik. Het diergeneesmiddel moet worden toegediend volgens de onderstaande tabel om te zorgen voor een dosis van 20 tot 41 mg lotilaner/kg lichaamsgewicht en 0,75 tot 1,53 mg milbemyicine oxime/kg lichaamsgewicht.

Lichaamsgewicht van de hond	Sterkte en aantal van toe te dienen Credelio Plus tabletten				
	56,25 mg/2,11 mg	112,5 mg/4,22 mg	225 mg/8,44 mg	450 mg/16,88 mg	900 mg/33,75 mg
1,4-2,8 kg	1				
> 2,8-5,5 kg		1			
> 5,5-11 kg			1		
> 11-22 kg				1	
> 22-45 kg					1
> 45 kg	Passende combinatie van tabletten				

Gebruik een passende combinatie van beschikbare sterktes om de aanbevolen dosis van 20-41 mg lotilaner/kg en 0,75-1,53 mg milbemyicine oxime/kg te verkrijgen voor dieren met een lichaamsgewicht van > 45 kg. Het behandelingsprogramma moet gebaseerd zijn op de individuele risicobeoordeling van de hond, de lokale epidemiologische situatie en/of de epidemiologische situatie in andere gebieden die de hond heeft bezocht of gaat bezoeken. Als de hond naar mening van de dierenarts herhaalde toediening(en) van het diergeneesmiddel nodig

heeft, moet(en) de opvolgende toediening(en) het intervalschema van 1 maand volgen. Het diergeneesmiddel moet worden gebruikt bij honden met, of met risico op, gemengde infestaties van ectoparasieten (teken en vlooien) en endoparasieten (gastro-intestinale nematoden en/of voor preventie van hartworm/longworm). Anders moet er een parasiticide met een smaller spectrum worden gebruikt. **Wise van toediening** Het diergeneesmiddel is een smakelijke geïmpregneerde kauwtablet. Dien de kauwtablet(en) met of na de maaltijd toe. Honden die in gebieden leven waar hartworm niet endemisch is. Het diergeneesmiddel kan worden gebruikt als onderdeel van de seizoensgebonden behandeling van teken en/of vlooien bij honden met gastro-intestinale, of met een risico op, gelijktijdige gastro-intestinale nematode-infecties of met een risico op longworm. Een eenmalige behandeling is doeltreffend voor de behandeling van gastro-intestinale nematoden. Honden die leven in gebieden waar hartworm endemisch is. Voorafgaand aan de behandeling met het diergeneesmiddel moet het advies in de rubrieken 4.4 en 4.5 in overweging worden genomen. Voor de preventie van hartwormziekte en de gelijktijdige behandeling van infestaties van teken en/of vlooien moet het diergeneesmiddel toegediend worden met regelmatige maandelijkse intervallen gedurende de tijd van het jaar wanneer muggen, teken en/of vlooien aanwezig zijn. De eerste dosis van het diergeneesmiddel mag worden gegeven na de eerste mogelijke blootstelling aan muggen, maar niet meer dan één maand na deze blootstelling. Wanneer het diergeneesmiddel wordt gebruikt ter verandering van een ander diergeneesmiddel ter preventie van hartwormen, moet de eerste dosis van het diergeneesmiddel gegeven worden binnen een maand na de laatste dosis van de voormalige medicatie. Honden die naar een regio met hartworm reizen moeten binnen een maand na hun aankomst daar beginnen met medicatie. De behandeling ter preventie van hartwormen moet worden voortgezet op maandelijkse basis, waarbij de laatste toediening 1 maand nadat de hond de regio heeft verlaten wordt gegeven. Longworm In endemische gebieden van minst maandelijkse toediening van het diergeneesmiddel het niveau van infectie met onvolgroeide volwassen (L5) en volwassen van *Angiostrongylus vasorum* in het hart en de longen. Het wordt aanbevolen dat preventie van longworm wordt voortgezet tot ten minste 1 maand na de laatste blootstelling aan naaktslekken en slakken. Vraag advies aan een dierenarts met betrekking tot informatie over het optimale tijdstip om te beginnen met de behandeling met dit diergeneesmiddel. **Naam van de houder van de vergunning voor het in de handel brengen** Elanco GmbH Heinz-Lohmann-Str. 4 27472 Cuxhaven Duitsland **Nummer(s) van de vergunning(en) voor het in de handel brengen** EU/2/21/271/001-020 Credelio Plus 56,25 mg/2,11 mg kauwtabletten voor honden (1,4-2,8 kg) REG NL 125940 Credelio Plus 112,5 mg/4,22 mg kauwtabletten voor honden (> 2,8-5,5 kg) REG NL 125941 Credelio Plus 225 mg/8,44 mg kauwtabletten voor honden (> 5,5-11 kg) REG NL 125942 Credelio Plus 450 mg/16,88 mg kauwtabletten voor honden (> 11-22 kg) REG NL 125943 Credelio Plus 900 mg/33,75 mg kauwtabletten voor honden (> 22-45 kg) REG NL 125944 **Datum van herziening van de tekst** 04/2021 Uitsluitend op diergeneeskundig voorschrijf - UDA

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

2022, vol. 91, nr. 2

INHOUD

Overzichtsartikel	Review
47 F.J. VAN KOOTWIJK, R. DUCATELLE Het Warburg-effect bij niet-neoplastische cellen: toekomstmogelijkheden voor het paard?	F.J. VAN KOOTWIJK, R. DUCATELLE The Warburg effect in non-neoplastic cells: future possibilities for horses?
Origineel artikel	Original article
55 M. HUISMANS, K. HERMANS, E. STOCK Echografische diagnose van levercoccidiose bij konijnen	M. HUISMANS, K. HERMANS, E. STOCK Ultrasonographic diagnosis of hepatic coccidiosis in rabbits
Vergelijkende studie	Comparative study
62 L. CORVELYN, G. DOMAIN, J. LANNOO, A. VAN SOOM, E. WYDOOGHE Vergelijking van twee kleuringsmethoden ter beoordeling van vaginale uitstrijkjes bij hond en kat	L. CORVELYN, G. DOMAIN, J. LANNOO, A. VAN SOOM, E. WYDOOGHE Comparison of two staining methods to assess vaginal smears in dogs and cats
Casuïstiek	Case report
69 L. GILLE, C. BAYROU, H. CASALTA, S. DJEBALA, J. EPPE, A. SARTELET Noodinterventie en nazorg van een obstructieve bovensteluchtwegaandoening bij een drachtig Belgisch-witblauw rund	L. GILLE, C. BAYROU, H. CASALTA, S. DJEBALA, J. EPPE, A. SARTELET Obstructive upper respiratory emergency in a pregnant Belgian blue heifer
Permanente vorming	Continuing education
75 A. MICHIELS, J. VRIELINCK, S. DALLE, D. MAES Contaminatiegraad van vaccinatiespuiten voor varkens en beïnvloedende factoren	A. MICHIELS, J. VRIELINCK, S. DALLE, D. MAES Degree of syringe contamination in pigs and influencing factors
Vraag en antwoord	
87 Waar komen afgestudeerde dierenartsen terecht? 88 Detectie van glutenallergie bij het paard	
Congressen	
94	
Uit de faculteit	
96	
SAVAB-nieuws	
74, 83 84, 92	
Uit het verleden – Over dieren - Dieren in de literatuur	

Coverfoto: Arnaud Sartelet

Het *Belgisch-witblauw* runderras is sinds zijn ontstaan in de 19de eeuw uitgegroeid tot het bekendste dubbelgespierde (dikbil) ras ter wereld. Dankzij deze spiermassa heeft het Belgisch-witblauw rund een uitzonderlijk hoog slachtrendement dat tot 70% kan bedragen, en heeft een hogere voederefficiëntie dan andere rassen. De dubbelbespierdheid heeft echter ook negatieve gevolgen: relatief gezien bezit een BWB-rund bijvoorbeeld een kleinere longoppervlakte en een nauwere larynx, wat zorgt voor een verhoogd aantal gevallen van necrobacillose binnen dit ras (cf. p. 69).

Tekst: Linde Gille

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT
ISSN 0303-9021
HTTPS://OPENJOURNALS.UGENT.BE/VDT

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

Redactiecomité:

P. Bols, B. Broeckx, E. Cox, J. De Smet, W. De Spiegelaere, M. Devreese, R. Ducatelle, M. Haspeslagh, M. Hesta, K. Houf, B. Pardon, D. Paepe, I. Polis, J. Saunders, F. Van Immerseel, A. Van Soom

Druk: Graphius

Traktaatweg 8, B-9041 Oostakker

Publiciteit:

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

Inlichtingen (voor auteurs) en Abonnementen:

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

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

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

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

Beknopte richtlijnen voor auteurs

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

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

De literatuuaraangave **in de tekst** dient als volgt te gebeuren: de naam van de auteur(s) en het jaar van publicatie (Voorbeeld: “... werd vroeger aangetoond (Brown, 1975; Brown en Ellis, 1975; Brown *et al.*, 1975)” ofwel “Brown (1975) toonde vroeger aan dan ...”. Er is dus geen 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 prostatic glands. *Journal of Reproduction and Fertility* 33, 539-543.

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

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

Editorial board:

P. Bols, B. Broeckx, E. Cox, J. De Smet, W. De Spiegelaere, M. Devreese, R. Ducatelle, M. Haspeslagh, M. Hesta, K. Houf, B. Pardon, D. Paepe, I. Polis, J. Saunders, F. Van Immerseel, A. Van Soom

Printed by: Graphius

Traktaatweg 8, B-9041 Oostakker

Advertisements:

Boerenbond – Mediaservice, 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
[HTTPS://OPENJOURNALS.UGENT.BE/VDT/](https://openjournals.ugent.be/vdt/)

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

Het Warburg-effect bij niet-neoplastische cellen: toekomstmogelijkheden voor het paard?

The Warburg effect in non-neoplastic cells: future possibilities for horses?

F.J. van Kootwijk, R. Ducatelle

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

Richard.ducatelle@ugent.be

SAMENVATTING

Het Warburg-effect, ook aerobe glycolyse genoemd, is een biochemische pathway die in de humane geneeskunde een belangrijke rol speelt in een grote verscheidenheid van disciplines. In dit overzichtsartikel worden de biochemische achtergrond en de voordelen van het Warburg-effect beschreven. Vervolgens worden een aantal fysiologische en pathologische processen besproken die een mogelijke relevantie hebben voor de diergeneeskunde van het paard. Daarbij wordt de rol van het Warburg-effect bij endocrinopathieën en laminitis benadrukt. Er wordt ook uitgebreid ingegaan op de rol van het Warburg-effect in het gastro-intestinale stelsel en in het ontstaan van colitis, dysbacteriose en koliek. Tot slot worden de verschillende manieren toegelicht waarop het Warburg-effect kan worden gediagnosticeerd en wordt besproken wat de mogelijke farmacologische interventies zijn.

Omdat het Warburg-effect bij verscheidene veterinaire pathologieën de 'missing link' zou kunnen zijn, is dit een belangrijk onderwerp dat verder wetenschappelijk onderzoek vergt.

ABSTRACT

The Warburg effect, or the aerobic glycolysis, is a biochemical pathway known for its importance in humane medical science, for example in oncology and immunology. In human medicine, there is a large amount of evidence for its existence and advantages. In veterinary medicine, there are a few physiological and pathological processes in the horse in which the Warburg effect may play a critical role. In endocrinopathies and in the development of laminitis, the Warburg effect may be the missing link. The effect is also known for its importance in the gastro-intestinal tract and may therefore be essential in the pathophysiology of colitis, dysbacteriosis and colic in horses.

If the Warburg effect is crucial in veterinary medicine, diagnostic possibilities and treatment options of the Warburg effect are of major importance. Because of the possible significance of the Warburg effect in equine veterinary medicine, more research is necessary.

INLEIDING

In 1925 ontdekte Otto Warburg dat tumorale cellen glucose op een andere manier metaboliseren dan niet-tumorale cellen, namelijk via aerobe glycolyse ofwel het Warburg-effect. Niet-tumorale cellen metaboliseren glucose in een aerobe omgeving via oxidatieve fosforylatie, die plaats vindt in de mitochondriën. Tumorale cellen daarentegen metaboliseren glucose in een aerobe omgeving via glycolyse (Warburg, 1925).

Sindsdien werd vastgesteld dat het Warburg-effect een rol blijkt te spelen in talloze celsystemen en pathologische processen.

Aangezien het Warburg-effect wijdverspreid voorkomt, is er een duidelijk voordeel van het effect voor niet-oncogene cellen. Kort opgesomd heeft het Warburg-effect de volgende voordelen:

- Snellere adenosinetriposfaat- (ATP) productie voor de homeostase en proliferatie van cellen (Pfeiffer et al., 2001; Lunt en VanderHeiden, 2011)

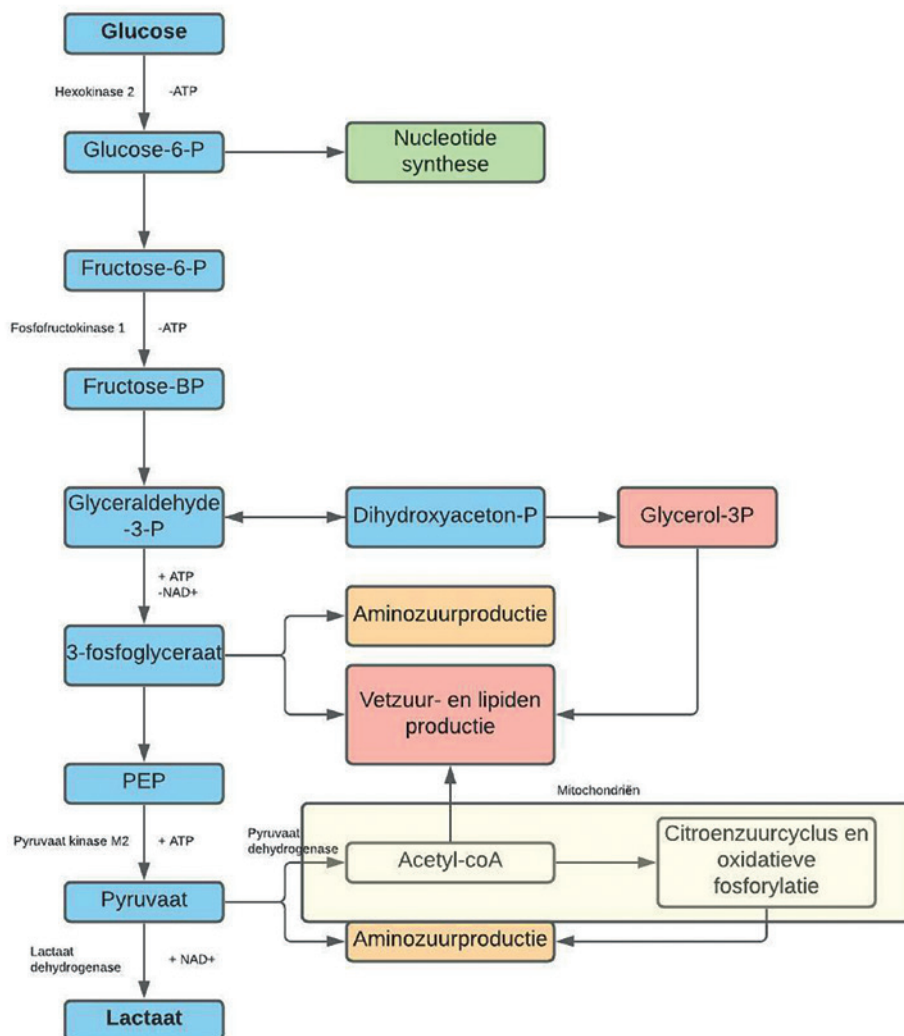
- ATP-productie voor het behoud van glycolytische flux (Berg et al., 2007)
- synthese van macromoleculen, zoals DNA, RNA, eiwitten en lipiden (Lunt en Vander Heiden, 2011) (Figuur 1)
- vermijden van vorming van schadelijke zuurstof-radicalen in de elektrontransportketen van mitochondriën (Brand en Hermfisse, 1997; Le et al., 2010; Holmström en Finkel, 2014)
- synthese van zuurstof radicaalvangers zoals pyruvaat (Rodríguez-Nogales, 2019)
- productie van NAD⁺ en NADPH (Feron, 2009; Lunt en Vander Heiden, 2011; Chiarugi et al., 2012)
- Opregulatie van glucosetransporters in de celwand en hierdoor een verhoogde glucoseopname in de cel (Abdel-Haleem et al., 2017).

Deze voordelen dragen bij tot de belangrijkste eigenschap van cellen die als dominante pathway aerobe glycolyse vertonen, namelijk de snel prolifererende

cellen. Tot de snel prolifererende cellen behoren zowel kankercellen als niet-kankercellen. Voor snelle proliferatie hebben deze cellen naast de opregulatie van aerobe glycolyse ook oxidatieve fosforylatie nodig. Dit betekent dat cellen die naar aerobe glycolyse als dominante pathway schakelen, functionerende mitochondriën hebben. Bijgevolg vereist het Warburg-effect geen defecte mitochondriën zoals lang aangenomen werd (Abdel-Haleem et al., 2017).

Naast een snelle proliferatie vertonen deze cellen ook eigenschappen als uitgebreide angiogenese, immuno-evasie en immunosuppressie, het vermijden van apoptose, etc. (Abdel-Haleem et al., 2017; Ganapathy-Kanniappan, 2017; Lunt en Vander Heiden, 2017).

De metabole shift naar het Warburg-effect wordt geïnduceerd door een aantal factoren. De belangrijkste bij niet-kankercellen zijn een verhoogde opname van glucose en een opregulatie van glucosetransporters (Abdel-Haleem et al., 2017), een opregulera-



Figuur 1. Grafische voorstelling van glycolyse met de belangrijkste enzymen en lactaat als eindproduct (blauwe vakjes, links). In de andere gekleurde vakjes wordt afgebeeld hoe verschillende biosynthetische processen kunnen ontstaan uit glycolyse (Naar: Lunt en Vander Heiden, 2011).

tie van pro-inflammatoire cytokines en pathways door weefschade of infectie (O'Neill en Hardie, 2013), een opregulatie van glycolytische enzymen, zoals PFKFB3 (6-fosfofructo-2-kinase/fructose-6-bisfosfatase-3 is een allosterische activator van PFK1, een van de twee snelheidsbeperkende enzymen van de glycolyse (Figuur 1)), pyruvaatkinase en hexokinase-2 (Bekkering et al., 2016), een downregulatie van pyruvaatdehydrogenase (Donohoe et al., 2012a) en een tekort aan butyraat in het gastro-intestinale stelsel (Donohoe et al., 2012a).

DE MOGELIJKE ROL VAN HET WARBURG-EFFECT BIJ INSULINERESISTENTIE-GERELATEERDE PATHOLOGIEËN EN LAMINITIS

Uit immunologisch onderzoek blijkt dat er een verband is tussen het Warburg-effect, een pro-inflammatoir fenotype van de immuuncellen en een pro-inflammatoire status van weefsels. Pro-inflammatoire cellen hebben een hoge opname van glucose, een hoge aerobe glycolytische flux en dus ook veel GLUT1-transporters op hun celmembranen. In een studie van Van Diepen et al. (2016) werd aangetoond dat hoge concentraties circulerend glucose zorgen voor een stimulatie van glycolyse via GLUT1-transporters en een pro-inflammatoir fenotype induceren bij immuuncellen, waaruit blijkt dat hyperglycemie direct gelinkt is aan een pro-inflammatoire status in het lichaam. Het hyperglycemie-geïnduceerde pro-inflammatoire fenotype in M1-macrofagen speelt een belangrijke rol in insulineresistentie (Freemerman et al., 2014). Insulineresistentie of insulinedysregulatie wordt namelijk versterkt door de aanwezigheid van M1-macrofagen in het vetweefsel. Dit leidt tot de inductie van een pro-inflammatoire status van de adipocyten, waardoor er een systemische insulineresistentie of insulinedysregulatie ontstaat (Johnson et al., 2013; Freemerman et al., 2014). Insulinedysregulatie is dus gelinkt aan de door het Warburg-effect geïnduceerde pro-inflammatoire status van het vetweefsel en de immuuncellen.

Insulinedysregulatie bij het paard houdt net als in de humane geneeskunde verband met disfunctie van het vetweefsel met een pro-inflammatoir fenotype. Insulinedysregulatie bij het paard leidt evenals bij de mens tot hyperinsulinemie en hyperglycemie. Hyperglycemie, hyperinsulinemie en insulinedysregulatie worden vastgesteld bij paarden met obesitas, equine metabool syndroom (EMS) en disfunctie van de pars intermedia van de hypofyse (PPID) (Durham et al., 2018). Deze aandoeningen hebben één risicofactor gemeenschappelijk, namelijk het risico op endocriopathische laminitis of hoefbevangenheid (Knowles en Grieve, 2020). Uit onderzoek blijkt dat insulinedysregulatie bij het paard leidt tot een histologische verandering ter hoogte van de lamellen van de hoef. Het cytoskelet van de lamellaire epitheelcellen wordt verstoord. Dit leidt tot loslating van de lamellaire epi-

theelcellen en lamellaire stretching, ofwel laminitis (Belknap et al., 2020).

Naast de endocriopathische vorm van laminitis zijn er nog twee andere vormen van laminitis bij het paard bekend, namelijk laminitis door overbelasting en sepsis-gerelateerde laminitis. Beide vormen vertonen dezelfde histologische veranderingen ter hoogte van de lamellen als de endocriopathische vorm van laminitis (Belknap et al., 2020).

Bij de sepsis-gerelateerde vorm van laminitis wordt er een uitgesproken inflammatoire reactie waargenomen in het lamellaire weefsel met de productie van een groot aantal pro-inflammatoire cytokines tot gevolg (Belknap, et al., 2020). Het ontstaan van een pro-inflammatoir fenotype in de lamellaire epitheelcellen doet een shift naar het Warburg-effect vermoeden. Wanneer het metabolisme van de lamellaire cellen in deze vorm van laminitis in beschouwing wordt genomen, blijkt er bovendien een disfunctie van de mitochondriale respiratie te zijn (Belknap et al., 2020). Mitochondriale disfunctie vereist een shift naar glycolyse om aan de ATP-eis van lamellaire epitheelcellen te voldoen. Vermoedelijk vindt er dan ook een shift naar aerobe glycolyse plaats. Verder wetenschappelijk onderzoek is echter noodzakelijk.

De rol van het Warburg-effect bij koliek

Lactaat speelt een belangrijke rol in het gastro-intestinale stelsel. Lactaat kan op twee manieren worden geproduceerd, namelijk cellulair ofwel L-lactaat, en bacterieel ofwel D-lactaat. Het verschil tussen cellulair en bacterieel lactaat is stereo-isomerie, i.e. de linksdraaiende of rechtsdraaiende eigenschap (Gillis et al., 2018).

D-lactaat dat wordt geproduceerd in het gastro-intestinale stelsel, bindt op de GPR81-receptor van mucosale dendritische cellen en macrofagen in het colon. Bij fysiologische concentraties van D-lactaat leidt dit tot een anti-inflammatoir fenotype van het colon (Ranganathan et al., 2018).

Uit een studie van Vernia et al. (1988) blijkt echter dat er een significante correlatie bestaat tussen intraluminaal lactaatconcentraties en colitis. Uit deze studie blijkt ook dat er een positieve correlatie is tussen de concentratie lumaal lactaat en de ernst van de colitis: bij extreem hoge lumaal lactaatconcentraties werd in die studie de hoogste graad van colitis vastgesteld. Hieruit blijkt dus dat een pathologische stijging van intraluminaal lactaat leidt tot een pro-inflammatoir fenotype. Onderzoek van Gillis et al. (2018) wijst uit dat een stijging van intraluminaal lactaat van cellulaire oorsprong is en in een aerob milieu gebeurt. Inflammatie-geassocieerde dysbiose is dus gelinkt aan een shift naar aerobe glycolyse en de productie van intraluminaal L-lactaat. Uit deze studie blijkt ook dat hoge lactaatconcentraties geassocieerd zijn met lage butyraatconcentraties. Bij paarden met koliek worden

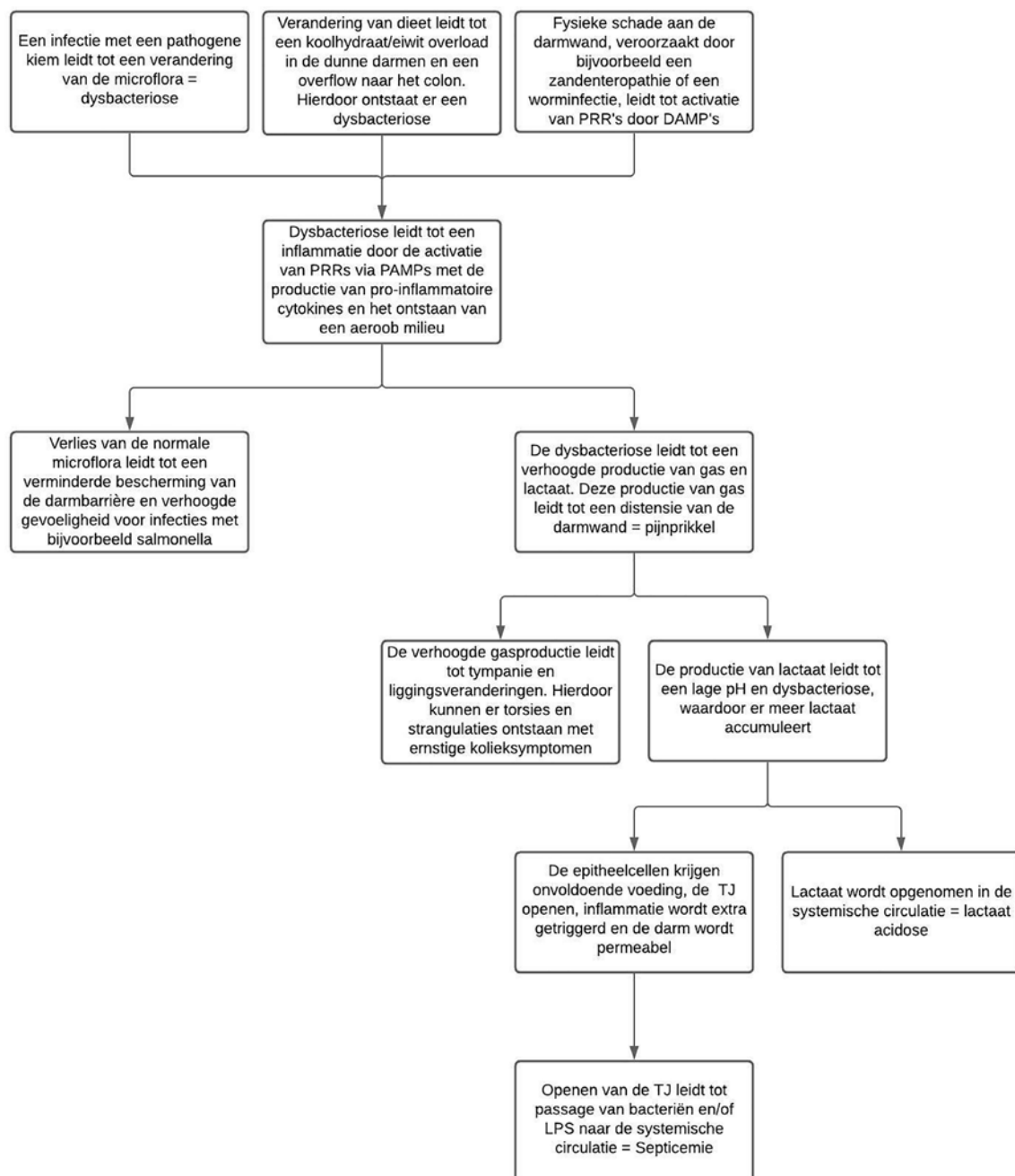
vaak zeer hoge concentraties lactaat aangetroffen, zowel in de darmen als in de peritoneale holte (Delesalle et al., 2007; Park et al., 2021) (Figuur 2).

WISSELWERKING TUSSEN BUTYRAAT EN LACTAAT, HET WARBURG-EFFECT EN HET MOGELIJK VERBAND MET KOLIEK

Butyraat is een vluchtig vrij vetzuur dat wordt geproduceerd in het anaerobe milieu van het colon en cecum. Butyraat heeft een belangrijk anti-inflammatoir effect op de colonocyten en versterkt de darmbarrière.

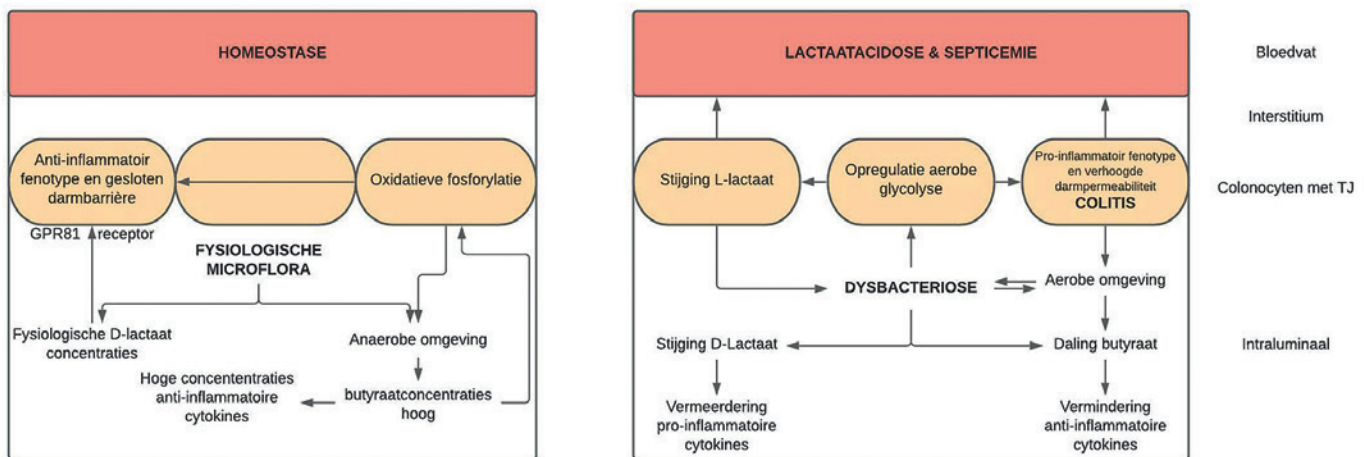
Een goede darmbarrière vermijdt lekkage van antigenen naar het lymfoïde weefsel en hiermee een lokale en systemische inflammatie. Daarnaast vermijdt het ook de translocatie van pathogene bacteriën naar de algemene circulatie en het ontstaan van septicemie en systemische inflammatie (Donohoe et al., 2012a; Donohoe et al., 2012b; Kaiser et al., 2017; Belizario et al., 2018; Fachi et al., 2019) (Figuur 3).

Intraluminaal butyraat is de belangrijkste bron van ATP voor de colonocyten via β -oxidatie en oxidatieve fosforylatie. De afwezigheid van intraluminaal butyraat tijdens dysbiose leidt tot een intracellulaire stijging van L-lactaat in de colonocyten doordat er



Figuur 2. Kort overzicht van de pathofysiologie van koliek bij het paard (Naar: Arena et al., 2017; Belizario et al., 2018; Gillis et al., 2018; Sanchez, 2018).

TJ = “Tight junctions”; PRRs = “pattern recognition receptors”; DAMPs = “damage associated molecular patterns”; LPS = lipopolysacharide



Figuur 3. Overzicht van de verschillende metabole pathways in normale colonocyten en pathologische colonocyten.

een verhoogde opname is van glucose dat via het Warburg-effect gemetaboliseerd wordt (Donohoe et al., 2012a). Een stijging van intraluminaal butyraat leidt tot inhibitie van het Warburg-effect door een shift naar oxidatieve fosforylatie. Andersom leidt inhibitie van het Warburg-effect tot een daling van intestinaal L-lactaat en een stijging van β -oxidatie van butyraat (Gillis et al., 2018). Wanneer de shift naar het Warburg-effect in de colonocyten gebeurt, is er geen gebruik van gediffundeerde zuurstof in de oxidatieve fosforylatie en lekt deze zuurstof dus via diffusie naar het darmlumen. Dit veroorzaakt een shift van een anaeroob naar een aeroob milieu in het colon (Gillis et al., 2018) en leidt tot het afsterven van obligaat anaerobe, butyraat-producerende bacteriën (Figuur 3).

Dalende concentraties van intraluminaal butyraat gaan gepaard met een verlies van regulatie van pro-inflammatoire cytokines en dus met het ontstaan van een pro-inflammatoir fenotype in het colon. Cellen die een shift ondergaan naar het Warburg-effect, nemen ook een pro-inflammatoir fenotype aan. Beide leiden tot het ontstaan van dysbiosis-geassocieerde colitis.

Het pro-inflammatoir fenotype brengt een verhoogde vasculaire permeabiliteit in het gastro-intestinale stelsel teweeg. Dit veroorzaakt op zijn beurt een verdere lekkage van zuurstof naar het lumen van de darm en dus een meer aeroob milieu, met een toename van pathogene bacteriën tot gevolg (Gillis et al., 2018). Daarnaast is er ook lekkage van pathogenen, LPS en lactaat naar de algemene circulatie, waardoor er endotoxemie, septicemie, hyperlactatemie en lactaatacidose ontstaan (Sanchez, 2018). Het systemisch geabsorbeerde intestinale lactaat leidt tot een verergering van de septicemie door onder andere immunosuppressie van T-cellen en macrofagen, die gezien wordt bij paarden met een verstoorde darmbarrière door colitis, dysbacteriose en algemene koliek (Awasthi et al., 2019; Ganapathy-Kanniappan, 2017; Yang et al., 2014) (Figuur 3).

Het is belangrijk om bij hyperlactatemie en lactaatacidose een onderscheid te maken tussen type A (een

stijging van lactaat door hypoperfusie of hypoxie) en type B, waarbij er een stijging van lactaat ontstaat onder normale zuurstofconcentraties, zoals bij sepsis, endotoxemie en “systemic inflammatory response syndrome” (SIRS). Hierbij zijn een verhoging van aerobe glycolyse en de inhibitie van oxidatieve fosforylatie de oorzaak van de lactaatstijging (Neil, 2008; Tennent-Brown et al., 2008). Volgens Tennent-Brown et al. (2008) is een persisterend verhoogde lactaatconcentratie suggestief voor hyperlactatemietype B. Daarnaast stelden deze auteurs vast dat de lactaatconcentratie bij het paard een belangrijke factor is voor de prognose van endotoxemie, SIRS en septicemie. Volgens de studie leidt elke mmol/L lactaat tot een 7,3x hogere kans op sterfte en houdt een slechte klaring van lactaat eveneens verband met een verhoogde kans op sterfte.

Uit het onderzoek van Tennent-Brown et al. (2008) blijkt dus dat het Warburg-effect een belangrijke rol speelt in systemische inflammatie, hyperlactatemie en lactaatacidose bij het paard en dat dit een negatieve invloed heeft op de prognose.

AANTONEN VAN HET WARBURG-EFFECT

Volgens de auteurs werd in de literatuur nog niet beschreven of het Warburg-effect ook daadwerkelijk een rol speelt in de pathologie en fysiologie van het paard. Om het Warburg-effect aan te tonen, dient eerst de aanwezigheid of opregulatie van de glycolyse bevestigd te worden en vervolgens de aanwezigheid van een aeroob milieu. Om glycolyse aan te tonen, kunnen het eindproduct, L-lactaat (Higgins, 2011; Gillis et al., 2018) of glycolytische sleutelenzymen aangetoond worden. Een aantal interessante sleutelenzymen zijn PFKFB3, HK2 en PKM2. Deze kunnen worden bevestigd via een mRNA-expressie-analyse, western blot of via ELISA (Donohoe et al., 2012b; Alves-Filho en Pålsson-McDermott, 2016; Bekkering et al., 2016; Almousa et al., 2018). Het aantonen van een aeroob

milieu is uitdagender. Hierbij zijn er twee opties. Er kan in vivo een aerob milieu aangetoond worden door de omstandigheden te beschouwen waarin het staal is bekomen. Anderzijds kan gebruik gemaakt worden van celculturen, waarbij een aerob milieu gecreëerd wordt en zo de OCR/ECAR-ratio (“oxygen consumption rate”/ “extracellular acidification rate”, i.e. een maat voor de lactaatproductie) kan bepaald worden (Zhou et al., 2017).

HET WARBURG-EFFECT ALS MOGELIJK DOELWIT VOOR EEN NIEUWE GENERATIE VAN THERAPEUTISCHE FARMACA BIJ HET PAARD: EEN TOEKOMSTPERSPECTIEF

In de humane geneeskunde zijn meerdere farmaceutische preparaten beschikbaar om het Warburg-effect te beïnvloeden. De preparaten lijken ook veelbelovend voor de diergeneeskunde. Glycerylbutyraat (Tributyryn) is een orale vorm van butyraat die leidt tot een daling van L-lactaatconcentraties bij muizen met dysbiose. Daarnaast heeft butyraat een anti-inflammatoir en celproliferatie-stimulerend effect (Gillis et al., 2018). In de literatuur werden reeds enkele studies beschreven naar het gebruik van butyraat bij paarden. In 2004 werd het effect van butyraat in vitro onderzocht op colonepitheelcellen van het paard die beschadigd waren door oxidatie (Rotting et al., 2004). In die studie werd geen stimulerend effect vastgesteld op het herstel van colonocyten. Volgens de auteurs van dat onderzoek lag dit mogelijk aan de opzet van de studie. In een studie van Wambacq et al. (2020) werd in vivo gecoat butyraat toegediend aan gezonde paarden, maar dat gaf slechts een zeer gering effect op de darmgezondheid. Wat het effect van butyraat is op een gecompromitteerde darmgezondheid bij paarden is nog onbekend.

Pyruvaat is een veelbelovende molecule in de behandeling van endotoxemie bij het paard. Calciumpyruvaat-monohydraat (CPM) is een stabiele vorm van pyruvaat die oraal toegediend kan worden. CPM werkt anti-inflammatoir, analgetisch en vermindert reactieve zuurstofcomponenten (ROS) door zijn eigenschap als radicaal “scavenger” (Rodriguez-Nogales et al., 2019). Ethylpyruvaat is een andere stabiele vorm van pyruvaat. Het heeft een anti-oxidatief en een anti-inflammatoir effect door de onderdrukking van LPS-geïnduceerde TNF α , IL-1 β -, IL6- en IL8-productie. Het toedienen van ethylpyruvaat aan LPS-gestimuleerde equine monocytten resulteert ook in een daling van TNF α , IL1 β -, IL6- en IL 8-concentraties, zowel voorafgaand aan als na stimulatie met LPS. Daarnaast is ethylpyruvaat een veilig geneesmiddel zonder negatieve effecten op de leefbaarheid van monocytten. In een in-vivostudie van Jacobs et al. (2012) verminderde de toediening van ethylpyruvaat aan paarden met LPS-geïnduceerde endotoxemie de klinische effecten van endotoxemie en de expressie van pro-inflammatoire genen beter dan flunixin-meglumine. Ethylpy-

ruvaat is aldus een zeer interessante farmacologische kandidaat voor de behandeling van endotoxemie bij paarden (Cook et al., 2011; Schroeder et al., 2011).

Metformine induceert het Warburg-effect maar werkt anti-inflammatoir en verlaagt systemische glucoseconcentraties, doordat het leidt tot een daling van hepatische gluconeogenese en een verhoging van glucose-opname (Andrzejewski et al., 2014). Metformine zorgt ook voor een herprogrammering van M1-macrofagen tot M2-macrofagen door de inhibitie van getrainde immuniteit (Van Diepen et al., 2016). Bovendien leidt metformine tot de inhibitie van de productie van ROS en IL-1 α door macrofagen (Pålsson-McDermott en O’Neill, 2020). Metformine wordt gebruikt in de behandeling van het equine metabool syndroom, omdat het een daling geeft van basale insulineconcentraties. De biologische beschikbaarheid van metformine is echter laag bij paarden en er is geen systemisch effect. Daarom wordt het effect van metformine bij paarden toegeschreven aan een lagere enterische glucose-absorptie (Durham et al., 2019).

DISCUSSIE

Om uiteindelijk tot duidelijke en wetenschappelijk correcte conclusies te komen over het Warburg-effect bij het paard, is verder fundamenteel onderzoek noodzakelijk. Zonder duidelijk wetenschappelijk bewijs is de rol die het Warburg-effect speelt in de verschillende pathologieën en de normale fysiologie van het paard, en bij uitbreiding van andere diersoorten, hypothetisch.

Op basis van de literatuur in de humane geneeskunde kunnen echter wel enkele hypothesen opgesteld worden inzake de rol van het Warburg-effect bij het paard en kunnen de volgende vragen gesteld worden voor verder onderzoek: Leidt insulinedysregulatie bij het paard tot een door het Warburg-effect-geïnduceerde pro-inflammatoire status van het vetweefsel en immuuncellen? Speelt het Warburg-effect een rol in de histologische veranderingen in lamellaire epitheelcellen bij paarden met insulinedysregulatie? Wordt colitis bij het paard mede veroorzaakt door een dysbacteriose-geïnduceerde opregulatie van het Warburg-effect? Indien deze laatste vraag beantwoord kan worden, wordt duidelijk of aerobe glycolyse een belangrijke oorzaak is in het ontstaan van inflammatie van het gastro-intestinale stelsel na dysbacteriose, wat de trigger kan zijn voor koliek, colitis, sepsis en endotoxemie. In de humane geneeskunde werd een onderzoek verricht dat hier antwoord kan bieden (Almoussa et al., 2017). In deze studie werd PKM2 bepaald via een ELISA-test in een intestinaal in-vitro-epitheelmodel, waarbij inflammatie werd geïnduceerd met LPS en TNF α , en in serum en feces van patiënten met “inflammatory bowel disease” (IBD); dit om aan te tonen dat PKM2 een indicator is voor Warburg-effect-geïnduceerde inflammatie en dysbacteriose. Wanneer dit onderzoek herhaald wordt in een in-vitro- en in-

vivomodel bij paarden met colitis, kan worden aangetoond dat het Warburg-effect een “missing link” is in de inflammatie van het gastro-intestinale stelsel.

Om na te gaan of 1. butyraat een preventieve werking heeft bij paarden die een risico hebben om colitis te ontwikkelen, of 2. het toedienen van butyraat een effect op het herstel en de prognose van paarden met colitis, dysbacteriose of koliek en van paarden na een koliekoperatie heeft, kunnen de butyraat- en lactaatconcentraties van paarden met colitis, dysbacteriose en/of koliek in de feces gemeten en vergeleken worden met de concentraties van een gezonde controlepopulatie. Om gedurende enkele dagen de lactaat- en butyraatconcentraties in de feces te meten, kan vervolgens butyraat toegediend worden volgens de studie van Wambacq et al. (2020). Enerzijds zou op deze manier kunnen worden aangetoond dat er een shift is van hoge concentraties intraluminaal butyraat naar hoge concentraties intraluminaal L-lactaat bij paarden met gastro-intestinale problemen en anderzijds kan de werking van exogeen toegediend butyraat aangetoond worden (Gillis et al., 2018).

Indien de biologische beschikbaarheid van metformine verbeterd kan worden, kan in verder onderzoek nagegaan worden of metformine dan ook een systemisch anti-inflammatoir effect heeft door de beïnvloeding van het Warburg-effect bij paarden met EMS, obesitas en laminitis.

CONCLUSIE

Het Warburg-effect speelt een belangrijke rol in de fysiologie en pathologie van de mens. Het lijkt dus niet onlogisch dat het ook een belangrijke rol speelt in de fysiologie en pathologie van het paard. Het Warburg-effect zou de oorzaak of de ‘missing link’ kunnen zijn in een aantal pathologische processen bij het paard. Daarom is het van uitermate belang dat er meer onderzoek wordt gedaan naar de rol van het Warburg-effect in de diergeneeskunde.

LITERATUUR

Abdel-Haleem, A.M., Lewis N.E., Jamshidi N., Mineta K., Gao X., Gojobori T., (2017). The emerging facets of non-cancerous Warburg Effect. *Frontiers in Immunology* 8, 279.

Almoussa A.A., Morris M., Fowler S., Jones J., Alcorn J. (2017). Elevation of serum pyruvate kinase M2 (PKM2) in IBD and its relationship to IBD indices. *Clinical Biochemistry* 53, 19-24.

Alves-Filho J.C., Pålsson- McDermott E.M. (2016). Pyruvate kinase M2: A potential target for regulating inflammation. *Frontiers in Immunology* 7, 145.

Andrzejewski, S., Gravel, S. P., Pollak, M., St-Pierre, J. (2014). Metformin directly acts on mitochondria to alter cellular bioenergetics. *Cancer & Metabolism* 2, 12.

Arena, E. T., Tinevez, J. Y., Nigro, G., Sansonetti, P. J., Marteyn, B. S. (2017). The infectious hypoxia: occur-

rence and causes during Shigella infection. *Microbes and infection* 19(3), 157–165.

Awasthi D., Nagarkoti S., Sadaf S., Chandra T., Kumar S., Dikshit M. (2019). Glycolysis dependent lactate formation in neutrophils: A metabolic link between NOX-dependent and independent NETosis. *Biochimica et Biophysica acta. Molecular Basis of Disease* 1865(12), 165-542.

Belknap J., Parks A., Dern K. (2020). Laminitis. In: Baxter, G. M. Adams and Stashak (Editors). *Lameness in Horses*. Seventh edition, Wiley-Blackwell, Hoboken, p. 490-511.

Bekkering S., van den Munckhof I., Nielen T., Lamfers E., Dinarello C., Rutten J., de Graaf J., Joosten L.A.B., Netea M.G., Gomes M.E.R., Riksen N.P. (2016). Innate immune cell activation and epigenetic remodelling in symptomatic and asymptomatic atherosclerosis in humans in vivo. *Atherosclerosis* 254, 228-236.

Belizário, J. E., Faintuch, J., Garay-Malpartida, M. (2018). Gut microbiome dysbiosis and immunometabolism: new frontiers for treatment of metabolic diseases. *Mediators of Inflammation*, doi: 10.1155/2018/2037838.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto G.J., Stryer, L. (2007). Glycolysis and gluconeogenesis. In: Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. (Editors). *Biochemistry*. Eighth edition, W.H. Freeman & company, New York, p. 449-494.

Brand K.A., Hermfisse U. (1997). Aerobic glycolysis by proliferating cells: A protective strategy against reactive oxygen species. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 11(5), 388–395.

Chiarugi A., Dölle C., Felici R., Ziegler M. (2012). The NAD metabolome – a key determinant of cancer cell biology. *Nature reviews. Cancer* 12(11), 741–752.

Cook, V. L., Holcombe, S. J., Gandy, J. C., Corl, C. M., Sordillo, L. M. (2011). Ethyl pyruvate decreases proinflammatory gene expression in lipopolysaccharide-stimulated equine monocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 141(1-2), 92–99.

Delesalle C., Dewulf J., Lefebvre R.A., Schuurkes J.A.J., Proot J., Lefere L., Deprez P. (2007). Determination of lactate concentrations in blood plasma and peritoneal fluid in horses with colic by an accusport analyzer. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21, 293–301.

Van Diepen J.A., Thiem K., Stienstra R., Riksen N.P., Tack C.J., Netea M.G. (2016). Diabetes propels the risk for cardiovascular disease: sweet monocytes becoming aggressive? *Cellular and Molecular life science* 73, 4675-4684.

Donohoe D.R., Wali A., Brylaswski B.P., Bultman S.J. (2012a). Microbial regulation of glucose metabolism and cell cycle progression in mammalian colonocytes. *Plos One* 7(9), e46589.

Donohoe D.R., Collins L.B., Wali A., Bigler R., Sun W., Bultman S.J. (2012b). The Warburg effect dictates the mechanism of butyrate-mediated histone acetylation and cell proliferation. *Molecular cell* 48, 612-626.

Durham, A. E., Frank, N., McGowan, C. M., Menzies-Gow, N. J., Roelfsema, E., Vervuert, I., Feige, K., Fey, K. (2019). ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(2), 335–349.

Fachi, J. L., Felipe, J. S., Pral, L. P., da Silva, B. K., Corrêa, R. O., de Andrade, M., da Fonseca, D. M., Basso, P. J., Câmara, N., de Sales E Souza (2019). Butyrate Protects Mice from Clostridium difficile-Induced Colitis through

- an HIF-1-Dependent Mechanism. *Cell reports* 27(3), 750–761.
- Feron O. (2009). Pyruvate into lactate and back: from the Warburg Effect to symbiotic energy fuel. *Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* 92(3), 329–333.
- Freemerman A.J., Johnson A.R., Sacks G.N., Milner J.J., Kirk E.L., Troester M.A., Macintyre A.N., Goraksha-Hicks P., Rathmell J.C., Makowski L. (2014). Metabolic reprogramming of macrophages: glucose transporter 1 (GLUT1)-mediated glucose metabolism drives a proinflammatory phenotype. *Journal of Biological Chemistry* 289, 7884–7896.
- Ganapathy-Kanniappan, S. (2017). Linking tumor glycolysis and immune evasion in cancer: Emerging concepts and therapeutic opportunities. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1868(1), 212–220.
- Gillis C.C., Hughes E.R., Spiga L., Winter M.G., Zhu W., Furtado de Carvalho T., Chanin R., Behrendt C.L., Hooper L.V., Santos R.L., Winter S.E. (2018). Dysbiosis-associated change in host metabolism generates lactate to support Salmonella growth. *Cell Host Microbe* 23(1), 54–64.
- Higgins C. (2011). L-lactate and D-lactate - clinical significance of the difference. Acuratetesting.org
- Holmström K.M., Finkel T. (2014). Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 15(6), 411–421.
- Kaiser M.M., Pelgrom L.R., van der Ham A.J., Yazdankhsh M., Everts B. (2017). Butyrate conditions human dendritic cells to prime type 1 regulatory T cells via both histone deacetylase inhibition and G-protein coupled receptor 109A signalling. *Frontiers in Immunology* 8, 1429.
- Knowles E.J., Grieve L. (2020). Clinical insights: equine obesity. *Equine Veterinary Journal* 52(5), 635–638.
- Johnson A.R., Milner J.J., Makowski L. (2013). The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunological Reviews* 249(1), 218–238.
- Jacobs, C. C., Holcombe, S. J., Cook, V. L., Gandy, J. C., Hauptman, J. G., Sordillo, L. M. (2012). Ethyl pyruvate diminishes the inflammatory response to lipopolysaccharide infusion in horses. *Equine Veterinary Journal* 45(3), 333–339.
- Le A., Cooper C.R., Gouw A.M., Dinavahi R., Maitra A., Deck L.M., Royer R.E., Vander Jagt D.L., Semenza G.L., Dang C.V., (2010). Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(5), 2037–2042.
- Lunt S.Y., Vander Heiden M.G. (2011). Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 27, 441–464.
- O'Neill, L., Hardie, D. (2013). Metabolism of inflammation limited by AMPK and pseudo-starvation. *Nature* 493, 346–355.
- Neil, K. (2008). How to use lactate in equine practice. *The Australian Equine Veterinarian* 27 (4), 34–48.
- Pålsson-McDermott, E.M., O'Neill, L.A.J. (2020). Targeting immunometabolism as an anti-inflammatory strategy. *Cell Research* 30(4), 300–314.
- Park T., Cheong H., Yoon J., Kim A., Yun Y., Unno T. (2021). Comparison of the fecal microbiota of horses with intestinal disease and their healthy counterparts. *Veterinary Sciences* 8, 113.
- Pfeiffer T., Schuster S., Bonhoeffer S. (2001). Cooperation and competition in the evolution of ATP-producing pathways. *Science* 292(5516), 1821–1830.
- Ranganathan P., Shanmugam A., Swafford D., Suryawanshi A., Bhattacharjee P., Hussein M.S., Koni P.A., Prasad P.D., Kurago Z.B., Thangaraju M., Ganapathy V., Manicassamy S. (2018). GPR81, a cell-surface receptor for lactate, regulates intestinal homeostasis and protects mice from experimental colitis. *Journal of Immunology* 200(5), 1781–1789.
- Rodríguez-Nogales, A., Algieri F., Vezza T., Garrido-Mesa J., Moline-Tijeras J.A., Rodríguez-Cabezas M.E., Utrilla M.P., Pischel I., Gálvez J. (2019). Calcium pyruvate exerts beneficial effects in an experimental model of irritable bowel disease induced by dca in rats. *Nutrients*. doi:10.3390/nu11010140.
- Rotting, A. K., Freeman, D. E., Constable, P. D., Eurell, J. A. C., Wallig, M. A. (2004). Effects of phenylbutazone, indomethacin, prostaglandin E2, butyrate, and glutamine on restitution of oxidant-injured right dorsal colon of horses in vitro. *American Journal of Veterinary Research* 65(11), 1589–1595.
- Sanchez L.C. (2018). Disorders of the gastrointestinal system. In: Reed, S. M., Sellon, D. C. en Bayly, W. M *Equine Internal Medicine*. Fourth edition, Elsevier, St. Louis, p. 709–842.
- Schroeder, E. L., Holcombe, S. J., Cook, V. L., James, M. D., Gandy, J. C., Hauptman, J. G., Sordillo, L. M. (2011). Preliminary safety and biological efficacy studies of ethyl pyruvate in normal mature horses. *Equine Veterinary Journal* 43(3), 341–347.
- Tennent-Brown B.S., Boston R.C., Wilkins P.A. (2008). Admission and sequentially measured plasma lactate concentrations as prognostic indicators in adult equine emergencies. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22, 754.
- Vernia P., Caprilli R., Latella G., Barbetti F., Magliocca F.M., Cittadine M. (1988). Fecal lactate and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 95, 1564–1568.
- Wambacq W. A., van Doorn D. A., Rovers-Paap P. M., Ducatelle R., Vlaminck L., Lourenço M., Hesta, M. (2020). Dietary supplementation of micro-encapsulated sodium butyrate in healthy horses: effect on gut histology and immunohistochemistry parameters. *BMC Veterinary Research* 16(1), 121.
- Warburg O. (1925). The metabolism of carcinoma cells. *The journal of Cancer Research* 9, 148–163.
- Yang, L., Xie, M., Yang, M., Yu, Y., Zhu, S., Hou, W., Kang, R., Lotze, M. T., Billiar, T. R., Wang, H., Cao, L., Tang, D., (2014). PKM2 regulates the Warburg effect and promotes HMGB1 release in sepsis. *Nature Communications* 5, 4436.
- Zhou W., Ramachandran D., Mansouri A., Dailey M.J. (2017). Glucose stimulates intestinal epithelial crypt proliferation by modulating cellular energy metabolism. *Journal of Cellular Physiology* 233, 3465–3475.

Ultrasonographic diagnosis of hepatic coccidiosis in rabbits

Echografische diagnose van levercoccidiose bij konijnen

¹M. Huismans, ²K. Hermans, ³E. Stock

¹Dierenarts@home, Breukelsestraat 9, 5281 HA, Boxtel, the Netherlands

²Department of Pathobiology, Pharmacology and Zoological Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, 9820 Merelbeke, Belgium

³Department of Morphology, Medical Imaging, Orthopedics, Physiotherapy and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, 9820 Merelbeke, Belgium

Emmelie.stock@ugent.be

ABSTRACT

Eimeria (E.) stiedae is a protozoan parasite causing hepatic coccidiosis in rabbits. It mostly infects younger animals and causes nonspecific signs like stunted growth, weakness, dehydration, diarrhea and anorexia. Macroscopically, the liver has a typical appearance. It is enlarged, showing firm yellow-white lesions on the surface. These lesions are enlarged bile ducts filled with bile and necrotic debris. Although all diagnostic tools for hepatic coccidiosis in live animals are currently impracticable or inconclusive, ultrasound might be useful for the diagnosis of hepatic coccidiosis. However, the appearance of liver changes associated with *E. stiedae* on ultrasonography has poorly been described in the literature.

In this study, ex-vivo ultrasound of 24 livers was performed, i.e. the livers of two healthy rabbits and 22 livers of rabbits with suspected liver coccidiosis. Hyperechoic lesions of variable size and shape were found in all affected livers. In some of these livers, other signs of hepatic disease were detected: heterogenous liver parenchyma, appearance of hepatomegaly with round edges, gallbladder sludge and thickening of the gallbladder wall.

SAMENVATTING

Eimeria stiedae is een parasitair protozoair organisme dat levercoccidiose veroorzaakt. Het leidt vooral tot ziekte bij jongere konijnen en veroorzaakt daarbij niet-specifieke symptomen, zoals zwakte, diarree en anorexie. Post mortem kent het een duidelijke pathologie, i.e. een vergrote lever en stevige geel-witte laesies. Deze laesies zijn vergrote galgangen gevuld met gal en necrotisch materiaal.

Alhoewel de technieken om levercoccidiose te diagnosticeren tot op heden omslachtig of niet-sluitend zijn, kan echografie mogelijk een goed diagnostisch middel zijn. In de literatuur werd het echografisch uitzicht van levercoccidiose tot nu toe echter zeer weinig beschreven.

In dit onderzoek werden 24 levers beoordeeld met behulp van echografie, twee van gezonde konijnen en 22 van konijnen verdacht van levercoccidiose. Al deze levers vertoonden hyperechogene laesies die varieerden in grootte en vorm. Daarnaast vertoonden enkele levers ook andere tekenen van leverziekte, i.e. heterogeen parenchym, leververgroting met afgeronde randen, galblaas met neerslag en een verdikte galblaaswand.

INTRODUCTION

Coccidiosis, caused by the protozoan parasite *Eimeria*, is commonly found in young rabbits. *Eimeria* is a pathogen that most often causes lesions and disease in animals kept in crowded and/or unsanitary

conditions, for example in breeding facilities (Buseth and Saunders, 2015). There are multiple coccidia (*Eimeria*) species causing intestinal coccidiosis in rabbits, and mixed infections can occur (Duszynski and Couch, 2013). In total, 16 *Eimeria* species can infect rabbits (Harcourt-Brown, 2014). *Eimeria stiedae* is

the only species causing hepatic coccidiosis. It can infect any rabbit, but clinical presentation occurs most often in young rabbits, up to the post-weaning period (five to eight weeks). The signs are nonspecific, i.e. stunted growth, weakness, dehydration, diarrhea (watery to mucoid, sometimes bloody) and anorexia (Redrobe, 2013). Especially in young rabbits, it can occasionally be fatal (Gomez-Bautista et al., 1987). According to Sivajothi et al. (2016), adults can become carriers of the disease, and thereby be the source of infection.

Transmission of *Eimeria stiedae* occurs after rabbits ingest sporulated oocysts. Once ingested, oocysts hatch in the duodenum and travel via the mesenteric lymph nodes to the liver, where they enter the epithelial cells of the bile ducts (Varga, 2014). After multiple asexual schizogony cycles, sexual reproduction takes place and oocysts develop (Oglesbee and Jenkins, 2012). The bile duct cells burst and the oocysts are released via the bile into the intestines (Varga, 2014). A schematic overview of the lifecycle of *Ei-*

meria stiedae can be found in Figure 1. The reproduction of *E. stiedae* causes compression of the liver cells, leading to large areas of necrosis and damage. This leads to disturbances in all the liver functions, causing the clinical signs as described earlier (Jing et al., 2016). Hepatomegaly can occur because of the excessive proliferation of the bile duct epithelium (Al-Naimi et al., 2012).

Hepatic coccidiosis results in typical post-mortem findings. Macroscopically, the liver is enlarged and shows firm yellow-white lesions on the surface, which constitute enlarged bile ducts filled with bile and necrotic debris; the size may vary. The nodular lesions have an abscess-like aspect, sometimes with a fibrous capsule (Figures 2 and 3). The gallbladder is often grossly enlarged (Meredith and Rayment, 2000). Lesions resulting from hepatic coccidiosis can stay evident in the liver for many years (Varga, 2014). Microscopically, the bile duct epithelium is hyperplastic and the bile ducts themselves are enlarged. There is often fibrosis mixed with infiltration of inflamma-

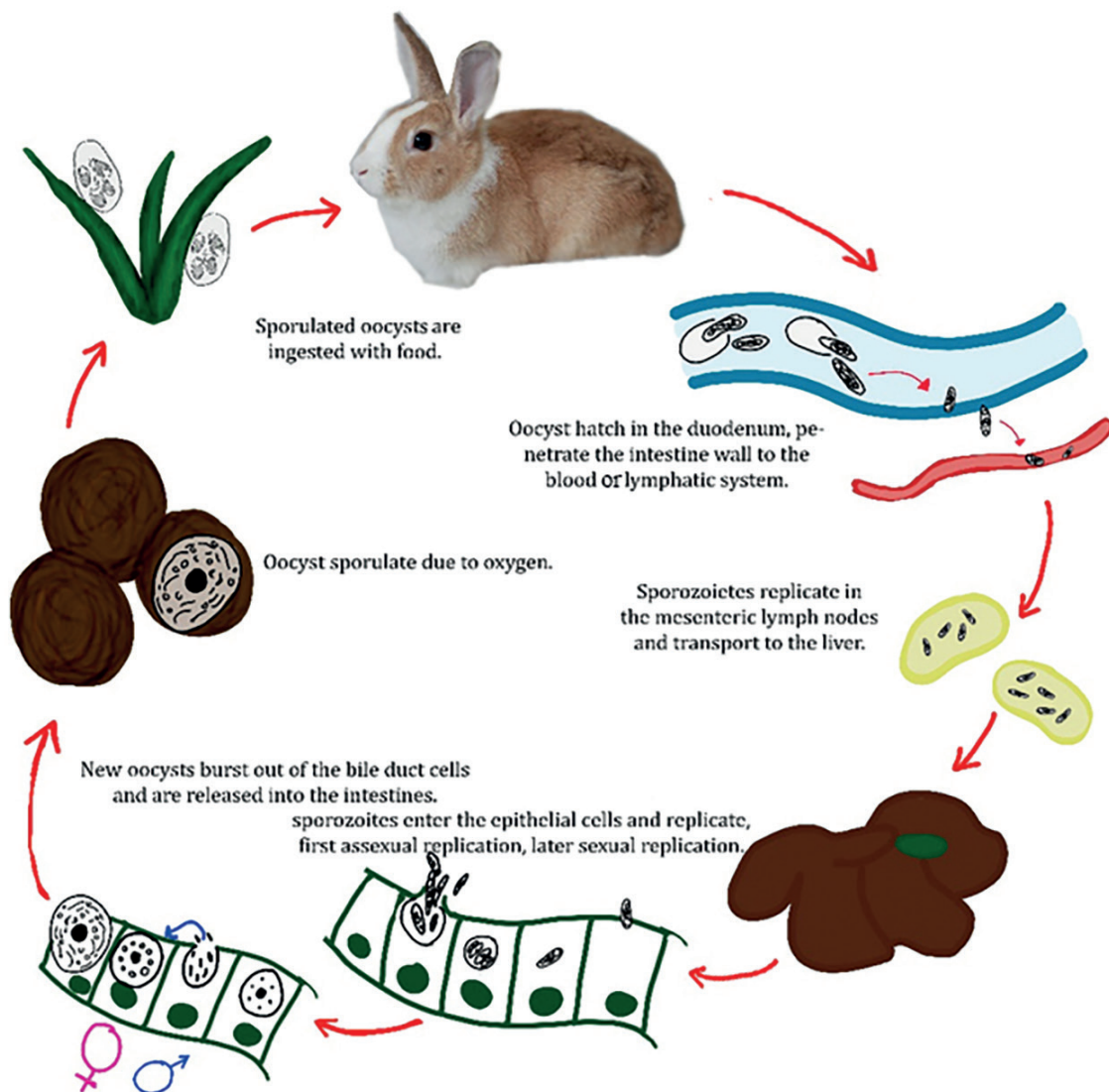


Figure 1. Lifecycle of *Eimeria stiedae*.

tory cells (eosinophils, lymphocytes and plasma cells) (Al-Mathal, 2008). Within the epithelium, the oocysts can be demonstrated (Turner et al., 2018).

As hepatic coccidiosis gives nonspecific clinical signs, the differential diagnosis comprises for example metabolic diarrhea, bacterial dysbiosis or hepatitis (Redrobe, 2013). Most commonly, coccidiosis is diagnosed by fecal examination, with fecal flotation. However, finding oocysts is not sufficient to confirm the diagnosis; they need to be specified and differentiated from intestinal and nonclinical species. Identification needs to be done on sporulated oocysts. This is rather complicated because of the great variability in size and shape within the same species (Licois, 2004). The oocyst of *Eimeria stiedae* does show a typical extra membrane, called a veil, which none of the coccidia that can be detected in rabbits, develop. However, this veil can only be visualized using electron microscopy (Ball et al., 2014). Oocysts of *E. stiedae* can also be demonstrated in a wet mount of bile (Turner et al., 2018). While bile samples can be obtained by percutaneous ultrasound guided cholecystocentesis in dogs and cats (Savary-Bataille et al., 2003), the authors could not find any description of this technique for rabbits.

Other tools such as blood examination are not specific enough to diagnose hepatic coccidiosis (Melillo, 2007; Meredith and Rayment, 2000; Oglesbee and Jenkins, 2012; Jenkins, 2008). Laboratory methods like polymerase chain reaction (PCR) and enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) are being studied with variable success, and are currently not available for veterinary use (El-Ghany, 2020).

Ultrasonographic findings so far described for hepatic coccidiosis can include hepatomegaly, thickened bile duct walls, alteration of the texture of the liver and/or enlarged hepatic lymph nodes (Reese, 2011a) and ascites (Jing et al., 2016). Çam et al. (2008) also found a dilated gallbladder, increased echogenicity of the liver and hyperechogenic appearance of the intrahepatic vessel walls. However, the description of most of these findings is limited in the literature. The aim of the current study was to more extensively describe the ultrasonographic appearance of hepatic coccidiosis in rabbits by means of ex vivo ultrasound of livers of rabbits with confirmed liver coccidiosis.

MATERIALS AND METHODS

Post-mortem ultrasound of rabbit livers

The livers of 24 rabbits were included in the study. Two livers of healthy rabbits were used as a control, which were derived from a different study. The other 22 livers were suspected of hepatic coccidiosis based on the macroscopic aspect. Two suspected livers originated from necropsy of pet rabbits, the other twenty were derived from a slaughterhouse. The rabbit livers were kept refrigerated until ultrasound could be

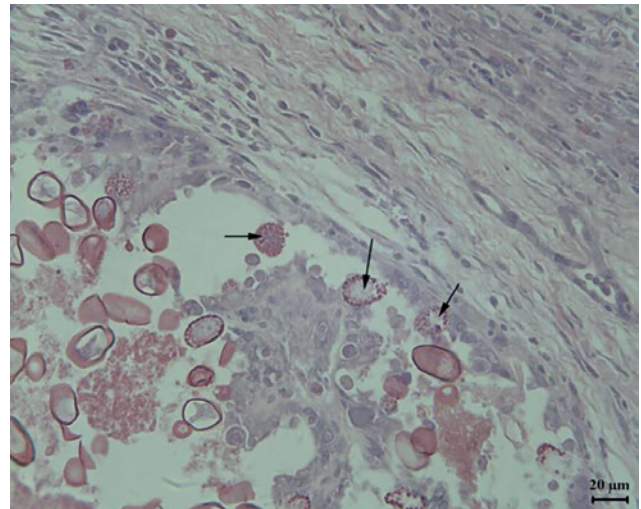


Figure 2. Histopathological aspect of a hepatic coccidiosis infected liver on HE staining. The arrows indicate a great number of sporangium, merozoite and gametocyte (Jing et al., 2016).

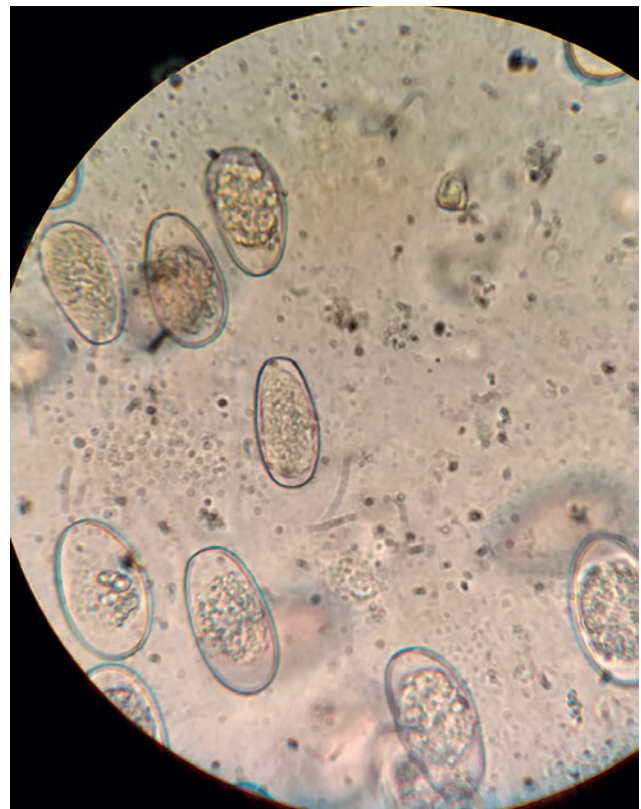


Figure 3. *Eimeria stiedae* oocysts in bile on 40x10 amplification.

conducted, which was always within 24 hours post mortem.

Ultrasound was performed with a Philips Epic 7 machine. The liver was placed in a container with water and scanned with a microconvex transducer of 5-8 MHz or linear transducer of 4-18 MHz without applying pressure. Images were saved for later interpretation and description.

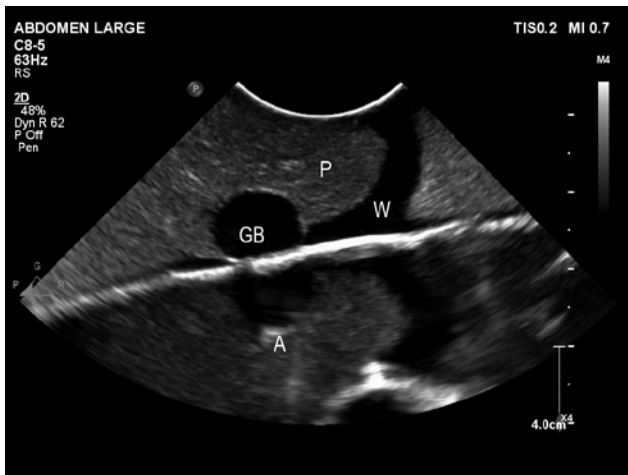


Figure 4. Ultrasound of a control rabbit. P: Liver parenchyma; GB: Gallbladder; W: Water and A: Mirror artefact.

Microscopic confirmation

If the gallbladder was present, the bile was collected with a 21-gauge needle and a syringe. A droplet of bile was placed on a glass slide for microscopic examination. If the gallbladder was absent due to the slaughter house process, a cytological smear of the nodules was made on a slide. A piece of a nodule with a diameter of approximately 2 mm was cut off and put on a glass slide. The tissue was softly squashed and spread out over the slide by using a second slide.

The native bile or cytology of the liver nodules were examined for *Eimeria stiedae* oocysts under the light microscope at 10x10 amplification.

RESULTS

Control group

The two livers of the control group had an unremarkable ultrasonographic appearance. The liver parenchyma had a homogeneous echotexture of normal

echogenicity. The liver was subjectively normal in size with sharply defined edges. The gallbladder was moderately filled with anechoic bile, without sludge and with a normal thickness of the wall (Figure 4).

Hepatic coccidiosis group

Macroscopic examination

All 22 livers obtained, were suspected of liver coccidiosis, based on the macroscopic aspect of the nodules in the liver. The livers showed nodules with a mean diameter of approximately 5 mm, white to yellowish in color. The nodules were either hard in consistency or had a more fatty, soft content. The nodules were divided over all liver lobes. The number of nodules differed greatly. The livers showed a normal, brown-red parenchyma; however, they differed in size. Certain, especially severely infected, livers were enlarged with rounding of the margins. The bile present in the gallbladders differed in color from dark green to golden-yellow. The gallbladder was still present in 18 out of 22 cases (Figures 5 and 6).

Ultrasound

Ultrasound showed lesions in all livers. Subjectively, the lesions were more numerous on ultrasound compared to the macroscopic appearance. The severity of ultrasonographic involvement correlated well with the macroscopic appearance. The most characteristic lesions were nodules of varying shape and diameter, ranging from 1 to 7 mm. Most lesions were round to ovoid; however, some lesions had a more irregular geometrical shape. The lesions were mostly well-defined. In severe cases, some ill-defined lesions with tendency to confluence were noted. The appearance of the lesions varied from homogeneously hyperechoic, heterogeneously hyperechoic to ‘target-like’ appearance characterized by a hypoechoic center and hyperechoic rim (Figures 7, 8, 9). Rarely, small hyperechoic foci suggestive of mineralization were noted. Few nodules deformed the hepatic capsule.

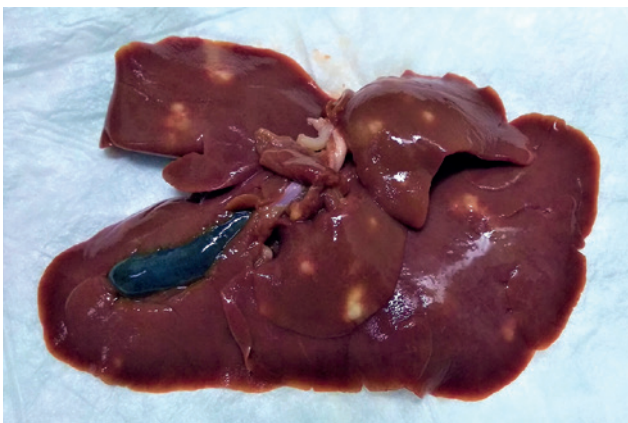


Figure 5. Visceral side of a mildly affected liver.

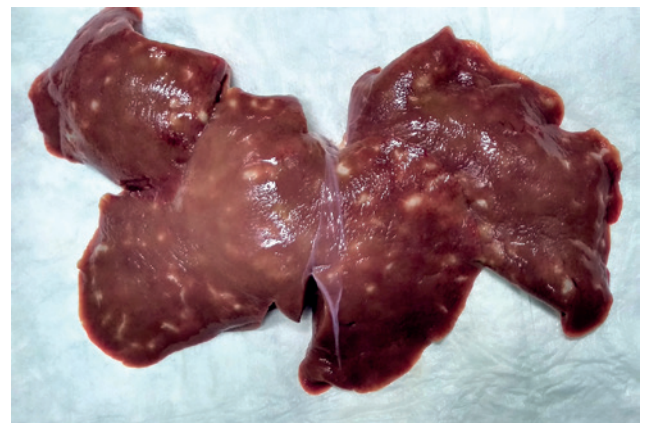


Figure 6. Diaphragmatic side of a severely affected liver.

In most cases, the liver parenchyma between the nodules was normal; however, in two out of 22 cases, it was diffusely heterogenous. Some livers were enlarged with rounding of the edges. In nine cases, echogenic sediment was present in the gall bladder (Figures 10 and 11), in three cases, its wall was irregular, thickened and/or hyperechoic.

Microscopical confirmation

On all but one liver, *Eimeria* oocysts could be found either in the bile or in a cytological smear. Only liver number 4 was inconclusive, due to the thickness of the smear. Most livers contained a large number of oocysts; liver 22 showed a subjectively smaller number of oocysts in the bile. The oocysts were not sporulated to be identified as *Eimeria stiedae*; however, this is the only species that can be found in the liver and bile (Redrobe, 2013).

DISCUSSION

In this study, a clear correlation between the presence of *Eimeria* oocysts, the macroscopic nodules and the ultrasonographic lesions was found. In all 22 of the affected livers, ultrasonographic abnormalities were seen, all in the form of nodules.

The lesions on ultrasound differed greatly in size and shape. Grossly, they can be divided into three types: homogeneously hyperechoic, heterogeneously hyperechoic and target-like (with a hyperechoic center and hypoechoic rim). Most of the lesions were well defined and round to ovoid; however, some showed more of an amorphous to even geometrical shape. The most severely affected livers often showed ill-defined lesions with a slight confluence to the surrounding tissue. Assuming all these lesions are caused by hepatic coccidiosis, a way to explain the different types of nodules might be the different stages of the disease. Therefore, a comparison of the ultrasonographic lesions to the macroscopic view of *E. stiedae* is performed. As the nodules, which are macroscopically visible, are enlarged bile ducts (Meredith and Rayment, 2000), it makes sense that those on ultrasonography are too. An infection can macroscopically lead to nodular, abscess-like lesions. In some cases, these have a fibrotic capsule (Meredith and Rayment, 2000). Nodules can also be surrounded by inflammatory cells. The damaged liver parenchyma is later replaced by fibrous tissue (Pakandl, 2009). The change from active infection to fibrotic tissue can be an explanation for the different kinds of lesions seen in the liver. The target-like nodules with hyperechoic wall could be abscess-like lesions as a result of an active infection, the hyperechoic rim being the fibrotic capsule. As fibrotic tissue appears more hyperechoic on ultrasound, the amorphous hyperechoic lesions could be from a more progressed stage of infection. Singla et al. (2000) described that foreign body granulomas

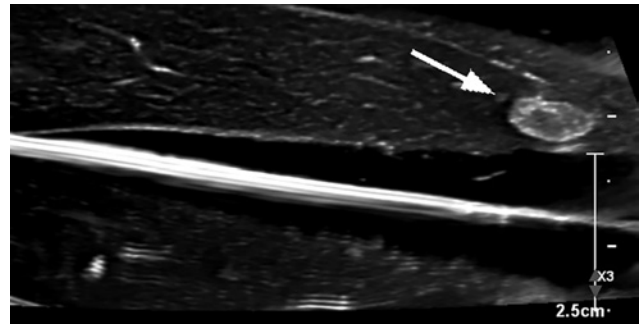


Figure 7. A rounded nodule with a target like lesion (arrow). Liver parenchyma between the nodules is normal.

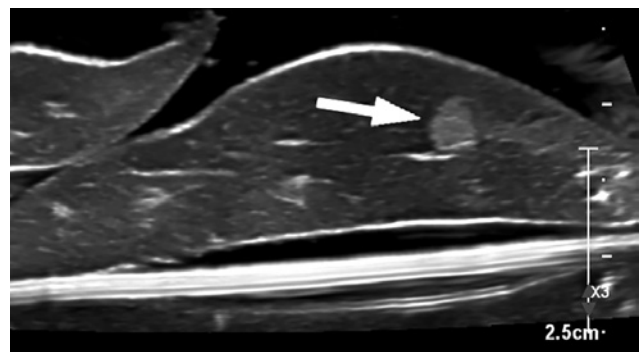


Figure 8. Single round to amorphous hyperechoic lesion (arrow). Liver parenchyma around the nodule is normal.

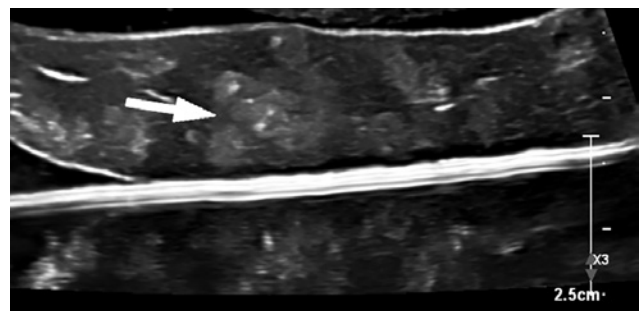


Figure 9. Heterogenous nodule (arrow).

can occur when the continuity of the bile duct epithelium is broken. Therefore, *Eimeria* might similarly act as foreign bodies. This might cause the more geometric, ill-defined and confluent hyperechoic lesions. However, further research is necessary to confirm this and to relate ultrasonographic findings to histologic changes.

Abnormalities of the gallbladder as seen in this study, have been described in the literature by Çam et al. (2008). In 50% of the present gallbladders, sludge was present. Gallbladder sludge is considered an abnormality in rabbits and might indicate starvation, just like bile stasis (Loff et al., 1999). The presence of sludge could be explained by the fact that these rabbits suffered from anorexia due to hepatic coccidiosis (Redrobe, 2013). Another sign of hepatic coccidiosis is cholestasis (Meredith and Rayment, 2000), which can also lead to gallbladder sludge. A hyperechoic

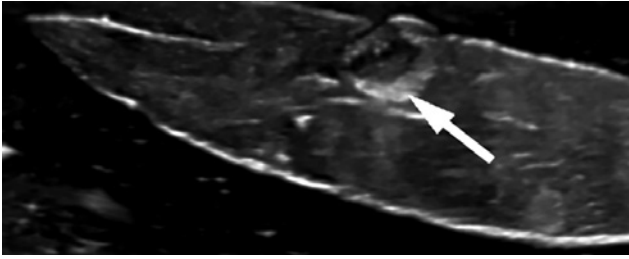


Figure 10. Gallbladder with thickened wall (arrow) and moderate amount of sludge.

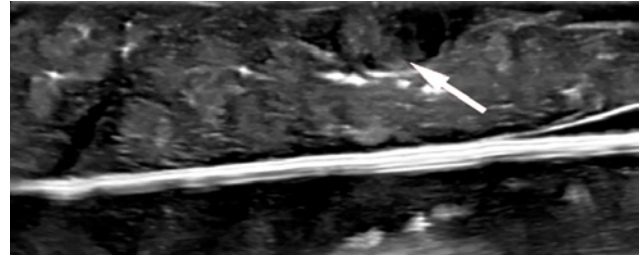


Figure 11. Large amount of nodules with an echoic gallbladder with echoic sludge (arrow).

wall of the gallbladder was seen in one liver in the present study. Reese (2011a) also described thickened bile duct walls. However, this was not detected during this study. In addition, Çam et al. (2008) described an increased echogenicity of the liver. Hyperechoic liver parenchyma was not seen in the present study; however, this was difficult to judge due to the lack of surrounding organs. An altered echoic texture of the liver parenchyma as described by Reese (2011b) was seen in two out of 22 livers. Parenchyma of these livers was heterogenous instead of homogenous. Mlakar Hrženjak et al. (2021) described two pet rabbits with severe hepatic coccidiosis. In both cases, the liver parenchyma was heterogenous with multiple, poorly defined hyperechoic and irregular shaped lesions. The bile ducts were also dilated in both cases. The second case showed a gallbladder filled with slightly echoic bile and a hyperechoic thickened wall. These findings are very similar to those found in this research. Hepatomegaly is also a sign of hepatic coccidiosis (Reese, 2011a). Hepatomegaly in rabbits is usually defined as a liver that extends clearly outside the costal arch (Reese, 2011b). However, it can also be suspected based on the rounded edges of the liver (Armstrong and Fichera, 2003). Based on these criteria, several cases of hepatomegaly were observed in the present study. Due to the study material, it was impossible to assess the hepatic lymph nodes (Reese, 2011b) and ascites (Jing et al., 2016), which have been described in other studies. Hyperechoic hepatic vessel walls, as described by Çam et al., (2008), were seen in this study.

Differential diagnoses for the ultrasonographic findings include rabbit hemorrhagic disease (RHD), neoplasia, cholangiohepatitis of bacterial origin, septic emboli/abscesses and *Fasciola hepatica*.

The most important differential diagnosis is probably pseudotuberculosis (Reese, 2011b). *Yersinia pseudotuberculosis* is a bacterium that can cause enteritis and septicemia in both humans and animals. It can be associated with necrosis in the liver and spleen (Najdenski et al., 2003). Microscopically, typical lesions look like multifocal necrosis. Nodules can be up to several centimeters in diameter and are filled with a caseous center (Vetlexicon, 2021). Although most part of this description fits the macroscopical results of the present study, none of the lesions found were larger

than 0.7 cm. This makes *Yersinia* an unlikely cause; however, it cannot fully be excluded. Typically, bacteria can be found on cytologic or histologic examination. If not, Yersiniosis can be excluded. Another important differential diagnosis is neoplasia. From small animal practice, it is known that hepatic neoplasia can give a variety of appearances on ultrasound (Larson et al., 2020). Most forms do not lead to generalized hepatomegaly but only to local enlargements of the liver (Reese, 2011b); however, lymphoma is an exception. Metastasis from uterine adenocarcinomas or mammary carcinomas are commonly detected within the liver (van Zeeland, 2017) and may look as focal lesions with different shapes and sizes. In general, it can be concluded that especially lymphoma and metastasis might give similar lesions as described in the results, and are a likely cause of hepatic nodules on ultrasound. However, it is unlikely that the slaughterhouse rabbits were all affected with the same neoplasia; especially, since tumors more often occur in older animals and are not infectious in nature. In general practice, tumorous lesions might be differentiated on cytological examination following fine-needle aspiration.

One of the limitations of this study is the absence of a full abdominal ultrasound, making hepatomegaly, lymphadenopathy, echogenicity and ascites more difficult or impossible to diagnose. Secondly, to exclude the differential diagnoses with certainty, both histology and bacteriology of the samples should have been performed.

For future research, it is advisable to quantify the number of oocysts in the bile as well as the severity of infection visible on the liver both macroscopically and ultrasonographically. Ultrasound examination showed a sensitivity of 100% in the present study; however, it was noted that all livers also showed macroscopic abnormalities. A longitudinal follow-up of rabbits infected with hepatic coccidiosis in the pre-clinical, clinical and post-clinical phase is necessary to judge the progress of the hepatic lesions.

CONCLUSION

In this study, the utility of ultrasound in the diagnosis of hepatic coccidiosis in rabbits is confirmed.

Ultrasonographic abnormalities included hepatomegaly, hepatic nodules with variable size and appearance, biliary sludge and thickening, and irregularity of the gallbladder wall.

ACKNOWLEDGEMENTS

A special thanks to the slaughterhouse Van Assche and Dr. Roel Haesendonck from Zoolyx, for providing the necessary materials.

REFERENCES

- Al-Mathal, E.M., (2008). Hepatic coccidiosis of the domestic rabbit. *Oryctolagus cuniculus domesticus* L. in Saudi Arabia. *World Journal of Zoology* 3, 30–35.
- Al-Naimi, R.A.S., Khalaf, O., Tano, S.Y., Al-Tae, E.H., (2012). Pathological study of hepatic coccidiosis in naturally infected rabbits. *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences* 11, 63.
- Armstrong, A., Fichera, A., (2003). The acute abdomen. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 18, 20–31.
- Ball, S.J., Pittilo, M.R., Snow, K.R., (2014). Observations on oocyst development of *Eimeria stiedai* in rabbits. *Acta Parasitologica* 59, 544–547.
- Buseth, M.E., Saunders, R., (2015). From snout to tail. In: Hulbert, S., Cutt, R. (Editors). *Rabbit Nutrition, Rabbit Behaviour, Health and Care*. CABI, Oxfordshire, pp. 83–114.
- Çam, Y., Atasever, A., Eraslan, G., Kibar, M., Atalay, Ö., Beyaz, L., Inci, A., Liman, B.C., (2008). *Eimeria stiedae*: Experimental infection in rabbits and the effect of treatment with toltrazuril and ivermectin. *Experimental Parasitology* 119, 164–172.
- Duszynski, D.W., Couch, L., (2013). Coccidia (Eimeriidae) of the family Leporidae: genus *Oryctolagus*. In: *The Biology and Identification of the Coccidia (apicomplexa) of Rabbits of the World*. Elsevier Inc, London, pp. 122–187.
- El-Ghany, W.A.A., (2020). Coccidiosis: a parasitic disease of significant importance in rabbits. *World's Veterinary Journal* 10, 499–507.
- Gomez-Bautista, M., Rojo-Vazquez, F.A., Alunda, J.M., (1987). The effect of the host's age on the pathology of *Eimeria stiedai* infection in rabbits. *Veterinary Parasitology* 24, 47–57.
- Harcourt-Brown, F., (2014). Digestive system disease. In: Meredith, A., Lord, B. (Editors). *BSAVA Manual of Rabbit Medicine*. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, pp. 168–190.
- Jenkins, J.R., (2008). Rabbit diagnostic testing. *Journal of Exotic Pet Medicine* 17, 4–15.
- Jing, J., Liu, C., Zhu, S.X., Jiang, Y.M., Wu, L.C., Song, H.Y., Shao, Y.X., (2016). Pathological and ultrastructural observations and liver function analysis of *Eimeria stiedai*-infected rabbits. *Veterinary Parasitology* 223, 165–172.
- Larson, M.M., Mattoon, J.S., Lawrence, Y., Sellon, R.K., (2020). Liver. In: Mattoon, J.S., Sellon, R.K., Berry, C.R. (Editors). *Small Animal Diagnostic Ultrasound*. Elsevier Health Europe, pp. 355–421.
- Licois, D., (2004). Domestic rabbit enteropathies. In: *Proceedings 8th World Rabbit Congress*, 385–403.
- Loff, S., Kränzlin, B., Moghadam, M., Dzakovic, A., Wessel, L., Back, W., Hosie, S., Wirth, H., Waag, K.L., (1999). Parenteral nutrition-induced hepatobiliary dysfunction in infants and prepubertal rabbits. *Pediatric Surgery International* 15, 479–482.
- Melillo, A., (2007). Rabbit clinical pathology. *Journal of Exotic Pet Medicine* 16, 135–145.
- Meredith, A., Rayment, L., (2000). Liver disease in rabbits. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 9, 146–152.
- Mlakar Hrženjak, N., Zadavec, M., Švara, T., Račnik, J., (2021). Hepatic coccidiosis in two pet rabbits. *Journal of Exotic Pet Medicine* 36, 53–56.
- Najdenski, H., Vesselinova, A., Golkocheva, E., Garbom, S., Wolf-Watz, H., (2003). Experimental infections with wild and mutant *Yersinia pseudotuberculosis* strains in rabbits. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 50, 280–288.
- Oglesbee, B.L., Jenkins, J.R., (2012). Gastrointestinal diseases. In: *Ferrets, Rabbits, and Rodents Clinical Medicine and Surgery*. Elsevier Inc., St.Louis, pp. 193–204.
- Pakandl, M., (2009). Coccidia of rabbit: A review. *Folia Parasitologica* 56, 153–166.
- Redrobe, S., (2013). Ultrasonography. In: Harcourt-Brown, F., Chitty, J. (Editors). *BSAVA Manual of Rabbit Surgery, Dentistry and Imaging*. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, pp. 94–106.
- Reese, S., (2011a). Ultrasonography. In: Krautwald-Junghanns, M., Pees, M., Reese, S., Tully, T. (Editors). *Diagnostic Imaging of Exotic Pets*. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co, Hannover, pp. 184–186.
- Reese, S., (2011b). Abdomen. In: Krautwald-Junghanns, M., Pees, M., Reese, S., Tully, T. (Editors). *Diagnostic Imaging of Exotic Pets*. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co, Hannover, pp. 224–237.
- Savary-Bataille, K.C.M., Bunch, S.E., Spaulding, K.A., Jackson, M.W., Law, J. Mac, Stebbins, M.E., (2003). Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis in healthy cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17, 298–303.
- Singla, L., Juyal, P., Sandhu, B., (2000). Pathology and therapy in naturally *Eimeria stiedae*-infected rabbits. *The Journal of Protozoology Research* 10, 185–191.
- Sivajothi, S., Reddy, B.S., Rayulu, V.C., (2016). Study on impression smears of hepatic coccidiosis in rabbits. *Journal of Parasitic Diseases* 40, 906–909.
- Turner, P. V., Brash, M.L., Smith, D.A., (2018). Gastrointestinal conditions. In: *Pathology of Small Mammal Pets*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, pp. 34–48.
- van Zeeland, Y., (2017). Rabbit oncology: diseases, diagnostics, and therapeutics. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice* 20, 135–182.
- Varga, M., (2014). Digestive disorders. In: Varga, M. (Editor). *Textbook of Rabbit Medicine*. Elsevier Ltd., London, pp. 303–349.
- Vetlexicon (2021). *Pseudotuberculosis* [WWW Document]. URL <https://www.vetstream.com/treat/lapis/bug/yersinia-pseudotuberculosis> (accessed 4.27.21).



Vergelijking van twee kleuringsmethoden ter beoordeling van vaginale uitstrijkjes bij hond en kat

Comparison of two staining methods to assess vaginal smears in dogs and cats

L. Corvelyn, G. Domain, J. Lannoo, A. Van Soom, E. Wydooghe

Vakgroep Interne Geneeskunde, Voortplanting en Populatiegeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

voortplanting.gezelschapsdieren@Ugent.be

SAMENVATTING

Vaginale cytologie is een nuttige diagnostische techniek vanwege de eenvoud en mogelijkheid om snel resultaten te verkrijgen. De voornaamste aanleiding voor het nemen van een uitstrijkje is het bepalen van het cyclusstadium bij teven. Het beoordelen van het staal gebeurt meestal door middel van een Diff-Quick (DQ)-kleuring, waarbij het in de praktijk niet altijd zo eenvoudig is om verhoorde of gekeratiniseerde cellen te differentiëren van niet-verhoorde. De Harris-Shorr (HS)-kleuring daarentegen is in staat cellen die keratineprecursoren bevatten, te differentiëren van overige celtypes, maar is omslachtig. In dit onderzoek werd een nieuwe, vereenvoudigde Harris-Shorr-kleuring vergeleken met de gebruikelijke Diff-Quick-methode. Uit de vergelijkende studie blijkt dat de correlatie tussen de verhoorde cellen (DQ) enerzijds en de som van de volledig rode cellen en >50% rode cellen (HS) anderzijds duidelijk positief is ($r_s(72) = 0,574$ ($p < 0,001$)). Bijgevolg kan deze gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring een meerwaarde betekenen in praktijkomstandigheden.

ABSTRACT

Vaginal cytology is a useful diagnostic technique due to its simplicity and ability to obtain results quickly. The main reason to obtain a vaginal smear is to distinguish the stages of the ovarian cycle in bitches. Evaluation of the sample is usually done by means of a Diff-Quick (DQ) staining. In clinical practice, differentiation between cornified or keratinized cells and non-keratinized cells by using this coloration method is not always straight forward. The Harris-Shorr (HS) stain, however, is able to differentiate cells containing keratin precursors from other cell types by marking them red, but is cumbersome to perform. In this study, a new, simplified version of this Harris-Shorr stain was compared with the conventional Diff-Quick method. A positive correlation was found between the cornified cells (DQ) on the one hand and the sum of the completely red cells and >50% red cells (HS) on the other hand ($r_s(72) = 0.574$ ($p < 0.001$)). As a result, this modified Harris-Shorr stain can provide added value in practical conditions.

INLEIDING

Het vaginale epitheel is bij de hond en de kat gevoelig voor de invloed van ovariële hormonen zoals oestrogenen (Roszel, 1977). Bij een stijgende bloed-oestrogeenconcentratie wordt het vaginale epitheel geactiveerd, waardoor de epitheelcellen prolifereren, differentiëren, keratiniseren en exfoliëren. Zo transformeert het vaginale epitheel van een twee- tot

vierlagig kubisch epitheel tijdens anoestrus naar een meerlagig plaveiselepitheel bestaande uit twintig tot dertig cellagen op het einde van de pro-oestrus (Schutte, 1967; Roszel, 1977; Aydin et al., 2011; Wehrend et al., 2013; Wydooghe et al., 2013; Sharma en Sharma, 2016). Door de toename in epitheeldikte zijn de cellen in de luminale lagen van het epitheel steeds verder verwijderd van de bloedtoevoer, waardoor ze afsterven en exfoliëren in het vaginale lumen en vervolgens

waargenomen kunnen worden aan de hand van vaginale cytologie (Aydin et al., 2011).

De populairste kleuringen voor vaginale cytologie zijn grofweg in twee types onder te verdelen: enerzijds zijn er de morfologische, monochrome kleuringen zoals Wright-Giemsa, Diff-Quik, methyleenblauw- en de hemacolor-kleuring, en anderzijds de trichrome kleuringen die keratineprecursoren aankleuren, namelijk de Harris-Shorr-kleuring en de kleuring volgens Papanicolaou (Wright en Parry, 1989).

Diff-Quik en hemacolor zijn snelle en gebruiksvriendelijke technieken waar men in de dagelijkse dierenartsenpraktijk het vaakst voor opteert (Antonov, 2017). Bij gebruik van deze kleuringen wordt het cyclusstadium bepaald op basis van de morfologie van de epitheelcellen. Ieder stadium wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van specifieke celtypes, die in feite de verschillende stadia van celdood representeren. Wanneer gezonde, ronde epitheelcellen keratiniseren oftewel afsterven, worden ze groter en onregelmatiger van vorm. Ook de nucleus in de cel wordt progressief kleiner en pycnotischer, desintegreert en levert uiteindelijk een anucleaire cel op (Srinivas et al., 2004). Zodoende kunnen parabasale, intermediaire, nucleaire en anucleaire superficiële (verhoorde) cellen bemerkt worden op een vaginaal uitstrijkje (Schutte, 1967; Mills et al., 1979).

De Harris-Shorr- en Papanicolaou-kleuringen zijn in staat cellen die keratineprecursoren bevatten, te differentiëren (oranje-rood, acidofiel) van de overige celtypes (blauw, basofiel) (England, 2013). Vaginale epitheelcellen reageren op oestrogenen door keratinisatie en verkleuren hierdoor van blauw naar rood. Zo kan op een eenvoudige manier de oestrogeeninvloed op de vaginale epitheelcellen geïnterpreteerd worden. Deze interpretatie van de stalen blijkt eenvoudiger dan met Diff-Quick-kleuring. Men hoeft immers enkel de kleur van de epitheelcellen te beoordelen om een idee te krijgen van de keratinisatie van het vaginale epitheel. Vergeleken met het herkennen van de verschillende morfologische celtypes, is dit onbetwistbaar minder complex en hanteerbaar voor elke eerstelijnsdierenarts.

Nadelig aan het gebruik van deze kleuringen is dat de uitvoering ervan veel omslachtiger en tijdrovender is dan de doorgaans gebruikte Diff-Quick-methode (Wright en Parry, 1989). Het protocol bestaat uit meerdere stappen die in totaal zestien minuten duren (Oettlé en Weldhagen, 1982). Recent werd gepoogd om een gemodificeerde versie van deze kleuring te ontwikkelen (Fontbonne et al., 2015). Hoewel nog steeds dezelfde kleuringoplossingen gebruikt worden, is men erin geslaagd de duur van het proces opvallend te verkorten van zestien naar twee minuten. Dit werd gerealiseerd door het aantal immersies van het uitstrijkje in de kleuringoplossingen en de duur ervan drastisch te verminderen. De producenten van deze vereenvoudigde methode verklaren dat, ondanks de wijzigingen in de procedure, deze even betrouwbaar is als de voor-

gaande techniek. Het doel van deze studie was om na te gaan in hoeverre deze nieuwe gemodificeerde Harris-Shorr-kleuringsmethode correleert met de in de praktijk doorgaans gebruikte Diff-Quick-kleuring. Daarnaast werd er gepoogd een standpunt in te nemen over de gebruiksvriendelijkheid van de kleuring en nagegaan of ze een meerwaarde zou kunnen bieden in de dagelijkse dierenartsenpraktijk.

MATERIAAL EN METHODEN

Materiaal

Voor het uitvoeren van de studie werd volgend materiaal gebruikt: vaginale swabs, fysiologische zoutoplossing, microscopische draagglasjes, een Diff-Quick-kleuringskit (Novolab, België), de CytoRAL fixeerspray en de kleuringskit Diag-Oestro (RAL Diagnostics, Frankrijk) om de gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring uit te voeren, gedestilleerd water, papieren doeken, een opbergdoos voor microscopische draagglasjes, een manuele celler en een lichtmicroscoop (objectieven 10x, 40x en 100x met immersieolie).

Staalname

Gedurende de periode van juli 2020 tot april 2021 werd op de dienst Voortplanting van Gezelschapsdieren van de Faculteit Diergeneeskunde (UGent) van 39 dieren een uitstrijkje genomen. Tweeënzeventig stalen van het genitale stelsel van 36 teven, 2 kattinnen en 1 reu werden in deze studie gebruikt. Het betreft stalen van dieren die om uiteenlopende redenen op consultatie kwamen op de dienst Voortplanting van de Faculteit Diergeneeskunde en waarbij een cytologiestaal nuttige diagnostische waarde bood. Het merendeel van de stalen betrof vaginale cytologiestalen van teven. De belangrijkste indicatie voor het nemen van deze stalen was als onderdeel van een cycluspvolgning om het optimale moment voor de dekking te bepalen. Bijgevolg werden van verschillende teven meerdere opeenvolgende stalen genomen. Ze werden genomen volgens de standaardmethode door drie ervaren klinici van de dienst Voortplanting.

De verzamelde cellen werden via een rollende beweging zorgvuldig op een draagglasje aangebracht. Belangrijk hierbij was dat de druk werd uitgeoefend in de lengte van het draagglasje om de cellen niet kapot te duwen bij het uitrollen. Er werden telkens drie rijen van cellen op een draagglasje aangebracht. Deze procedure werd vervolgens herhaald bij het tweede draagglasje gebruikmakend van dezelfde vaginale swab. Ten slotte werden alle stalen geanonimiseerd en genummerd. Zodoende was het voor de onderzoeker niet mogelijk te achterhalen welke stalen tot welke patiënt behoorden.

Kleuringsmethode

Diff-Quick

Zoals bij de huidige standaardprocedure werd at random een van de twee stalen gekleurd door middel van de Diff-Quick-kleuring. Het staal werd eerst gedroogd aan de lucht en vervolgens gekleurd. Drie oplossingen zijn vereist: een fixatievloeistof bestaande uit 100% methanol, een gebufferde eosinofiele kleuring en een basofiele kleuring bestaande uit een gebufferde methyleenblauwkleurstof. Eerst werd het draagglaasje twaalf seconden ondergedompeld in de fixatievloeistof, vervolgens twaalf seconden in de eosinofiele kleurstof en ten slotte opnieuw twaalf seconden in de basofiele kleurstof gehouden. Tussen de verschillende immersies werd de overtollige kleuringvloeistof op een papieren doek afgegoten. Daaropvolgend werd het preparaat afgespoeld onder zacht stromend kraanwater. Tot slot werd het preparaat aan de lucht gedroogd.

Harris-Shorr

Het andere staal werd gekleurd door middel van de nieuwe gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring, namelijk aan de hand van de Kit Diag-Oestro (RAL Diagnostics, Frankrijk) (Figuur 1). De uitstrijkjes werden vooreerst gefixeerd door de klinici gebruikmakend van de CytoRAL-fixeerspray.

De kleuringskit bestaat uit zes oplossingen met elk een volume van 100 ml. Om de oplossingen onvermengd te houden, werd een fractie van deze vloeistoffen overgegoten in een kleiner reservoir. In volgorde van gebruik ging het om een spoeloplossing A, een hematoxyline-gestabiliseerde oplossing, een differentiator, een spoeloplossing B, de Shorr-kleuringsoplossing en finaal een spoeloplossing C. Andere benodigdheden waren de CytoRAL-fixeerspray, gedestilleerd water en een papieren doek. Zoals de instructies het aangeven, werd het cytologiepreparaat na fixatie eerst twintig tot dertig minuten in spoeloplossing A gedompeld. Deze stap is echter niet nodig wanneer het mogelijk is het uitstrijkje meteen na staalname te kleuren. In zo'n geval zijn vijf immersies in spoeloplossing A voldoende. Vervolgens werd het staal afgespoeld door het vijf keer in het gedestilleerd water te dompelen. Nadien werd de overtollige vloeistof verwijderd door het draagglaasje verticaal op een papieren doek te deppen. Vervolgens werd het staal vijf keer in de hematoxylinekleurstof gedompeld en opnieuw afgespoeld in gedestilleerd water en gedroogd. Deze stappen werden ook herhaald voor oplossing drie, de differentiator. Daarna werd het glaasje vijf keer in spoeloplossing B ondergedompeld en gedroogd op de papieren doek. Het staaltje werd vanaf deze stap niet meer afgespoeld in het gedestilleerde water. Het uitstrijkje werd vervolgens tienmaal gedompeld in de Shorr-kleuringsoplossing en gedroogd.



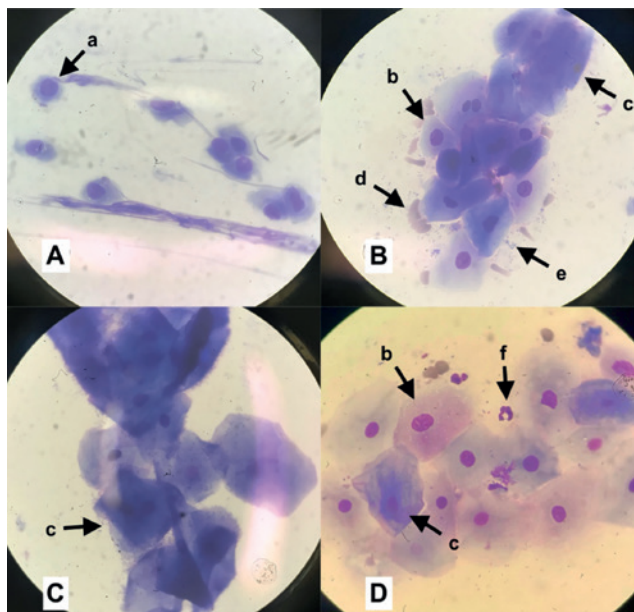
Figuur 1. Kit Diag-Oestro geproduceerd door RAL Diagnostics (Frankrijk).

Finaal werd het staal vijf keer in de laatste spoeloplossing gedrenkt en gedroogd aan de lucht.

Microscopische beoordeling

De evaluatie van alle cytologiepreparaten werd uitgevoerd door dezelfde persoon gebruikmakend van een lichtmicroscop. De anonimiteit van alle afzonderlijke stalen werd verzekerd. Zodoende was het voor de onderzoeker niet mogelijk te achterhalen welke stalen tot welke patiënt behoorden. Een eerste globaal overzicht van het preparaat werd verkregen via het 10X-objectief. Op die manier kon de gebruikte kleuring, Diff-Quick of Harris-Shorr, bepaald worden en een eerste inschatting van de hoeveelheid en het type epitheelcellen gemaakt worden. Het staal werd eerst volledig doorgenomen om vervolgens een observatieveld te selecteren dat representatief was voor het gehele preparaat. Aansluitend werd een druppel immersieolie op het preparaat gebracht en het objectief gewijzigd naar 100X om een gedetailleerd beeld van de cellen te bekomen. Om een objectieve en betrouwbare vergelijking tussen beide kleuringen te verkrijgen, werden honderd vaginale epitheelcellen per uitstrijkje geteld en gecategoriseerd. Voor de Diff-Quick-kleuring werden de cellen onderverdeeld in morfologische celtypes, namelijk: parabasale, intermediaire, superficieel nucleaire en superficieel anucleaire epitheelcellen (Figuur 2).

Vermits de auteurs de eosinofiele kleuringsreactie typerend voor deze kleuring wilden beoordelen, werd besloten de epitheelcellen bij deze kleuring onder te verdelen op basis van kleur. Ook bleek het cellulair detail van de preparaten gekleurd door middel van de Harris-Shorr-kleuring minder kwaliteitsvol en bijgevolg moeilijk in te delen op basis van morfologie. Om de vergelijking met de Diff-Quick-kleuring mogelijk te maken, werden eveneens vier categorieën opgesteld. 1) epitheelcellen die volledig blauw kleuren en waarbij dus geen rode kleurstof zichtbaar is (0% rood); 2)

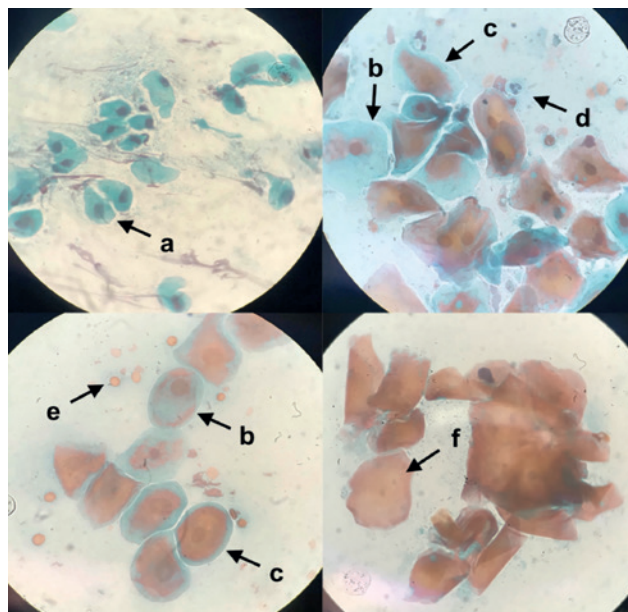


Figuur 2. Overzicht van het microscopisch beeld (100X objectief) van een vaginaal uitstrijkje gekleurd met Diff-Quick. A. Parabasale cellen (a). B. Intermediaire (b) en (anucleaire) superfiële cellen (c), rode bloedcellen (d) en bacteriën (e). C. (Nucleaire en anucleaire) superfiële cellen (c) en het typische schollenbeeld. D. Intermediaire (b) en (nucleaire) superfiële cellen (c) en neutrofielen (f).

epitheelcellen die overwegend blauw aankleuren en waar de rode kleurstof zichtbaar is, maar minder dan de helft van het oppervlak van de cel bedraagt (1-50% rood); 3) epitheelcellen waar nog blauwe kleurstof te zien is, maar meer dan de helft van het oppervlak rood kleurt (50-99% rood); 4) epitheelcellen die volledig rood kleuren (100% rood). De onderverdeling in deze celtypes werd op subjectieve wijze gemaakt door de uitvoerder van het onderzoek (Figuur 3).

Statistische analyse

De statistische analyse van de onderzoeksresultaten werd uitgevoerd met het statistisch softwareplatform SPSS. Om na te gaan in hoeverre de microscopische resultaten van de stalen gekleurd met Diff-Quick (DQ) overeenstemmen met de gemodificeerde Harris-Shorr (HS)-gekleurde uitstrijkjes, werd een correlatietest uitgevoerd. In deze studie werd gebruik gemaakt van een Spearmancorrelatie om het verband te onderzoeken tussen het percentage superfiële, ver-



Figuur 3. Microscopisch beeld (100X objectief) van vaginale uitstrijkjes gekleurd met de gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring. A. Cel met 0% rode kleurstof (a). B. Cel met 1-50% rode kleurstof (b), cel met 50-99% rode kleurstof (c) en neutrofielen (d). C. Cel met 1-50% rode kleurstof (b), cel met 50-99% rode kleurstof (c) en rode bloedcellen (e). D. Cellen met 100% rode kleurstof (f).

hoorde cellen (superfiëel anucleaire + superfiëel nucleaire cellen) bij DQ-kleuring en het percentage epitheelcellen die volledig rood kleuren (100% rood) bij HS-kleuring. Vervolgens werd ook het verband onderzocht tussen het percentage verhoorde cellen en het percentage epitheelcellen die voor 50% of meer rood aangekleurd werden (50-99% rood en 100% rood opgeteld). Tenslotte werd ook de correlatiecoëfficiënt berekend tussen het percentage verhoorde cellen en het percentage epitheelcellen waarbij rode kleurstof te zien was (1-50% rood, 50-99% rood en 100% rood samen).

RESULTATEN

De totale hoeveelheid superfiële of verhoorde cellen bij Diff-Quick-gekleurde stalen was significant positief gecorreleerd met het aantal 100% rode cellen, $r_s(72) = 0,553 (p < 0,001)$. De correlatie tussen het percentage superfiële cellen en de epitheelcellen die

Tabel 1. Resultaten van de Spearman-correlatietest uitgevoerd door middel van SPSS.

		Rood	Rood + >50% rood	Rood + >50% rood + >50% blauw
Superfiëel	Spearman's rho	0,553**	0,574**	0,500**
Anucleair	P- waarde	0,000	0,000	0,000
+ Nucleair	N	72	72	72

** correlatie is significant op het 0,01-niveau (2-tailed)

50% of meer rood aankleuren (50-99% rood en 100% rood opgeteld), bleek iets sterker, $r_s(72) = 0,574$ ($p < 0,001$) dan deze met de 100% rode cellen alleen. Wanneer de correlatiecoëfficiënt die het verband tussen het percentage superficiële cellen en het percentage cellen die rood aankleuren (de som van 1-50% rood, 50-99% rood en 100% rood) berekend werd, werd het resultaat $r_s(72) = 0,500$ ($p < 0,001$) bekomen. Een overzicht van de berekende correlaties wordt weergegeven in Tabel 1.

Wat de kwaliteit van de kleuring betreft, moet opgemerkt worden dat de rode kleur die volgens de producenten zichtbaar wordt in cellen die keratineprecursoren bevatten, eerder bruinrood tot zelfs oranje werd bevonden. Ook de blauwe kleur van niet-verhoorde cellen oogde dikwijls eerder blauwgroen tot groen. Afgezien daarvan bleef het contrast tussen beide kleuren duidelijk genoeg om ze van elkaar te kunnen onderscheiden. Ten tweede werd opgemerkt dat het gebruikte objectief een belangrijke invloed heeft op het aanzicht van het microscopisch beeld. Vaststellingen gemaakt via het 10X-objectief stemden niet steeds overeen met het beeld gezien door het 100X-objectief. Voor duidelijke waarneming van de discrepantie tussen beide kleuren van de Harris-Shorr-kleuring was het 100X-objectief vereist. Tot slot leek het cellulaire detail bij Harris-Shorr-kleuring minder zuiver en afgetekend te zijn dan bij Diff-Quick-kleuring. De vaginale epitheelcellen morfologisch categoriseren zoals bij Diff-Quick-kleuring gedaan wordt, bleek een stuk minder eenvoudig en eenduidig. De omlijning van de cellen leek dikwijls vervaagd te zijn, wat onder meer het onderscheid tussen grote intermediaire en super-

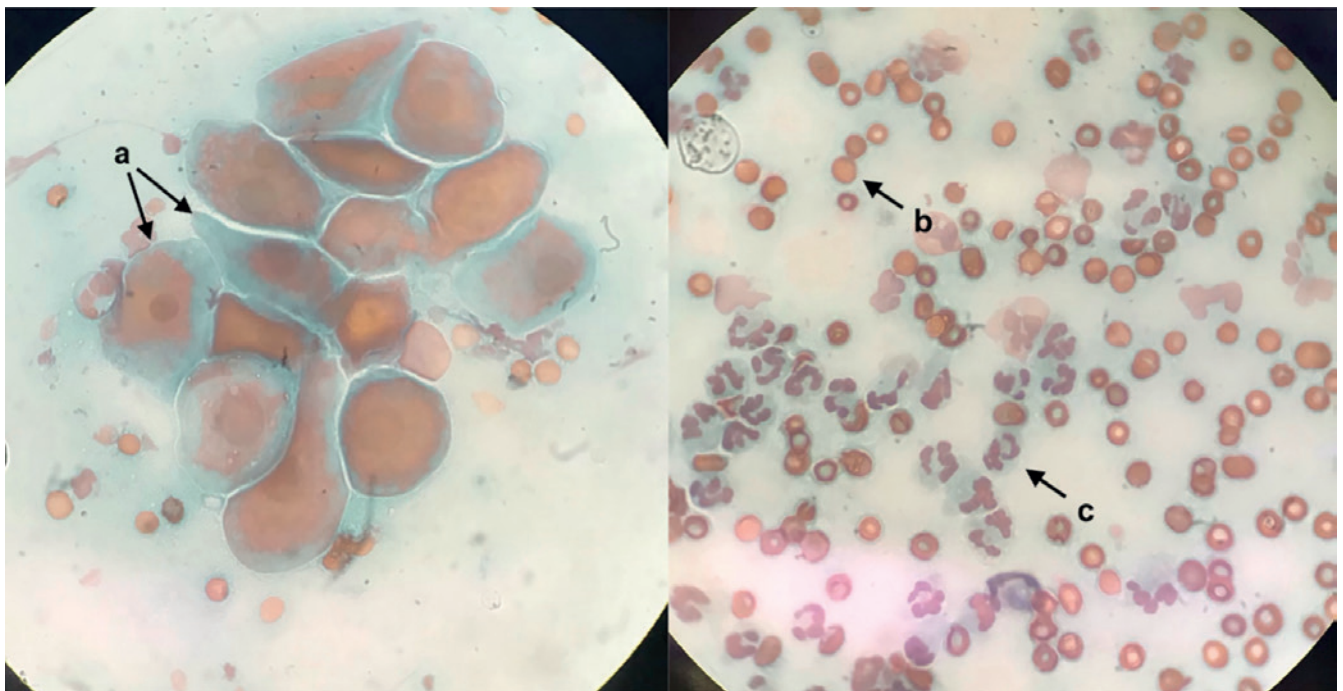
ficiële cellen bemoeilijkte en bijgevolg discussie kon teweegbrengen.

DISCUSSIE

In deze vergelijkende studie werd vooral de nadruk gelegd op het verband tussen het aantal superficiële of verhoorde cellen gezien op de uitstrijkjes die met Diff-Quick gekleurd werden en de rode kleur zichtbaar in cellen van uitstrijkjes die door middel van de gemodificeerde Harris-Shorr gekleurd werden. Op deze manier werd er getracht na te gaan in hoeverre deze eosinofiele kleuringreactie adequate beelden oplevert. Een van de vragen die zich opdrong tijdens het uitvoeren van dit onderzoek was vanaf wanneer er kan besloten worden dat cellen met een rode kleur ook effectief verhoorde cellen voorstellen, en of dit geldt van zodra het rode pigment in een cel wordt opgemerkt of dat de volledige cel rood gekleurd dient te zijn. De producenten van de kleuring bieden evenmin antwoord op de betekenis van deze polychromatofiele cellen. Een antwoord op deze vraag zou de interpretatie van het met Harris-Shorr-gekleurde vaginale cytologiestaal eenvoudiger maken.

Op basis van deze beperkte studie kan geconcludeerd worden dat wanneer men verhoorde cellen wil evalueren bij cytologiestalen gekleurd door middel van de gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring, idealiter enkel de epitheelcellen die voor de helft of meer rood aankleuren in beschouwing worden genomen.

Volgende vaststellingen zijn eveneens waardevol in het beoordelen van de gemodificeerde Harris-



Figuur 4. Microscopisch beeld (100X objectief) van vaginale uitstrijkjes gekleurd met de gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring met perinucleair startende keratinisatie (a), rode bloedcellen (b) en neutrofielen (c).

Shorr-kleuring. Er werd opgemerkt dat de eosinofiele kleuringsreactie die plaats vindt omwille van de aanwezigheid van keratineprecursoren in het cytoplasma, zich steeds ontplooit rond de kern van de cel. Hieruit kan geconcludeerd worden dat keratinisatie of verhoorning perinucleair aanvangt en zich zo over de volledige cel verder uitbreidt. De celkern kleurt steeds oranje-rood aan, ook voor neutrofielen is dit het geval. Het cytoplasma van de neutrofiel is blauwgroen en rode bloedcellen kleuren steeds eosinofiel, rood-oranje aan (Figuur 4).

Volgens de producenten van de aangepaste Harris-Shorr-kleuringsmethode neemt deze nieuwe kleuringstechniek slechts twee minuten in beslag. Dit is in vergelijking met de 16 minuten durende, oudere Harris-Shorr-kleuring, een sterke verscherping van deze tijd. Uit de voorliggende studie is echter gebleken dat de kleuring niet binnen de twee minuten voltooid kon worden. Afgezien van het feit dat de procedure langer in beslag neemt dan de vooropgestelde tijd, kan nog steeds verondersteld worden dat deze duur haalbaar is in praktijkomstandigheden.

Het bepalen van het cyclusstadium en het achterhalen van het optimale dektijdstip, in combinatie met progesteronbepaling, is de belangrijkste en meest toegepaste indicatie voor het nemen van een vaginaal cytologiestaal bij de teef. De ideale periode voor natuurlijke dekking of kunstmatige inseminatie is de oestrusfase. Dekking wordt aangeraden wanneer het percentage oppervlakkige of verhoorde cellen in vaginale uitstrijkjes hoger is dan 80% (England, 2013). Een interval van twee tot drie dagen tussen iedere dekking wordt geadviseerd tot cytologische metoestrus optreedt, gekenmerkt door het opnieuw verschijnen van niet-verhoorde cellen en neutrofielen (Antonov, 2017). De trichrome Harris-Shorr-kleuring kan hierbij een nuttige tool vormen. Indien via wetenschappelijk onderzoek kan nagegaan worden vanaf welk percentage gekeratiniseerde, of dus meer dan 50% rode cellen, dekking kan toegelaten worden, wordt het geven van dekadvis eenvoudiger. De resultaten van het vaginale uitstrijkje moeten echter nog steeds gecombineerd worden met het meten van het serum progesteron gehalte (Hiemstra et al., 2001). Andere indicaties waarbij de gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring een nuttig hulpmiddel kan blijken, zijn onder andere het stellen van de diagnose van het ovarieel restsyndroom, een verlengde loopsheid en folliculaire cysten. Ook de blootstelling aan exogene oestrogenen kan met behulp van deze nieuwe kleuring snel gedetecteerd worden. Via de eosinofiele kleuringsreactie typerend voor deze kleuring zou de aanhoudende oestrogene invloed en bijgevolg keratinisatie van het vaginale epitheel immers vlot kunnen vastgesteld worden. Om de oorzaak van deze oestrogene invloed te achterhalen, moet echter steeds bijkomend onderzoek uitgevoerd worden. Bij de reu kan het “feminizing syndrome” als gevolg van hyperoestrogenisme veroorzaakt door een sertoliceltumor sneller vermoed worden door middel van de Harris-Shorr-kleuring.

Normaliter bevat een preputiaal cytologiestaal weinig tot geen gekeratiniseerde cellen. Onder invloed van oestrogenen neemt deze hoeveelheid echter prominent toe. Dit kan met behulp van een keratinekleuring duidelijk worden door de verhoogde hoeveelheid roodgekleurde cellen.

CONCLUSIE

Vaginale exfoliatieve cytologie is een zeer nuttige techniek vanwege de eenvoud, toegankelijke apparatuur en de mogelijkheid om snel resultaten te verkrijgen. Het kan, net zoals vaginoscopisch onderzoek, worden gebruikt als een waardevolle aanvulling op elke reproductieve diagnostiek bij de teef en de kattin. Ook bij de reu kan preputiale cytologie een bruikbare diagnostische techniek zijn, in het bijzonder voor het constateren van een toegenomen plasma-oestrogenconcentratie, bijvoorbeeld als gevolg van een sertoliceltumor. Uit deze beperkte studie kan besloten worden dat voor de evaluatie van verhoorde cellen bij cytologiestalen gekleurd door middel van de gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring, idealiter enkel de voor meer dan 50% rode cellen in beschouwing worden genomen. De kleuringprocedure zelf is haalbaar in praktijkomstandigheden wanneer er gekeken wordt naar de afnameduur. Ook de interpretatie van de stalen gekleurd door middel van de gemodificeerde Harris-Shorr-kleuring wordt een stuk eenvoudiger dan door middel van Diff-Quick-kleuring. Het is echter aangegeven verder onderzoek uit te voeren naar de toepassingsmogelijkheden van de kleuring. Richtlijnen omtrent het gebruik van de kleuring bij onder andere het bepalen van het cyclusstadium of het diagnosticeren van aandoeningen van het genitale stelsel zijn absoluut waardevol en kunnen grootschalig gebruik van de kleuring aanmoedigen.

REFERENTIES

- Antonov, A.L., (2017). Application of exfoliative vaginal cytology in clinical canine reproduction – a review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 20, 193–203.
- Aydin, I., Sur, E., Ozaydin, T., Dine, D.A., (2011). Determination of the stages of the sexual cycle of the bitch by direct examination. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 15, 1962-1967.
- Becha, B.B., Ghosh, K.N.A., (2013). Timing of ovulation using eosinophilic index and progesterone profile during natural and induced oestrous cycles in bitches – a retrospective study. *Indian Journal of Canine Practice* 5, 132–135.
- Christie, D.W., Bell, E.T., (1971). Endocrinology of the oestrous cycle in the bitch. *Journal of Small Animal Practice* 12, 383–389.
- England, G.C.W., (2013). Clinical examination of the female, In: England, G. (Editor). *Dog Breeding, Whelping and Puppy Care*. John Wiley & Sons Inc., West Sussex, UK, West Sussex, UK, pp.41–63.
- Hazra, A., Gogtay, N., (2016). Biostatistics series module

- 6: Correlation and linear regression. *Indian Journal of Dermatology* 61, 593–601.
- Hiemstra, M., Schaefers-Okkens, A.C., Teske, E., Kooistra, H.S., (2001). De betrouwbaarheid van vaginacytologie bij het bepalen van het optimale dektijdstip bij de teef. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 126, 685–689.
- Post, K., (1985). Canine vaginal cytology during the estrous cycle. *The Canadian Veterinary Journal* 26, 101–104.
- Roszel, J.F., (1977). Normal canine vaginal cytology. *The Veterinary Clinics of North America* 7, 667–681.
- Schutte, A P, (1967). Canine vaginal cytology. II. Cyclic changes. *The Journal of Small Animal Practice* 8, 307–311.
- Schutte, A. P., (1967). Canine vaginal cytology - compilation and evaluation of cellular indices. *Journal of Small Animal Practice* 8, 313–317.
- Sharma, M., Sharma, N., (2016). Vaginal cytology: An historical perspective on its diagnostic use. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 4, 283–288.
- Wehrend, A., von Plato, K., Goericke-Pesch, S., (2013). Die exfoliative Vaginalzytologie bei der Hündin – Indikationen, Durchführung, Interpretation. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere* 41, 267–274.
- Wright, P.J., Parry, B.W., (1989). Cytology of the canine reproductive system. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 19, 851–874.
- Wydooghe, E., Van Soom, A., Rijsselaere, T., (2013). Vaginale cytologie bij de teef: Een miskende techniek? *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 82, 363–369.



© 2022 by the authors. Licensee Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, Ghent University, Belgium. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of

the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Oproep

Gevallen uit de praktijk in het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

Omdat het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift in de eerste plaats een tijdschrift van en voor dierenartsen is, wil de redactieraad een oproep doen om bijzondere gevallen die u in uw praktijk ziet, kenbaar te maken in de vorm van een artikel dat in het tijdschrift na beoordeling gepubliceerd kan worden.

Geïnteresseerden worden voor de opmaak van hun case-report aangeraden de richtlijnen voor auteurs te volgen: <https://openjournals.ugent.be/vdt/site/guidelines/> of kunnen terecht bij nadia.eeckhout@ugent.be

Als voorbeeld kunnen reeds eerder in het VDT gepubliceerde casuïstieken dienen.

An obstructive upper respiratory emergency in a pregnant Belgian blue heifer

Noodinterventie en nazorg van een obstructieve bovensteluchtwegaandoening bij een drachtig Belgisch-witblauw rund

¹L. Gille, ¹C. Bayrou, ¹H. Casalta, ¹S. Djebala, ¹J. Eppe, ¹A. Sartelet

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

Linde.gille@uliege.be

ABSTRACT

In this case report, the surgical intervention and aftercare are described of an upper airway obstruction in a two-and-a-half year old, seven-months pregnant Belgian blue heifer. The animal had been referred to the Clinic for Ruminants (University of Liège) for complaints of stridor and dyspnea and suffered from necrotic laryngitis, complicated by the formation of an obstructive granuloma. Emergency tracheotomy was performed to save the life of the cow and its calf. Through the use of a self-retaining cannula, the modified tracheotomy site could be kept patent until the calf was born and the pathology resolved two months after admission. Healing of the larynx was checked and documented by use of nasal and retro-tracheal endoscopy.

SAMENVATTING

In deze casus worden de chirurgische interventie en nazorg van een bovensteluchtwegobstructie beschreven bij een zeven maanden drachtige Belgisch-witblauwe vaars. Het dier werd binnengebracht in de runderkliniek van de Universiteit van Luik met klachten van stridor en dyspnee en leed aan necrobacillose, gecompliceerd door de vorming van een obstructief granuloom in de larynx. Een gewijzigde tracheotomie werd uitgevoerd om het leven van de koe en het ongebooren kalf te redden. Door middel van een zelfborgende canule kon de tracheotomieopening gedurende twee maanden opgehouden worden, tot het kalf geboren werd. De genezing van de larynx werd opgevolgd door het gebruik van nasale en retro-tracheale endoscopie.

INTRODUCTION

When confronted with respiratory distress and stridor in beef cattle, necrotic laryngitis (also known as laryngeal chondritis or calf dyptheria) caused by *Fusobacterium necrophorum* (*F. necrophorum*) is often a primary suspect (West, 1997; Milne et al., 2000; Pardon et al., 2018). This is especially the case in the Belgian blue cattle breed (BBCB), given the predisposition of double muscled animals to develop this disease. Due to their narrowed upper airway anatomy, air passes through at a higher velocity, which increases mucosal lesions colonized thereafter by bacteria. Furthermore, their relatively smaller lung capacity causes an increased breathing rate, which amplifies the lesion risk (West, 1997; Pardon et al., 2018). However,

as the name calf dyptheria suggests, it is generally a calthood disease and is not seen that often in adult cattle (Pardon et al., 2018). As such, other causes of mechanical or functional obstruction of the upper trachea or larynx should also be considered in the case of an adult animal with respiratory issues and stridor.

Other differentials include infectious bovine rhinotracheitis (IBR), a necrotizing airway condition caused by Bovine Herpes Virus 1. IBR can cause a similar presentation of respiratory distress and stridor due to the collection of necrotic debris and pseudo membranes in larynx and trachea (West, 1997). In the past, making the distinction between IBR and necrotic laryngitis was an essential part of the clinical examination of a cow suffering from stridor (Anderson and St Jean, 2008). In recent years, also thanks to the im-

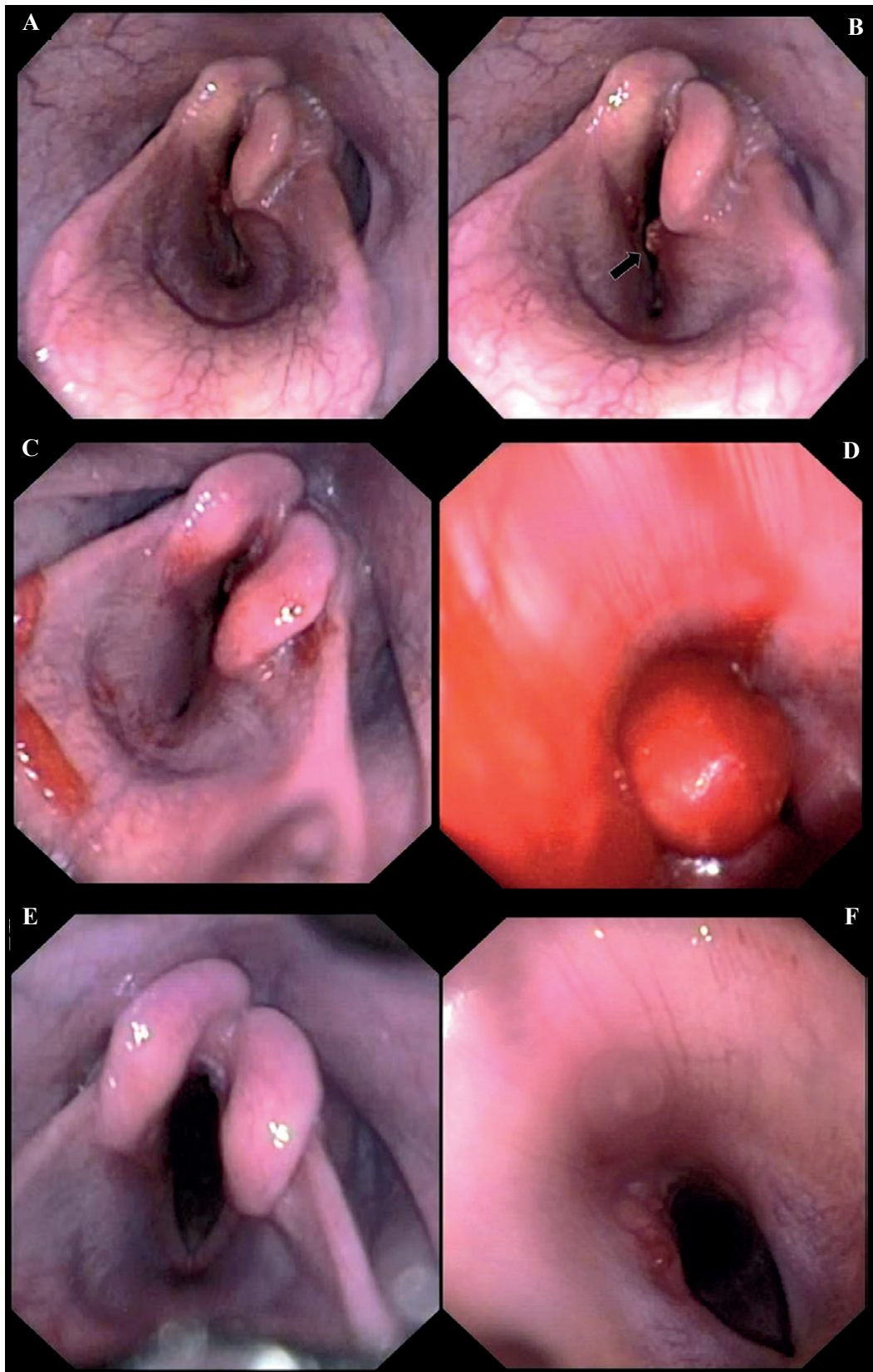


Figure 1. Endoscopy images of day 1 (A and B); Day 25 (C and D) and day 50 (E and F). Day 1: A. Frontal (antegrade) view during inhalation on day 1. B. Frontal view during exhalation on day 1. The black arrow indicates the necrotic debris on the left arytenoid. Note the divergence of the left arytenoid over the midline, and the minimal difference of the laryngeal opening between inhalation and exhalation. Day 25: C. Front view of the larynx at day 25, left arytenoid still diverged. Airway opening still very narrow. D. Caudal (retro-tracheal) view of the larynx, with a large granuloma present adhered to the left side. Day 50: E. Front view of the larynx at day 50, left arytenoid still diverged. Airway opening cleared. F. Caudal view of larynx, barely any trace of the D25 mass left.

mense efforts done in the eradication of this disease in Belgium, clinical cases of IBR have become exceedingly rare (ARSIA, 2021).

While tracheal obstruction due to a foreign body could also be a (rare) possibility of stridor, coughing should be expected due to tracheal irritation. Tracheal or laryngeal compression from an extra-tracheal or extra-laryngeal process, such as a phlegmon after tracheal perforation or a retropharyngeal abscess, are more likely suspects of stridor, but generally come with visible swelling (Anderson and St. Jean, 2008). Tracheal collapse has been described in cattle, albeit in young animals (West, 1997). Tumors of the respiratory tract, such as laryngeal lymphomas, have been described to cause stridor as well (Gleiter et al., 1995; Lardé et al., 2014).

Furthermore, nasopharyngeal and laryngeal granulomas causing severe stridor and respiratory distress have been described as a rare presentation of *Actinobacillus lignieresii* (*A. lignieresii*) infection (Angelo et al., 2009; Boileau et al., 2009). However, these are not the only causes of granuloma formation: other causes are external trauma to structures of the larynx, other infectious agents and foreign bodies (Anderson and St. Jean, 2008).

In this report, the surgical intervention and after-care of an upper airway obstructive necrotic laryngitis in a two-and-a-half-year-old, seven months pregnant Belgian blue heifer is described.

CASE DESCRIPTION

A two-and-a-half-year-old BBCB heifer, seven months pregnant of an embryo-transfer fetus, was referred to the Clinic for Ruminants (University of Liège) in May 2020 with the complaint of stridor and dyspnea since more than three days, unresponsive to treatment with antibiotics (Ceftiofur Hydrochloride, Excenel®, Zoetis, USA) and non-steroidal anti-inflammatory drugs (Tolfenamic acid, Tolfine®, Vétquinol, France). The animal was on pasture when the dyspnea was first noticed and as such, the exact duration of the symptoms was unclear. The farm had a history of necrotic laryngitis in adult cattle, and the year before, another adult pregnant cow had been brought to the clinic with similar symptoms.

The animal, weighing 597 kilos, presented a very audible inspiratory stridor on arrival at the clinic. Respiratory rate was increased to 48 breaths per minute with an exaggerated abdominal breathing pattern. Rectal temperature was high, at 40.2 °C. Heart rate was increased to 100 beats per minute. Upon further inspection, the stridor was clearly coming from the laryngeal region. The eyes and buccal mucosae were congested. Submandibular lymph nodes were swollen; no other swelling or morphological changes could be palpated. Pulmonary auscultation could not be per-

formed due to the very loud laryngeal stridor. Endoscopy was performed the day of arrival. It revealed a deviated and swollen left arytenoid, which was coated with necrotic debris (Figure 1B). Barely any difference in laryngeal opening between inspiration and expiration could be seen (Figures 1A and 1B).

Due to respiratory distress and hyperthermia, which were considered life-threatening for both cow and unborn calf, the decision was made to perform a modified emergency tracheotomy. The head of the animal was fixed upright with the help of two ropes, extending the neck as much as possible without impeding respiration. After clipping, scrub and disinfection of the upper ventral region of the neck, 20 mL of procaine hydrochloride 4% + adrenaline (VMD®, Belgium) was injected subcutaneously in the region around the trachea. A second disinfection was performed before starting with the incision.

Next, the trachea was grasped in one hand and a central vertical incision of 10 cm of the skin and underlying subcutis was made between the second and third tracheal ring under the cricoid cartilage of the larynx with a 24-blade. Three cartilage rings of the trachea were then opened. The opened trachea was attached to the skin by use of single interrupted stitches connecting the tracheal mucosa to the skin with a 5/0 resorbable polyglycolic acid polyfilament suture material (Surgicryl® PGA, SMI AG, Belgium). After suturing, a stainless-steel, self-retaining cannula was inserted in the tracheotomy site to avoid premature closure of the created opening (Figure 2). Immediately following the opening of the trachea, the cow was able to breathe normally.

In the days following hospitalization, transabdominal ultrasound and rectal palpation confirmed the fetus was still alive. Respiratory rate and temperature of the cow remained within normal range. The owner preferred the cow to be hospitalized until the birth of the calf, foreseen fifty days after hospitalization. An antibiotic therapy with 10 mg/kg procaine benzyl penicillin monohydrate intramuscularly (Peni-

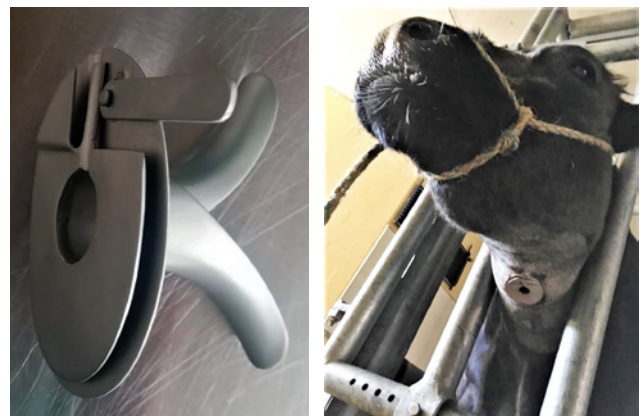


Figure 2. Two part stainless-steel, self-retaining cannula and cannula placement in the cow.

yet Vet®, Syva Laboratorios, Spain) was started the day of hospitalization for a treatment length of four weeks. Furthermore, 10 g of potassium iodide (KI) dissolved in water was drenched daily for ten days. The cannula was taken out twice daily to be cleaned and disinfected with chlorhexidine 0.05%, after which it was rinsed and placed back. At the same time, the external part of the tracheotomy opening was cleaned with cotton gauzes dipped in diluted chlorhexidine, after which the cow was made to cough by instilling 10 ml NaCl 0.9% in the tracheotomy opening to expel any detached crusts.

After three weeks, it became evident that there was still an obstructive process present: when blocking the cannula or when taking it out for cleaning, a laryngeal stridor could be heard immediately. A second endoscopy performed 25 days after surgery showed less evidence of arytenoid necrosis, but still a clear divergence of the left arytenoid with a mass pushing behind it and with very little airway opening (Figure 1C). Attempts to pass the endoscope through the larynx were unsuccessful. The endoscope was then fed through the tracheotomy opening to have a back view of the larynx. With this technique, a granuloma-like mass attached to the left side of the larynx was visible (Figure 1D). As the cow was showing no signs of distress, and after explicit demands by the owner to limit the risk to the unborn calf, it was decided to wait with any attempts to remove the granuloma until the calf was born.

Forty-five days after hospitalization, the cow gave birth to a healthy calf by caesarian section (CS) as is common in BBCB. Fifty days after hospitalization, the endoscopy was repeated. Although there was still a clear deviation of the left arytenoid, the airway was completely clear, and the granuloma had completely disappeared (Figures 1E and 1F). The cannula was removed and within two days, the tracheotomy opening closed by second intention. Upon checkup one month later, both cow and calf were doing well and showed no further health issues.

DISCUSSION

When confronted with a dyspneic animal that presents a stridor, a single dose of dexamethasone is often the first treatment of choice. Its anti-inflammatory and swelling reducing properties work well in case of obstructive swelling due to necrotic laryngitis. However, in this case, the administration of dexamethasone was not an option due to the abortion risk that is inherent to corticoid use (Adams and Wagner, 1970). As such, because nonsteroidal anti-inflammatory drugs and antibiotic administration did not achieve sufficient results fast enough, the animal of the present case was referred to the ruminant clinic as an emergency. Even though the anamnesis only included stridor in the past

few days, it can be hypothesized that the disease had been present for a longer period, given the presence of necrotic debris on the left arytenoid.

In this case, for the tracheotomy, a combination technique using a modified version of the permanent tracheostomy described by Goulding et al. (2003) combined with a stainless-steel, self-retaining cannula typically used in emergency tracheotomies, as described by Nichols (2008), was chosen. This combination was used because of previous unfavorable experiences after permanent tracheo(s)omy in adult BBCB animals without cannula placement or with conventional tracheotomy tube placement: wounds and tubes would close too soon and animals would suffer recurrent respiratory distress or worse, or died of suffocation if not caught fast enough. This is probably due to the thickness of the sternohyoïdus and sternothyroïdus muscles in BBCB, or technical errors during the surgery. Self-retaining cannulas seem to keep the opening clean longer than other devices, possibly due to less buildup of crusts in the trachea around the opening (Nichols, 2008).

Because this cow was pregnant, laryngostomy under general anesthesia was not a good option based on the authors' experience due to the important anesthetic risk. This surgery could have been considered if this animal had been younger, as the prognosis is generally better than performing only tracheotomy, i.e. it allows for local curettage of the necrosis and abscesses if present (Gasthuys et al., 1992). A standing laryngo(s)omy could possibly have given access to the granuloma as well and might as such have shortened the treatment length considerably. However, such a technique is very specialized and difficult to perform in the field. Given the urgency due to the important respiratory distress, the authors considered a combination of tracheotomy and a canule to be the best economic and feasible option on arrival. Afterwards, the owner requested conservative treatment until the birth of the calf.

It is unclear if the granuloma present at day 25 post surgery was already present on the day of the tracheotomy. In retrospect, the authors could have opted already on day one for retro-tracheal endoscopy of the tracheotomy hole to be able to make a full comparison of the healing process. On day one, the nasal endoscopy was concurrent with necrotic laryngitis: there was clear presence of necrosis on the arytenoids, which were so swollen, there was barely any airway opening left (Figures 1 A and 1B).

However, the mass present on day 25 is not as typical as what is normally seen in case of necrotic laryngitis, a disease caused by *F. necrophorum* (Pardon et al., 2018). It looks more like pharyngeal granulomas such as those described in the atypical *A. lignieresii* case reported by Boileau et al. (2009) and Angelo et al. (2009). If *A. lignieresii* indeed can be present in chronic laryngitis cases, this could also explain why

empiric results show improvement when supplementing affected cows with potassium iodide, a treatment commonly used in adult cows with necrotic laryngitis at the Clinic for Ruminants.

It remains remarkable that this farm has had at least two obstructive laryngitis cases in adult animals in as many years late in spring. Elevated (environmental) temperature could be a risk factor, causing an increased respiratory rate in an attempt to decrease body temperature. In the American bison, *Mycoplasma bovis* has been linked to outbreaks of necrotic pharyngitis, including laryngeal abscesses (Dyer et al., 2018). *M. bovis* presence was also confirmed on this farm, though not in this animal. However, no such connections between *M. bovis* and pharyngitis have been made in cattle before.

At day 25 post surgery, when the granuloma was seen on endoscopy, endoscopic removal could have been an option. In that case, a double endoscopy from both sides (nasal and retro-tracheal) with a cauterization loop and a prong might have been able to remove the granuloma safely without it being aspirated into the lungs. However, due to the perceived risk to the fetus, a conservative approach was preferred until the calf was born. In the meantime, the granuloma resolved itself. It remains unclear whether it resorbed or, more probable, it got detached and was coughed out.

Given the recurring laryngitis issues in this farm, herd-specific factors concerning therapy (molecule, treatment length), genetic predisposition, herd-specific bacteria or other (environment related) predisposing factors should be considered. Consistency of treatment length especially is an issue on this farm, which in itself leads to therapy failure, but could also lead to failure due to antimicrobial resistance selection. The molecule chosen by the herd veterinarian in this case (Ceftiofur) was probably selected for its registration as treatment of *F. necrophorum*-caused, interdigital necrobacillosis (Kausche et al., 2003). However, given its status as a third-generation cephalosporin, and its 'red' classification on the critical antibiotics list of the Antimicrobial Consumption and Resistance in Animals agency (AMCRA), the authors wish to underline the need for an early treatment of a sufficiently long time with a first-line antibiotic such as penicillin, or early surgical intervention, instead of opting for third-line antimicrobials (AMCRA, 2021). Furthermore, the use of these 'red' or critical antimicrobials is only permitted in Belgium in those cases where laboratory testing and antimicrobial resistance testing have shown the need for these kind of molecules (AMCRA, 2021), a condition that was not met in this case.

CONCLUSION

Modified tracheotomy can be used as a fast, economic and easily feasible technique to treat obstructive respiratory emergencies, even in larger cattle. The placement of a self-retaining cannula can help to keep open the created opening until the larynx has had the opportunity to heal, until pregnant animals have the chance to bear to term or until cattle under withdrawal times are cleared to be slaughtered. Retro-tracheal endoscopy of the tracheotomy opening can be considered in laryngitis cases that don't seem to progress favorably or don't resolve fast enough, to check for granulomas, abscesses or other obstructive processes.

REFERENCES

- Adams W. M., Wagner, W. C. (1970). The role of corticoids in parturition. *Biology of Reproduction* 3, 223-228.
- AMCRA. (2021). Web page, consulted 21/12/2021. <https://formularium.amcra.be/classification.php>
- Anderson, D. E., St. Jean, G. (2008). Surgery of the upper respiratory system. *Veterinary Clinics Food Animal Practice* 24, 319-334.
- Angelo, P., Alessandro, S., Noemi, R., Giuliano, B., Filippo, S., Marco, P. (2009). An atypical case of respiratory actinobacillosis in a cow. *Journal of Veterinary Science* 10, 265-267.
- ARSIA (2021). Etat d'avancement de la lutte IBR. Web page, consulted 01/02/2021. https://www.arsia.be/wp-content/uploads/2021/01/2021_IBR_WEBINAIRE_4_Etat_Avancement.pdf
- Boileau, M. J., Jann, H. W., Confer, A. W. (2009). Use of a chain écraseur for excision of a pharyngeal granuloma in a cow. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 234, 935-937.
- Dyer, N., Register, K. B., Miskimins, D., Newell, T. (2013). Necrotic pharyngitis associated with *Mycoplasma bovis* infections in American bison (*Bison bison*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 25, 301-303.
- Gasthuys, F., Verschooten, F., Parmentier, D., De Moor, A., Steenhaut, M. (1992). Laryngotomy as a treatment for chronic laryngeal obstruction in cattle: a review of 130 cases. *Veterinary Record* 130, 220-223.
- Gleiter, L., Meyer, B., McGuiirk, S. (1995). Respiratory distress due to a laryngeal mass in a Holstein cow. *The Bovine Practitioner* 29, 156-158.
- Goulding, R., Schumacher, J., Barrett, D. C., Fitzpatrick, J. L. (2003). Use of a permanent tracheostomy to treat laryngeal chondritis and stenosis in a heifer. *Veterinary Record* 152, 809-811.
- Kausche, F. M., Robb, E. J. (2003). A comprehensive review of ceftiofur sodium and hydrochloride formulations for treatment of acute bovine foot rot. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine* 4, 83-93.
- Lardé, H., Nichols, S., Babkine, M., Chénier, S. (2014).

- Laryngeal obstruction caused by lymphoma in an adult dairy cow. *The Canadian Veterinary Journal* 55(2), 136-140.
- Milne, M. H., Barrett, D. C., Sullivan, M., Fitzpatrick, J. L. (2000). Successful medical treatment of laryngeal chondritis in cattle. *Veterinary Record* 147, 305-306.
- Nichols, S. (2008). Tracheotomy and tracheostomy tube placement in cattle. *Veterinary Clinics Food Animal Practice* 24, 307-317.
- Pardon, B., Ribbens, S., Van Damme, L., Vlaminck, L., Martens, A., Deprez, P. (2018). Use of a national identification database to determine the lifetime prognosis in cattle with necrotic laryngitis and the predictive value of venous pCO₂. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32, 1462-1470.
- West, H. J. (1997). Tracheolaryngostomy as a treatment for laryngeal obstruction in cattle. *The Veterinary Journal* 153, 81-86.



© 2022 by the authors. Licensee Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, Ghent University, Belgium. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of

the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Uit het verleden

BELGISCHE DIKBIL of 'DUTCH-BUTTOCKED'?

“In een deel van Yorkshire kozen de landbouwers gedurig rundvee met groote achterdeelen uit, tot zij een ras hadden gevormd dat zij ‘dutchbuttocked’ noemden, en de monsterachtige groote van de van de achterdeelen van het kalf was vaak voor de koe noodlottig en tal van koeien werden ieder jaar bij het kalven verlooren.”

Een Hollandse (Dutch) dikbil dus. Waarom Hollands? En hoe kwam deze genetische aanleg in Belgische rassen terecht?

Citaat uit Darwin, Ch., *Het variëeren der huisdieren en cultuurplanten* (deel 1, p. 504 van de vertaling van de tweede Engelse uitgave uit 1875 van *Variation of Species of Animals and Plants under Domestication*, in 1890 uitgegeven door Cohen, Arnhem). Darwin refereert bij deze passage aan Youatt, W., *Cattle: their Breeds, Management, and Diseases*, Londen, 1834 (Baldwin en Cradock), p. 284.

Luc Devriese

Contaminatiegraad van vaccinatiespuiten voor varkens en beïnvloedende factoren

Degree of syringe contamination in pigs and influencing factors

¹Michiels, ²J. Vrielinck, ³S. Dalle, ²D. Maes

¹Hipra Benelux, Nieuwewandeling 62, 9000 Gent, België

²Vakgroep Interne Geneeskunde, Voortplanting en Populatiegeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, België

³Département Clinique des Animaux de Production Clinique porcine
Faculté de Médecine Vétérinaire de ULiège, Avenue de Cureghem, 7D BAT. B42, 4000 Liège, België

annelies.michiels@hipra.com

SAMENVATTING

Goede vaccinatiëpraktijken dragen bij tot een goede werkzaamheid van een vaccin. Deze studie had als doelstelling om de hygiëne van vaccinatiespuiten op varkensbedrijven te onderzoeken. De contaminatiegraad met bacteriën, gisten en schimmels en mogelijke risicofactoren hiervoor van 79 vaccinatiespuiten werd onderzocht, alsook het effect van herhaaldelijk injecteren van de huid op contaminatie van de vaccinfles. Het percentage spuiten met een lage (<10 kolonievormende eenheden, KVE/ml), matige (11-10000 KVE/ml) en hoge (>10000 KVE/ml) contaminatie met bacteriën bedroeg respectievelijk 32, 27 en 42. Voor de gisten/schimmels was het percentage contaminatie van de spuiten respectievelijk 49, 37 en 14 voor de hogergenoemde categorieën. De contaminatie was significant lager bij spuiten die gereinigd en in de koelkast bewaard werden. Het aanprikken van de huid resulteerde in een variabele bacteriële contaminatie, maar had weinig invloed op de gisten/schimmeltelling. Het onderzoek toont aan dat vaccinatiespuiten voor varkens erg gecontamineerd kunnen zijn en dat bepaalde maatregelen zoals de spuit reinigen en in de koelkast bewaren, gunstig zijn.

ABSTRACT

Good vaccination practices may contribute to a good efficacy of vaccines. In this study, the hygiene of vaccination syringes on pig farms was investigated. The degree of contamination with bacteria, yeasts and molds and the potential risk factors for this contamination of 79 vaccination syringes were examined, as well as the effect of repeated skin injections on contamination of the vaccine bottle. The percentage syringes with low (<10 colony forming units CFU/ml), moderate (11-10000 CFU/ml) and high (>10000 CFU/ml) contamination with bacteria was 32, 27 and 42, respectively. Regarding the yeast/molds, the percentage syringe contamination was 49, 37 and 14 for the categories mentioned above. Contamination was significantly lower in syringes that were both cleaned and stored in the refrigerator. Skin injections resulted in variable bacterial contamination, but had little impact on the yeast/mold count. In this study, it is shown that syringes for vaccinating pigs can be very contaminated, and that measures such as cleaning the syringe and storing it in the refrigerator are beneficial.

INLEIDING

Het toenemend belang van ziektepreventie en het verminderd gebruik van antimicrobiële middelen hebben ervoor gezorgd dat er in de varkenshouderij meer wordt gevaccineerd dan voorheen. Zowel bij

fokdieren als bij biggen worden frequent vaccins toegediend tegen bacteriële en virale pathogenen. Het is belangrijk dat de vaccins *lege artis* toegediend worden. Goede vaccinatiëpraktijken (GVP) omvatten de maatregelen die nodig zijn om een optimaal effect van een vaccin te bereiken. De GVP zijn van toepassing

van zodra een vaccin de producent verlaat, tijdens de distributiefase, opslagfase en de fase tot het wordt toegediend aan het doeldier (Lloyd en Cheyne, 2017; Vangroenweghe, 2017). Belangrijke onderdelen van GVP zijn de bewaring van de vaccins, het voorbereidend werk voor het vaccineren, de nodige registratie, het materiaal waarmee gevaccineerd wordt, de plaats van toediening en alle factoren die verband houden met de hygiëne van de naald en de vaccinatiespuit.

Tot dusver is er weinig onderzoek verricht naar GVP in de varkensgezondheidszorg. Onderzoek heeft aangetoond dat de bewaartemperatuur van vaccins op varkensbedrijven voor verbetering vatbaar is (Lloyd en Cheyne, 2017; Vangroenweghe, 2017). Ook de hygiëne van de vaccinatiespuiten gebruikt voor intramusculaire injecties op varkensbedrijven werd nog maar weinig onderzocht. Vaccins voor varkens worden niet toegediend met steriele wegwerpmaterialen, maar met spuiten die in het beste geval gereinigd worden. Het enten met verontreinigd materiaal kan de werkzaamheid van een vaccin verminderen, leiden tot infecties en ongewenste interacties.

Nienhoff et al. (2017) onderzochten de contaminatiegraad van 18 automatische vaccinatiespuiten door ze te spoelen met fysiologisch water en de inhoud van de spuit uit te enten. In vier van de 18 spuiten kon geen kiemgroei of gisten/schimmelgroei worden aangetroffen. In elf spuiten kon er aspecifieke bacteriële groei gedetecteerd worden maar kon de kiem zelf niet geïdentificeerd worden. Bovendien konden uit twee spuiten coliformen opgekweekt worden, en eveneens werd in twee spuiten *Pseudomonas aeruginosa* aangetroffen. Twaalf en acht spuiten waren besmet met respectievelijk gisten en schimmels. In de studie van Nienhoff et al. (2017) werden de automatische (wegwerp)vaccinatiespuiten vier tot 16 weken gebruikt. In realiteit zijn er ook varkenshouders die hun automatische (wegwerp)spuiten gebruiken tot ze defect zijn (Nienhoff et al., 2017). In de studie kon geen link gevonden worden met wat de contaminatiegraad betreft en het aantal weken dat de spuit reeds werd gebruikt. Het reinigingsprotocol van deze spuiten bestond bijna steeds uit het doorspoelen van de spuit met water zonder zeep of desinfectans.

In theorie behouden geïnactiveerde vaccins hun werking tot 24 uur na het aanprikken van de fles (Vangroenweghe, 2017). Flessen die reeds werden aangeprikt maar niet volledig opgebruikt werden, moeten steeds in de koelkast bewaard worden (Muirhead et al., 2013). Dit is enkel mogelijk in geval van dode vaccins met een bewaarmiddel. Het is aangewezen om de rubberen dop van het flesje met een desinfecterend doekje af te vegen vóór het volgend gebruik (Muirhead et al., 2013). De naald waarmee een injectie wordt toegediend, wordt het best niet gebruikt om een vaccin flesje aan te prikken, vooral niet wanneer het flesje met inhoud bewaard moet worden voor een volgende vaccinatiesessie. Het risico bestaat immers dat het flesje gecontamineerd wordt met micro-organismen afkomstig van het dier, bijvoorbeeld de huid

of het bloed (Vangroenweghe, 2017).

Uit het voorgaande blijkt dat er weinig bekend is over de hygiëne van de vaccinatiespuiten op varkensbedrijven en de factoren die kunnen leiden tot contaminatie. De doelstellingen van het onderzoek waren om:

- de hygiëne van vaccinatiespuiten gebruikt voor intramusculaire injecties door varkenshouders in Nederland en België in kaart te brengen (studie 1)
- factoren die de contaminatiegraad van deze vaccinatiespuiten kunnen beïnvloeden te onderzoeken (studie 2)
- het effect van het aanprikken van de vaccin fles met eenzelfde naald gebruikt voor de intramusculaire injectie aan te tonen (studie 3)

MATERIAAL EN METHODEN

Studie 1: Contaminatie van vaccinatiespuiten voor intramusculaire injectie op varkensbedrijven

Verzamelen van de gegevens

Bij aanvang van het onderzoek werden vijf nieuwe ongebruikte automatische vaccinatiespuiten onderzocht. Nadien werden er in totaal 79 vaccinatiespuiten in het onderzoek opgenomen. Ze waren afkomstig van bedrijven in België (51 vaccinatiespuiten van 26 varkensbedrijven) en Nederland (28 vaccinatiespuiten van 11 varkensbedrijven). Alle spuiten werden doorgespoeld met 5 ml *aqua ad iniectabilia* (solvent Gestavet 600[®], Hipra Benelux, Gent, België) en vervolgens werd de inhoud van de doorgespoelde spuit verzameld in een steriel buisje. In afwachting van transport naar het laboratorium (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, Torhout, België) werden de stalen bij 4°C bewaard.

Analyse van de stalen

Binnen de 24 uur werden de stalen aan het laboratorium aangeboden. Daar werden de stalen uitgeënt voor kiemtelling aan 37°C en gisten- en schimmeltelling. De telling van het totaal aantal aerobe kiemen gebeurde aan de hand van een tienvoudige verdunningsreeks en de resultaten werden uitgedrukt in kolonievormende eenheden per ml (KVE/ml). Het medium van de platen dat gebruikt werd voor de kiemtelling was standaard “plate count agar” samengesteld uit 2,5 g/l gistextract, 5,0 g/l “pancreatic digest of casein”, 1,0 g/l glucose en 15,0 g/l Agar aan een pH van 7,0. De incubatie gebeurde aan 37°C gedurende twee dagen. De telling van de gisten/schimmels gebeurde eveneens aan de hand van een tienvoudige verdunningsreeks uitgeënt op oxytetracycline “Glucose Yeast Extract”-medium en uitgedrukt in KVE/ml. De samenstelling van het medium was 5,0 g/l gistextract, 20,0 g/l glucose, 12,0 g/l Agar, aan een pH van 7,6. De incubatie gebeurde aan een temperatuur

van 22°C gedurende vijf dagen.

Verwerking van de gegevens

Voor de beschrijving van de data (Microsoft Excel 2016, Redmond, Washington, USA) werden de afhankelijke continue variabelen ‘kiemgetal aan 37°C’ en ‘gisten/schimmeltelling uitgedrukt in KVE/ml’ onderverdeeld in drie categorieën: lage (≤ 10 KVE/ml), matige (11-10 000 KVE/ml) en hoge contaminatie ($> 10\ 000$ KVE/ml) van de geteste vaccinatiespuiten.

Studie 2: Factoren die de contaminatiegraad van vaccinatiespuiten beïnvloeden

Verzamelen van de gegevens

Aansluitend op studie 1 werden er aan de varkenshouders vragen gesteld over het gebruik van de vaccinatiespuiten: de diercategorie waarvoor de spuit werd gebruikt (biggen, fokdieren of allebei), het al of niet gebruiken van een rigide verlengstok bij het enten (ja/nee), het reinigen van de vaccinatiespuit na afloop van enten (ja/nee) en het bewaren van de spuit bij 4°C (ja/nee). Het type vaccinatiespuit werd ook genoteerd: verlengde entframe (“ingeljectframes”), herbruikbare spuit (type genia, roux, hauptner, etc.) of automatische wegwerpspuit.

Verwerking van de gegevens

Voor de statistische analyse werden de afhankelijke variabelen ‘kiemgetal aan 37°C’ en ‘gisten/schimmeltelling’ log-getransformeerd om data te normaliseren en aldus te kunnen voldoen aan de assumpties van lineaire regressie. Er werden twee afzonderlijke modellen gemaakt: een met kiemgetal als afhankelijke variabele, een met gisten/schimmeltelling als afhankelijke variabele. De antwoorden op de vragen waren de onafhankelijke variabelen. Een backward stapsgewijze lineaire regressie werd uitgevoerd. De analyses werden uitgevoerd in het software pakket R-3.5.3 (R software packet 3.5.3.).

Studie 3: Het effect van het aanprikken van de vaccinatieflles met dezelfde naald gebruikt voor injecties

Er werd gebruik gemaakt van slachthuismateriaal (de kop inclusief de hals van slachtvarkens). Een 14 G x 1”-naald (2,0 mm x 25 mm) (MS Schippers, Arendonk, België) gemonteerd op een 10 ml Luer Lock-wegwerpspuit (Terumo Europe N.V., Leuven, België) werd gebruikt om de huid van het varken ter hoogte van de aangeduide vaccinatiedriehoek te injecteren.

Vervolgens werd 5 ml *aqua ad iniectabilia* geaspiereerd met deze naald en terug in het flesje gespoten. Deze procedure werd herhaald, maar nu telkens met

een naald waarmee de huid 2, 3, 4, 5, 10, 20 of 50 keer werd aangeprikt. De vloeistof werd op het einde terug in het flesje gespoten en de acht vloeistoffen werden gedurende drie weken bij 4°C bewaard. Nadien werd een kiemtelling aan 37°C en een gisten/schimmeltelling uitgevoerd zoals vermeld in studie 1.

RESULTATEN

Studie 1: Contaminatie van vaccinatiespuiten voor intramusculaire injectie op varkensbedrijven

De kiemtellingen aan 37°C van de vijf nieuwe automatische vaccinatiespuiten bedroegen 1, 0, 1, 0 en 1 KVE/ml. Voor de gisten/schimmeltelling bedroeg de KVE/ml telkens 0.

De resultaten van de beschrijvende data kunnen geraadpleegd worden in Tabel 1, 2, 3 en 4. De percentages spuiten die weinig, matig en erg bacterieel gecontamineerd waren, bedroegen respectievelijk 32%, 27%, 42%. De percentages spuiten die weinig, matig en erg gecontamineerd waren met gisten/schimmels, bedroegen respectievelijk 49%, 37%, 14%.

Studie 2: Factoren die de contaminatiegraad van vaccinatiespuiten beïnvloeden

Beschrijvende resultaten

De contaminatie van de vaccinatiespuiten in relatie tot de mogelijke risicofactoren wordt samengevat in Tabel 3 en 4.

Mogelijke associaties werden onderzocht door middel van twee afzonderlijke lineaire regressiemodellen. Een aantal variabelen werd niet in de modellen weerhouden omdat er een groot verschil was in aantal observaties per klasse tussen de Belgische en Nederlandse bedrijven en er dus geen betrouwbare vergelijking kon gemaakt worden. Dit was het geval voor vaccinatiespuiten met prolongator (Nederland 3 versus België 14), spuiten met verlengde entframes (Nederland 12 versus België 4), automatische wegwerpspuiten (Nederland 14 versus België 34).

Resultaten van statistische analyses

De finale modellen voor contaminatie met bacteriën en met gisten/schimmels worden in Tabel 5 en 7 weergegeven. De factoren ‘diercategorie’, ‘bewaren in de koelkast’ en ‘implementatie reinigingsmodel’ hadden geen significante impact op de bacteriële contaminatie, noch op de contaminatie met gisten en schimmels. Er was een significant interactie-effect tussen ‘bewaren in de koelkast’ en ‘implementatie reinigingsmodel’ voor beide finale modellen ($P < 0,001$); met andere woorden, het reinigen van de spuit en het bewaren van de spuit in de koelkast leidden enkel tot een significante daling van de contaminatie.

Tabel 1. Bacteriële contaminatiegraad van vaccinatiespuiten (n=79) afkomstig van 37 varkensbedrijven.

Parameter	Laag (<10 KVE/ml)	Matig (11- 10 000 KVE/ml)	Hoog (> 10 000 KVE/ml)	Totaal
Aantal spuiten (%)	25 (32)	21 (27)	33 (42)	79 (100)
Gemiddelde kiemtelling ± SD (KVE/ml)	2,6 ± 2,5	1684,0 ± 2067,3	107345,5 ± 60762	45289,0 ± 65683,2
Mediaan kiemtelling ± interquartile range	2,0 ± 5,0	1000,0 ± 2293,0	150000,0 ± 119 500,0	1800,0 ± 149995,0
Gebruik diercategorie				
Fokdieren	9	13	14	36
Biggen	14	5	14	33
Beiden (fokdieren + biggen)	2	3	5	10
Gebruik rigide verlengstok				
Nee	22	13	26	61
Ja	3	8	7	18
Bewaring in koelkast				
Nee	10	18	25	53
Ja	15	3	8	26
Reinigingsprotocol				
Nee	9	2	7	18
Ja	16	19	26	61
Bewaring in koelkast + reinigingsprotocol				
Nee	17	20	31	68
Ja	8	1	2	11
Type spuit				
Automatische wegwerpspuit	19	10	18	47
Niet-wegwerpspuit	5	5	6	16
Verlengde entframe	1	6	9	16

KVE: kolonievormende eenheden, SD: standaarddeviatie

tie met kiemen en gisten/schimmels wanneer beide tegelijkertijd werden geïmplementeerd. De beschrijvende resultaten van het effect van het reinigen, het in koelkast plaatsen en de combinatie van beide op contaminatie van vaccinatiespuiten met bacteriën en met gisten/schimmels (n=79) worden in Tabel 6 en 8 geïllustreerd.

Studie 3: Het effect van het aanprikken van de vaccinatiefles met dezelfde naald gebruikt voor injecties

Het tweemaal aanprikken van de huid, daarna de fles aanprikken, de vloeistof aspireren, gedurende drie weken bewaren en vervolgens kiemtellingen aan 37°C

uitvoeren, leidden tot 77000 KVE/ml. Wanneer men met de naald de huid 10x, 20x of 50x aanprikte, leidde dit tot een contaminatie van respectievelijk 24000, 139000 en 65000 KVE/ml.

Het meermaals aanprikken van de huid had weinig invloed op de gisten/schimmeltelling van de vloeistof na drie weken bewaren in de koelkast (Figuur 1). Enkel de huid 10 maal aanprikken leidde tot 320 KVE/ml gisten/schimmels in de bewaarde vloeistof.

DISCUSSIE

Uit dit onderzoek blijkt dat voor een optimale werking van vaccins ook aandacht moet besteed worden

Tabel 2. Contaminatie van vaccinatiespuiten met gisten en schimmels afkomstig van 37 varkensbedrijven.

Parameter	Laag (<10 KVE/ml)	Matig (11- 10 000 KVE/ml)	Hoog (> 10 000 KVE/ml)	Totaal
Aantal spuiten (%)	39 (49)	29 (37)	11 (14)	79
Gemiddelde gisten/ schimmeltelling ± SD	0,7 ± 1,6	1213,0 ± 2191,9	87276,4 ± 72249,6	12598,0 ± 39811,7
Mediaan gisten/schimmeltelling ± interquartile range	0,0 ± 1,0	210,0 ± 943,0	106000,0 ± 136000,0	12,0 ± 530,0
Gebruik diercategorie				
Gelten/zeugen	14	14	8	36
Biggen	17	13	3	33
Beiden (gelten/zeugen + biggen)	8	2	0	10
Gebruik rigide verlengstok				
Nee	32	22	7	61
Ja	7	7	4	18
Bewaring in koelkast				
Nee	22	25	6	53
Ja	17	4	5	26
Reinigingsprotocol				
Nee	10	3	5	18
Ja	29	26	6	61
Bewaring in Koelkast + reinigingsprotocol				
Nee	31	26	11	68
Ja	8	3	0	11
Type spuit				
Automatische wegwerpspuit	23	17	7	47
Niet-wegwerpspuit	6	6	4	16
Verlengde entframe	10	6	0	16

KVE: kolonievormende eenheden, SD: standaarddeviatie

aan goede hygiëne. In de literatuur werd tot dusver vooral de nadruk gelegd op een correcte bewaartemperatuur (Vangroenweghe, 2017). De resultaten toonden aan dat spuiten gebruikt om vaccins toe te dienen op varkensbedrijven erg gecontamineerd kunnen zijn, vooral met bacteriën. Bij 42% van de spuiten was er een hoge bacteriële contaminatie (>10000 KVE/ml) aanwezig. De contaminatie met gisten/schimmels was lager, namelijk bij slechts 14% van de spuiten was er een hoge contaminatie. Dit betekent dus dat er bij het vaccineren ongewild kiemen en gisten/schimmels met de entstof mee kunnen worden geïnjecteerd. Dit kan leiden tot infecties ter hoogte van de injectieplaats en uiteindelijk ook tot abscessen (Beffort et al., 2017). Verder kan de contaminatie de werkzaamheid van de

toegediende vaccins verminderen (Chase en Lunney, 2012). Tenslotte is het ook mogelijk dat het dier immuniteit opbouwt tegen de kiemen en gisten/schimmels die mee met het vaccin worden geïnjecteerd. Dit kost energie die het dier niet meer kan gebruiken voor andere zaken, zoals groei. De impact van dergelijke onreine spuiten op de vaccinatie resultaten moet verder onderzocht worden. Daarnaast waren er in deze studie ook veel varkenshouders die wel een hoge standaard aanhielden wat betreft hygiëne van hun vaccinatiespuiten. Bij 32% van de spuiten was er een lage bacteriële contaminatie en bij 49% een lage contaminatie voor wat gisten/schimmels betreft.

Van alle onderzochte mogelijke risicofactoren waren enkel het bewaren van de spuit in de koelkast en de

Tabel 3. Bacteriële verontreiniging (KVE/ml) van vaccinatiespuiten (n=79) afkomstig van 37 varkensbedrijven in relatie tot mogelijke risicofactoren.

Predictor variabelen	Uitkomst variabele		
Diercategorie waarbij vaccinatiespuit gebruikt wordt	Fokdieren	Biggen	Beiden (fokdieren + biggen)
Gemiddelde ± SD	41974,6 ± 63248,1	56166,0 ± 72345,4	21326,7 ± 45919,7
Mediaan ± interquartile range	2050,0 ± 112988	1800,0 ± 149998,0	6375,0 ± 17973,0
Gebruik rigide verlengstok	Nee	Ja	
Gemiddelde ± SD	45992,3 ± 66060,1	42905,5 ± 66219,5	
Mediaan ± interquartile range	2600,0 ± 149997,0	990,0 ± 134965,0	
Bewaring in koelkast	Nee	Ja	
Gemiddelde ± SD	51741,0 ± 68121,5	32136,7 ± 59498,7	
Mediaan ± interquartile range	6400,0 ± 149966,0	5,00 ± 36749,0	
Reinigingsprotocol	Nee	Ja	
Gemiddelde ± SD	45163,4 ± 67591,0	45326,0 ± 65682,1	
Mediaan ± interquartile range	14,5 ± 150000,0	2200,0 ± 149993,0	
Bewaring in koelkast + reinigingsprotocol	Nee	Ja	
Gemiddelde ± SD	51929,6 ± 68417,7	4238,1 ± 11629,2	
Mediaan ± interquartile range	2750,0 ± 149988,0	3,0 ± 3599,0	
Type spuit	Automatische wegwerpspuit	Niet-wegwerpspuit	Verlengde entframe
Gemiddelde ± SD	47461,7 ± 68002,1	39935,6 ± 65935,3	44260,1 ± 62122,1
Mediaan ± interquartile range	1800,0 ± 149997,0	705,0 ± 118497,0	11050,0 ± 112188,0

spuit reinigen significant geassocieerd met een lagere contaminatiegraad voor bacteriën en voor gisten/schimmels, en enkel op de bedrijven waar beide maatregelen samen werden toegepast. De spuit doorspoelen met water en vervolgens aan kamertemperatuur bewaren of de spuit niet reinigen en bewaren in de koelkast, beide vaak uitgevoerd in praktijk, blijken dus niet effectief te zijn om de contaminatiegraad van de vaccinatiespuit te beperken. De meeste varkenshouders in de studie implementeerden een reinigingsprotocol (61 van 79 onderzochte spuiten). Echter, veel verder dan de vaccinatiespuit doorspoelen met koud water ging het bij de meeste varkenshouders niet. Slechts enkele varkenshouders gebruikten warm water en een hele kleine fractie gebruikte een reinigingsproduct. Geen enkele varkenshouder bewaarde de vaccinatiespuiten in een afgesloten doos. Dit wordt nochtans geadviseerd om te vermijden dat kiemen of gisten/schimmels vanuit een eventueel verontreinigde koelkast in de spuit terecht zouden komen (Gazmararian et al., 2002).

Uit het onderzoek kan tevens besloten worden dat het aanprikken van de huid en het vaccin met dezelfde

naald aanleiding kan geven tot een significante bacteriële contaminatie van het vaccin, ook al werd het vaccin in de koelkast bewaard. Er was geen proportionele associatie tussen het aantal keren aanprikken van de huid en bacteriële contaminatie. Dit is mogelijk te verklaren doordat de huid niet op telkens dezelfde plaats werd aangeprikt, alhoewel dit wel steeds in dezelfde regio gebeurde (vaccinatiedriehoek). Verder is het aannemelijk dat deze contaminatie in geval van injectie van levende varkens nog veel beduidender kan zijn. In deze studie werd gebruik gemaakt van slachthuismateriaal. De huid van varkensskarkassen is in vergelijking met levende varkens wellicht minder gecontamineerd, gezien de karkassen in het slachthuis afgekoeld dienen te worden tot een temperatuur van lager dan 7°C om zodoende de bacteriële groei een halt toe te roepen (Peruzy et al., 2021). Het aanprikken van de huid had weinig effect op de contaminatie van het vaccin met gisten/schimmels. Dit komt wellicht door het feit dat gisten en schimmels minder talrijk op de huid van varkens voorkomen dan bacteriën.

In de humane geneeskunde werd gezien dat het informeren van artsen aangaande een goede bewaring

Tabel 4. Contaminatie van vaccinatiespuiten met gisten/schimmels (n=79) afkomstig van 37 varkensbedrijven in relatie tot mogelijke risicofactoren.

Predictor variabelen	Uitkomst variabele		
Diercategorie waarbij vaccinatiespuit gebruikt wordt	Fokdieren	Biggen	Beiden (fokdieren + biggen)
Gemiddelde ± SD	13365,9 ± 36029,9	15557,6 ± 48833,8	67,3 ± 194,7
Mediaan ± interquartile range	65,0 ± 4125,0	4,0 ± 195,0	0,0 ± 17
Gebruik rigide verlengstok	Nee	Ja	
Gemiddelde ± SD	15360,9 ± 44847,1	3234,8 ± 7310,2	
Mediaan ± interquartile range	3,0 ± 515,0	111,5 ± 1139,0	
Bewaring in koelkast	Nee	Ja	
Gemiddelde ± SD	8234,3 ± 33791,3	21493,4 ± 49471,3	
Mediaan ± interquartile range	40,0 ± 750,0	0,00 ± 283,0	
Reinigingsprotocol	Nee	Ja	
Gemiddelde ± SD	31047,7 ± 57315,0	7153,9 ± 31582,7	
Mediaan ± interquartile range	2,5 ± 44500,0	17,0 ± 455,0	
Bewaring in koelkast + reinigingsprotocol	Nee	Ja	
Gemiddelde ± SD	14625,2 ± 42605,6	66,4 ± 156,9	
Mediaan ± interquartile range	20,5 ± 1045,0	0,0 ± 20,0	
Type spuit	Automatische wegwerpspuit	Niet-wegwerpspuit	Verlengde entframe
Gemiddelde ± SD	19710,1 ± 50378,8	3502,3 ± 7718,2	802,0 ± 1967,4
Mediaan ± interquartile range	12,0 ± 1100,0	205,0 ± 597,0	2,0 ± 326,0

Tabel 5. Finaal lineair regressiemodel met significante risicofactoren voor bacteriële contaminatie van vaccinatiespuiten (n=79) afkomstig van 37 varkensbedrijven.

	Coëfficiënt ± SE	P-waarde
Intercept B ₀	2,5 ± 1,1	0,024
Reinigen	1,0 ± 1,1	0,384
Bewaren in de koelkast	1,3 ± 1,2	0,296
Reinigen x bewaren in de koelkast	-4,5 ± 1,29	0,001

SE: standard error

Tabel 6. Descriptieve gegevens van het effect van het reinigen, het plaatsen in de koelkast en de combinatie van beide op bacteriële contaminatie van vaccinatiespuiten (n=79).

	Contaminatie (KVE/ml)		
	Laag	Matig	Hoog
Niet gereinigd	20	11	39
Gereinigd	26	31	43
Niet in koelkast	19	34	47
In koelkast	58	11	31
Gereinigd en in koelkast	73	9	18

KVE: kolonievormende eenheden: weinig <10; matig 11-10000; erg >10000

Tabel 7. Finaal lineair regressiemodel met significante risicofactoren voor contaminatie met gisten/schimmels van vaccinatiespuiten (n=79) afkomstig van 37 varkensbedrijven.

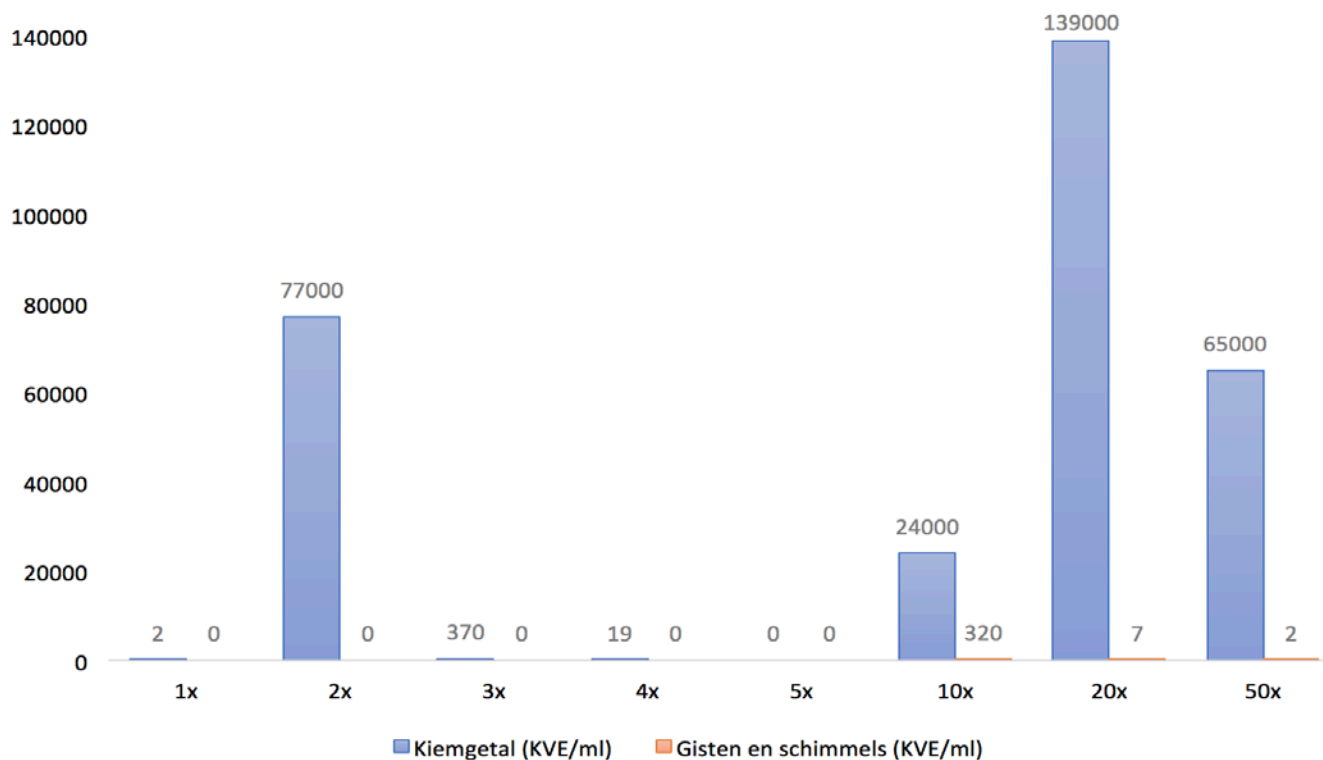
	Coëfficiënt ± SE	P-waarde
Intercept B ₀	2,5 ± 0,91	0,00675
Reinigen	-0,27 ± 0,94	0,775
Bewaren in de koelkast	0,91 ± 1,0	0,376
Reinigen x bewaren in de koelkast	-3,0 ± 1,1	0,010

SE: standard error

Tabel 8. Descriptieve gegevens van het effect van reinigen, in koelkast plaatsen en de combinatie van beide op contaminatie met gisten/schimmels van vaccinatiespuiten (n=79).

	Contaminatie (KVE/ml)		
	Laag	Matig	Hoog
Niet gereinigd	55	17	28
Gereinigd	49	43	8
Niet in koelkast	42	47	11
In koelkast	66	15	19
Gereinigd én in koelkast	73	27	0

KVE: kolonievormende eenheden: weinig <10; matig 11-10000; erg >10000



Figuur 1. Resultaten van kiemtellingen bij 37°C en gisten/schimmeltellingen na drie weken bewaren van geaspireerde vloeistof aan koelkasttemperatuur bij het x-aantal keer aanprikken van de varkenshuid. De contaminatie wordt uitgedrukt in kolonievormende eenheden per ml (KVE/ml).

van vaccins een positief effect kan hebben. Ook het aanduiden van één verantwoordelijk persoon in de kliniek heeft een positief effect (Thielmann et al., 2015). Het informeren en sensibiliseren van varkenshouders aangaande goede vaccinatiepraktijken zouden wellicht ook kunnen bijdragen tot een beter toedienings- en bewaarbeleid van vaccins op varkensbedrijven.

CONCLUSIE

De resultaten tonen aan dat er in de studie een hoge contaminatie was van vaccinatiespuiten op Belgische en Nederlandse varkensbedrijven en dat het gecombineerd toepassen van het reinigen van de spuit en ze in de koelkast bewaren, kan leiden tot een significant lagere contaminatie. Tevens blijkt dat het beter is om de vaccinatiefles niet aan te prikken met dezelfde naald waarmee gevaccineerd wordt. Deze factoren kunnen naast een goede bewaartemperatuur bijdragen tot een optimaal gebruik van vaccins op varkensbedrijven. Verder onderzoek is gewenst naar de efficiëntie van reinigings- en ontsmettingsprotocollen voor vaccinspuiten op varkensbedrijven.

DANKWOORD

De auteurs willen graag Sjouke Van Poucke en Denise Meijer bedanken voor de hulp met de proefopzetten en het uitvoeren van de verschillende studies.

LITERATUUR

Beffort L., Weiß C., Fiebig K., Jolie R., Ritzmann M., Edicks M. (2017). Field study on the safety and efficacy

of intradermal versus intramuscular vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Record* 181, 348-354.

Chase C.C., Lunney J.K. (2012). Immune system. In: Zimmerman J.J., Karriker L.L., Ramirez A., Schwarz K.J., Stevenson G.W. (Editors). *Diseases of Swine*. Tenth edition. John Wiley & sons, West-Sussex, U.K., 264-291.

Gazmararian J.A., Oster, N.V., Green D.C., Schuessler L., Howel K., Davis J., Krovisky M. Warburton S.W. (2002) Vaccine storage practices in primary care physician offices – assessment and intervention. *American Journal of Preventive Medicine* 23, 246-253.

Lloyd J., Cheyne J. (2017). The origins of the vaccine cold chain and a glimpse to the future *Vaccine* 35, 2115-2120.

Nienhoff H., Brase K., Beckmann K. (2017). Investigations of bottle mount vaccinators hygiene in north-west-german pig farms. In: 28. *Internationale SGD-Tagung "Schweine gesund halten"*. Erfurt, Germany.

Peruzy M.F, Houf K., Joossens M., Yu Z., Proroga Y.T.R., Murru N. (2021). Evaluation of microbial contamination of different pork carcass areas through culture-dependent and independent methods in small-scale slaughterhouses. *Journal of Food Microbiology* 336, 108902.

Thielmann A., Viehmann A., Weltermann B.M. (2015). Effectiveness of a web-based education program to improve vaccine storage conditions in primary care (Keep Cool): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 16, 301. doi:10.1186/s13063-015-0824-9.

Vangroenweghe F. (2017). Good vaccination practice: it all starts with a good vaccine storage temperature. *Porcine Health Management* 3, 24-31. doi: <https://doi.org/10.1186/s40813-017-0071-4>.



© 2022 by the authors. Licensee Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, Ghent University, Belgium. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

DE KOEIEN, O DE KOEIEN

De koeien o de koeien
Toen Onze Lieve Heer de koe geschapen heeft
Wist hij wel dat haar loeien
Een klacht zou zijn die om de stilte beeft

Gaston Burssens (fragment uit 'Jespers' verschenen in de dichtbundel *Het neusje van de inktvis* (1956, Stols, Den Haag)

De kat is baas

Katten werden vereerd in het oude Egypte en ze horen al eeuwenlang bij onze huizen en boerderijen, waar ze om hun jagerskwaliteiten geduld werden, zelfs geapprecieerd, maar veel liefde kwam er niet bij te pas. Integendeel, ze kregen tal van negatieve eigenschappen toebedeeld. Katten werden geassocieerd met toverij en ze hadden het niet zelden hard te verduren. Vanaf de jaren 1600 kregen katten een bescheiden plaatsje in de huiselijke kring. Maar echt toegelaten in huiskamers werden ze pas in recente tijden. De kattenbak, essentieel daarbij, werd in de jaren 1950 geïntroduceerd. Maar de trend gaat door: sinds enkele jaren tellen onze steden meer huiskatten dan huishonden.

Katten zijn in essentie solitaire roofdieren met sterk territoriumgevoel. Ze willen dat hun jachtgebied te allen tijde voor hen toegankelijk is. Vandaar wellicht dat een goeie definitie van de kat als volgt luidt: een dier dat buiten wil als het binnen zit in een kamer of een huis, en dat binnen wil als het buiten zit. Dat onafhankelijk, solitair zijn, verklaart wellicht waarom de beoordeling van de relatie mens – kat een nogal eigenaardig trekje vertoont. Daarvan getuigen volgende gezegden: ‘De kat is het enige dier dat er in geslaagd is de mens te domesticeren’ (Marcel Mauss). En nog zo’n paar. ‘Een hond heeft een baas, een kat heeft bedienden’. Of ‘je hebt’ geen kat, je deelt je huis met de kat.’

Stephen Budiansky (2005) vat de essentie van het karakter van de kat als volgt samen. ‘Katten zijn niet zozeer gezelschapsdieren als wel reisgenoten, en als wij onze verlangens, wensen en verwachtingen op hen projecteren, doen we dat op eigen risico. Ze hebben hun eigen biologische niche en bestemming, hun eigen regels voor sociale interactie, hun eigen manier om de wereld te ordenen en te begrijpen. Hun verbijsterend groot aanpassingsvermogen heeft ze een plaats in onze huizen bezorgd, maar ze staan nog altijd met een poot in de wildernis. Begrip van de ware aard van katten, met alles wat de wetenschap te bieden heeft, is verhelderend voor ons zelf en voordelig voor de kat.’ En verder: ‘Katten zijn de minst getemde en tegelijk de meest succesvolle gedomesticeerde diersoort, innerlijk het minst en in levensomstandigheden het meest veranderd.’ Dit is dus de denk- en gevoelswereld van katten.

Dat nog met een poot in de wildernis staan heeft verregaande gevolgen voor het samenleven van meerdere katten. Vrouwelijke wilde katten leven elk in hun exclusief territorium van zo maar eventjes twee vierkante kilometer. Probeer

het je voor te stellen ...! Dat gebied verdedigen ze hardnekkig tegen andere kattinnen. Het territorium van een kater overlapt meestal het grondgebied van meerdere vrouwtjes, maar vrijwel niet dat van andere katers. Enkel in de korte periode dat hun geslachtsdrang de territoriumdrift overwint, verdragen katten elkaar net genoeg om te kunnen paren. En dan nog ...

Dat geldt voor wilde katten. Huiskatten zijn socialer, althans als ze opgroeien met soortgenoten. Dit gedrag is cultureel erfelijk, niet genetisch. Een jong dat enkel in contact kwam met de moeder, blijft een eenling, ook nadat het gespeend is. Verwilderde of half verwilderde huiskattinnen leven soms in groepen rond een voedselbron: een stal, een vuilnisbelt. Het kan zelfs gebeuren dat ze hun jongen samen groot brengen, wat zeker niet betekent dat het er liefdevol aan toe gaat voor iedereen. 'Pariakatten' worden genadeloos van de voederbak verjaagd. Kattenliefhebbers die meerdere katten willen houden in een huis of, erger nog, in een appartement, beseffen niet welke miserie, hoeveel stress, ze die dieren bezorgen. Het dringt niet tot hen door dat ze, ondanks al hun liefde en opofferingszin, eigenlijk handelen als dierenbeulen.

REFERENTIES

- Budiansky, S. (2005). *Het Karakter van Katten* (vert. van *The Character of Cats*). Spectrum Utrecht, pp. 214.
- Aerts, E. (2015). La relation entre l'homme et le chat dans les anciens Pays-Bas au moyen âge et à l'époque moderne, deel 1. Le chat utile, diabolique et imaginaire. In: *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 84, 212-222; deel 2. La chat domestique et le chat tourmenté. In: *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 84, 271-280.

Luc Devriese

Tekst oorspronkelijk in de katern 'Beestig' verschenen in *Van Mensen en Dingen*, KBOV Jaarboek 2019

Wij hebben jou in 't oog. Jij ons?

www.mediaservice.be



© SHUTTERSTOCK 12745M100133

Mediaservice  
gericht adverteren

WAAR KOMEN AFGESTUDEERDE DIERENARTSEN TERECHT?

VRAAG

“Waar gaan afgestudeerde dierenartsen heen? Er zijn onnoemelijk veel vacatures in eerstelijns-praktijken die niet ingevuld geraken terwijl er jaarlijks ruim honderd dierenartsen optie gezelschapsdieren op de arbeidsmarkt terechtkomen.”

ANTWOORD

Het is een contradictie die heel vaak wordt opgemerkt: enerzijds zijn er nog nooit zoveel dierenartsen jaarlijks afgestudeerd, anderzijds ondervinden praktici veel moeite om dierenartsen te vinden die bij hen willen komen werken. Hoe kan dit en waar gaan die pasafgestudeerde dierenartsen dan wel naartoe?

Om die vraag te beantwoorden is het noodzakelijk om over gegevens te beschikken betreffende het carrièreverloop van dierenartsen in Vlaanderen, maar helaas knelt daar het schoentje. Er is weinig data voor handen over de uitstroom van dierenartsen en hun verdere beroepsloopbaan. De meest recente studie hierover dateert van 2017 (Van Cleven et al., 2017), waarin 459 dierenartsen werden ondervraagd die zijn afgestudeerd tussen 2002 en 2016. Desalniettemin kunnen uit deze studie en een aantal vergelijkbare studies die hierover eerder al werden uitgevoerd (Dewulf et al., 2006; Van Nielandt et al., 2010), een paar algemene conclusies getrokken worden.

Een eerste belangrijke vaststelling is dat van de afgestudeerde dierenartsen ongeveer twee derden aan de slag gaat 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, het onderwijs binnen en buiten de universiteit, bij de overheid (FAVV, FAGG, FOD, etc.), de farmaceutische industrie of nog andere functies. Hierbij dient opgemerkt te worden dat het aandeel praktici in die studies vermoedelijk overschat werd, omdat deze makkelijker konden gevonden worden via de emaillijsten van de Academie voor Diergeneeskunde (voormalig Instituut voor Permanente Vorming), waardoor ze waarschijnlijk proportioneel oververtegenwoordigd waren in die onderzoeken. Tevens valt op dat naarmate het aantal jaar anciënniteit stijgt het aandeel praktijkdierenartsen daalt. Kort na het afstuderen is dit nog om en bij de 80% van de afgestudeerden terwijl dat percentage tien jaar of meer na het afstuderen tot rond de 65% gedaald is. Dit wijst op een aanzienlijke uitstroom uit de praktijk in de eerste jaren na het afstuderen. Bovendien is de groep studenten voor wie

het diploma diergeneeskunde niet het einddiploma is, de laatste jaren gestaag toegenomen. In een studie van Van Cleven et al. (2017) gaf niet minder dan 37% van de respondenten aan na het afstuderen een of andere vorm van specialisatie te volgen zoals onder andere een doctoraatsopleiding, internship, residentie, opleiding tot vakdierenarts of een master-na-masteropleiding. Dit heeft natuurlijk ook als gevolg dat het voor een deel van deze dierenartsen langer duurt alvorens deze op de arbeidsmarkt terechtkomen.

Een tweede belangrijke vaststelling is dat er ongeveer evenveel dierenartsen naar het buitenland vertrekken als dat er niet-Belgische studenten afstuderen. In grote mate zijn dit Nederlandse dierenartsen die na hun studie in Gent terug naar Nederland trekken terwijl ook heel wat Vlaamse studenten naar het buitenland trekken. Deze twee fenomenen samen zorgen ervoor dat er van de afgestudeerden jaarlijks tussen de 70% en 80% op de Vlaamse arbeidsmarkt terechtkomen (20% -30% niet-Belgen) waarvan er dan weer 65%-70% in de praktijk aan de slag gaat. Samengenomen komt dit neer op iets tussen de 50% en 55% van de jaarlijks uitgereikte diploma's (Valckenier et al., 2016). In beschouwing genomen dat het gemiddelde aantal uitgereikte diploma's van dierenarts aan de Universiteit Gent (2015 tot 2020) rond de 250 per jaar ligt, dan komt een eenvoudige rekensom uit op 125-140 dierenartsen die jaarlijks naar de praktijk trekken. Verder blijkt uit de studie van Valkenier et al. (2016) 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. Tenslotte blijkt dat pasafgestudeerde dierenartsen vaak via stageplaatsen of kennissen en familie na gemiddeld twee maanden reeds een job vinden.

Concluderend kan worden gesteld dat van de afgestudeerde dierenartsen aan de Universiteit Gent ongeveer 80% in België aan de slag gaat en hiervan 65%-70% in de praktijk werkzaam is, terwijl de overige 30%-35% een ander type functie opneemt die evenwel heel vaak ook in het verlengde van het diploma ligt. Op basis van deze cijfers kan worden geschat dat er de laatste jaren jaarlijks rond de 125-140 nieuwe dierenartsen bijkomen voor de praktijk in Vlaanderen.

REFERENTIES

Dewulf J., Simoens P., Deprez P., de Kruif A. (2006). Peiling naar de beroepsactiviteiten en de kwaliteit van de diergeneeskundige opleiding bij recent afgestudeerde

dierenartsen aan de hand van een enquête. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 75, 187-195.

Valckenier D., De Vliegheer S., Dewulf J. (2016). Waar blijven de afgestudeerde dierenartsen na hun studie? *Vlaams Diergeneeskundig tijdschrift* 85, 315-317.

Van Cleven A., Saunders S., Deprez P., Dewulf J. (2017). Een analyse van de arbeidssituatie en perceptie van de kwaliteit van de opleiding van dierenartsen afgestudeerd aan de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 86, 303-310.

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.

Prof. dr. J. Dewulf,
Vakgroep Interne Geneeskunde, Voortplanting
en Populatiegeneeskunde,
Faculteit Diergeneeskunde, UGent, Salisburylaan
133, B-9820 Merelbeke

DETECTIE VAN GLUTENALLERGIE BIJ HET PAARD

VRAAG

“Hoe controleer je een paard op glutenallergie en hoe betrouwbaar is het onderzoek?”

ANTWOORD

Voedselallergie komt waarschijnlijk zelden voor bij paarden. In de wetenschappelijke literatuur zijn enkele casussen beschreven doch vaak werden deze niet volgens de gouden standaard gediagnosticeerd: zijnde een voedereliminatie test gevolgd door een provocatietest waarbij de symptomen verdwijnen tijdens de eliminatie test en terugkomen na een provocatietest. Alhoewel er commerciële IgE-testen voor voedselallergie op de markt zijn, wordt het afgeraden om deze te gebruiken. Onze onderzoeksgroep testte een commercieel beschikbare IgE-test voor paarden bij 17 gezonde shetlandpony's op twee verschillende tijdstippen (Dupont et al., 2016). Slechts 7/17 gezonde dieren testten negatief, drie pony's testten positief op beide tijdstippen maar slechts één voor hetzelfde voederallergeen. De andere pony's testten de ene keer positief en de andere keer negatief. Tijdens de provocatietest toonde geen enkel dier enig symptoom. Het gebruik van dergelijke onbetrouwbare testen leidt soms tot het voorschrijven van onevenwichtige diëten, waarbij bijvoorbeeld gras onder alle mogelijke vormen geschrapt wordt uit het rantsoen.

Omdat glutenallergie een belangrijke rol speelt bij coeliakie bij de mens, werd ook onderzoek gedaan naar de rol van gluten bij paarden met “Inflammatory Bowel Disease” (IBD). Echter, mucosale bipten van de dunne darm verschilden niet tussen gezonde paarden en paarden met IBD betreffende de expressie van specifieke cytokinereceptoren die een rol spelen bij mensen met coeliakie (van den Hove et al., 2017). Ook

de bloedspiegels van antistoffen die een rol spelen bij coeliakie verschilden niet tussen paarden met IBD en gezonde paarden op een glutenrijk dieet (van der Kolk et al., 2012). Anderzijds vertoonden twee paarden (van der Kolk et al., 2012; van Proosdij et al., 2020) geen symptomen meer wanneer zij op een glutenvrij rantsoen geplaatst werden. Echter, een provocatietest met de oude voeding werd niet uitgevoerd.

CONCLUSIE

Er is momenteel weinig wetenschappelijk bewijs dat een glutenvrij rantsoen bij paarden met IBD ondersteunend werkt, doch in zeldzame gevallen kan het resulteren in herstel. Op dit moment is enkel een voedertest betrouwbaar waarbij een succesvolle eliminatie test steeds gevolgd wordt door een provocatietest, en dit zowel voor voedselallergie in het algemeen als voor glutenallergie in het bijzonder.

REFERENTIES

- Dupont S, De Spiegeleer A, Liu DJ, Lefère L, van Doorn DA, Hesta M., (2016). A commercially available IgE-based test for food allergy gives inconsistent results in healthy ponies. *Equine Veterinary Journal* 48 (1), 109-113.
- Hesta M., Costa M., (2021). How Can nutrition help with gastrointestinal tract-based issues? *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 37, 63-87.
- van den Hove R. TD, Bankuti P. (2017). Chronic Inflammatory Bowel Disease (CIBD) and celiac disease, are these linked in the horse? *Pferdeheilkunde* 33.
- van der Kolk JH, van Putten LA, Mulder CJ. (2012). Gluten-dependent antibodies in horses with inflammatory small bowel disease (ISBD). *Veterinary Quarterly* 32(1), 3-11.
- van Proosdij R, Mulder C, Reijm M, Bontkes H, van

Blomberg M, van der Kolk H. (2020). Preliminary notes on equine tissue transglutaminase serology and a case of equine gluten -sensitive enteropathy and dermatitis in an 11-year-old Dutch Warmblood Horse. *Journal of Equine Veterinary Science* 90.

Prof. dr. M. Hesta,
Vakgroep Morfologie, Beeldvorming, Orthopedie,
Revalidatie en Voeding, Faculteit Diergeneeskunde,
Universiteit Gent, Salisburylaan 133,
B-9820 Merelbeke

Oproep

Vragen uit de dierenartsenpraktijk

De vraag- en antwoordrubriek behandelt reeds lang probleem- en vraagstellingen waarmee de dierenarts-practicus te maken krijgt. Het is een graag gelezen rubriek en om haar succes staande te houden, zijn wij immer op zoek naar vragen die oprijzen tijdens de praktijk.

Indien u met een dergelijk probleem of vraag geconfronteerd werd/wordt, dan kunt u ze te allen tijde doorsturen naar nadia.eeckhout@ugent.be Ze worden door een expert (Faculteit Diergeneeskunde of elders) van een deskundig antwoord voorzien dat samen met de vraag in het tijdschrift gepubliceerd wordt.

Where engineering meets veterinary medicine

Save the date

2-3 June 2022

Ghent - Belgium



International event
Congress - workshops

Alex Bach - *transition*
John Remnant - *foot health*

Jud Heinrichs - *youngstock*
Thomas Amon - *heat stress*



www.buiatrienet.com



Vlaamse vereniging
voor buiatrie



19th International Congress on Animal Reproduction

26th-30th June 2022

Bologna, Italy

<https://www.icar2020.org/2022/>



2nd Small Animal Reproduction EVSSAR course

Hanover, Germany, 13-17 June 2022

with Prof. Sandra Goeriche-Pesch as course Master

<http://www.evssar.org/esaus-evssar>

INVOER VAN DURHAMSTIEREN (1875 - 1891)

Het korthoornig Durhamrundvee werd ontwikkeld in Noord-Oost Engeland in de late 18de eeuw. Kweekdieren van dit ras waren geëerd en werden duur verkocht. In 1822 werd precies voor de Durhams het allereerste rundveestamboek ter wereld gepubliceerd: het nog steeds verder aangevulde Coates's Herd Book. Op het Europese vasteland werd Durham 'bloed' (versta: genen) in tal van rassen ingekruist. Zo onder meer in het Rood West-Vlaams (Cassel)vee en in het Oost-Vlaams roodbont. De operatie gaf lang niet altijd het gewenste resultaat, zeker niet als verhoging van melkproductie beoogd werd. In het referentiewerk *Levend Erfgoed* (Aerts, red., Davidsfonds, 2012, Leuven, p. 51.) werd het hele verhaal veelzeggend samengevat onder de titel 'De Durhamwaanzin'.

Een tweetalige aankondiging (Figuur 1. UGent Bibliotheek, Ephemera) voor verkoop in 1875 van Durhams in Gent toont hoe het inkruisen van hogerhand gepromoot werd: de verkoping gebeurde in opdracht van de provinciegouverneur. In de laatste decennia van de negentiende eeuw ontstond er onvrede om-

<p>Provincie Oostvlaanderen.</p> <p>VERBETERING VAN HET RUNDVEE.</p> <p>OPENBARE VERKOOPING</p> <p>VAN 8 JONGE</p> <p>STIEREN,</p> <p>EN VAN</p> <p>4 jonge vaarzen,</p> <p>ENGELSCH DURHAMRAS.</p>	<p>Province de la Flandre Orientale.</p> <p>AMÉLIORATION DE LA RACE BOVINE.</p> <p>VENTE PUBLIQUE</p> <p>DE 8 JEUNES</p> <p>TAUREAUX,</p> <p>ET DE</p> <p>4 jeunes génisses,</p> <p>RACE ANGLAISE DE DURHAM.</p>
<p>Die verkoop zal plaats hebben DINSDAG 23 MEI 1875, te Gent, Beestenmarkt, om 11 uur. De verkoop zal gedaan worden met 10 % verhooging, tegen comptante betaling of op 14 dagen, mits te stellen voldoende borg. De koopers zullen zich moeten schikken naar de voorwaarden in het kobier van lasten aange- duid, waarvan hun kennis zal gegeven worden vóór de verkoop. De stieren en vaarzen zullen kunnen bezichtigd worden één half uur voor de verkoop. Gent, den 18 Mei 1875.</p> <p><i>De Gouverneur,</i> GRAAF T'SERCLAES.</p> <p><small>Gent, drukkerij van L.-S. VAN DOOSSELAERE, Burgstraat, 35.</small></p>	<p>Cette vente aura lieu le MARDI, 25 MAI 1875 à Gand, Marche au Bétail, à onze heures. La vente se fera avec 10 % d'augmentation, au comptant ou à 14 jours, moyennant bonne caution. Les acheteurs devront se conformer aux condi- tions indiquées dans le cahier des charges, dont il leur sera donné connaissance avant la vente. Les taureaux et les génisses seront à voir une demi-heure avant l'adjudication. Gand, le 18 Mai 1875.</p> <p><i>Le Gouverneur,</i> C^e DE T'SERCLAES.</p> <p><small>Gand, imprimerie de L.-S. VAN DOOSSELAERE, rue de Bruges, 35.</small></p>

rent deze invoer. Het Ministerie van Landbouw organiseerde een rondvraag in 1891 omtrent de omstreden kwestie. Onder andere Jean-Baptiste III Bouckaert (Waregem) stuurde een antwoord waarin hij opriep een einde te stellen aan de massale invoer van buitenlandse stieren, wegens hun mooier uitzicht van bouw en kleur. Ook werden op de keuringen alhier de inlandse stieren benadeeld. In feite hadden deze laatste hun diensten bewezen door goede melkkoeien voort te brengen. Het ware beter om stierenkalveren van onze eigen koeien te gebruiken, zo betoogde Bouckaert. De boeren selecteren toch ook hun best presterende dieren voor de kweek van vechthanen en reisduiven. Hetzelfde geldt voor paardenkweek, zoals de Arabier, de Amerikaanse draver of de Russische Orloff, waar niet de kleur, maar prestaties de bovenhand krijgen. Bouckaert besluit als volgt: *‘Quand cette vérité sera comprise et appliquée, notre bétail s’améliora rapidement et ne tardera pas à se placer au premier rang parmi les races laitières d’Europe’*.

De Waregemse veearts wist waarover hij het had: hij was korte tijd inspecteur voor West-Vlaanderen, maar moest stoppen wegens te drukke praktijk. Hij liet zijn antwoord drukken als *Réponse au questionnaire adressé au délégués et membres des Sous-Commissions Provinciales du Herd - Book (Stamveeboek) par Jean Bouckaert, vétérinaire à Waereghem, , Imprimerie Amand Gernay – Gillon, Courtrai, 1891*. Zo bleef het bewaard in familiebezit.

Achteraf is wel gebleken dat hij gelijk had. Na WO II zou in West-Vlaanderen door lobbywerk van enkele machtige kwekers gestreefd worden naar dieren met egaal rode haarkleur. Hierbij werden veel belangrijkere eigenschappen (de vorm van de uier en tepels, melkbaarheid, productie van melk en /of vlees) min of meer verwaarloosd. Ook streefde men naar een ideaal dat onhaalbaar bleek: een ‘ras’ met topproductie van zowel melk als vlees aanzet. De gespecialiseerde rassen (ofwel melk, ofwel vlees) haalden het moeiteloos. Maar ook bij die begon men weldra te overdrijven. En dat alles op niet-industriële, ‘familiale’ bedrijven.

Jan Bouckaert, Luc Devriese

Doctoraten februari 2022 – april 2022

Titel: Host susceptibility of amphibians to chytridiomycosis: lessons for mitigation

Promovendus/a: Li Zhimin (Vakgroep Pathobiologie, Farmacologie en Bijzondere Dieren)

Promotor(en): Prof. dr. An Martel - Prof. dr. Frank Pasmans

Korte beschrijving: Amphibian species are declining at unprecedented rates. Declines are caused by a myriad of factors, including habitat loss, chemical pollution, invasive alien species and infectious diseases such as chytridiomycosis. Emergence of the two sister species, *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) and *B. salamandrivorans* (Bsal) has resulted in the decline of at least 501 species (6.5% of all amphibian species) alongside the presumed extinction of 90 species worldwide. Two third of European amphibian species are endemic, and potentially threatened by recent invasion of both chytrid fungi. Therefore, it is urgent to assess the risks of chytrid dispersal in Europe on local amphibians and to search for efficient mitigation measures.

Titel: Understanding and targeting *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) dry season hotspots in Ethiopia

Promovendus/a: Tadesse, Kassahum Ebba (Vakgroep Veterinaire en Biowetenschappen)

Gezamenlijk doctoraat University Jimma Ethiopië

Promotor(en): Prof. Dr. Ir. Luc Duchateau, Faculty of Veterinary Medicine, UGent - Prof. Dr. Delenasaw Yewahalaw, Institute of Health, College of Health Sciences, JU - Dr. Tibebe Habtewold, Imperial College, United Kingdom

Korte beschrijving: Malaria continues to be a major public health problem across several nations, particularly in the tropics and subtropics. It is a major factor of poverty in resource-limited settings and specifically threatens health of pregnant women, infants and children under 5 years old. The vast majority of the malaria burden is attributable to the *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* parasites. In Ethiopia, over 46 species of the *Anopheles* vector were recorded and *An. arabiensis* is the principal malaria vector.

Titel: Nutrient digestibility and predicting the energy content of pig feeds

Promovendus/a: Louis Paternostre (Vakgroep: Veterinaire en Biowetenschappen)

Promotor(en): Prof. dr. S. Millet, Ghent University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Nutrition, Genetics and Ethology - dr. J. De Boever, Flanders Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food (ILVO), Animal Sciences Unit

Korte beschrijving: With 11 million slaughters per year, pigs are the most important production animals in Belgium. Feed is the biggest cost factor in pig farming, especially the energy component. The aim of feed formulation and production is to meet the nutrient requirements of pigs under the constraint of the available feed ingredients. Correct energy and nutrient evaluation is critical, especially given the increasing amounts of fiber-rich co-products from human food production that are being included in pig feed. Another difficulty is that feed digestibility and utilization depend on many factors related to either the animal or to its growing conditions. The net energy (NE) reflects best the true available energy for pigs, but NE determination requires time-consuming and expensive *in vivo* digestibility experiments. Potential methods to estimate NE in feeds include the use of tabular values of ingredients, empirical models based on chemical parameters and/or the *in vitro* digestibility of organic matter and near infrared spectroscopy (NIRS).

Titel: Fibre in the diet of the suckling pig opportunities for the maturation of the gastrointestinal tract and post-weaning resilience

Promovendus/a: Hubertus van Hees (Vakgroep Veterinaire en Biowetenschappen)

Promotor(en): Prof. Dr. G. Janssens, Faculty of Veterinary Medicine Ghent University - Prof. Dr. D. Maes, Faculty of Veterinary Medicine Ghent University - Prof. Dr. T. van Kempen Department of Animal Science North Carolina State University; Trouw Nutrition R&D

Korte beschrijving: A pig is born with a relatively immature gastrointestinal tract able to digest and absorb nutrients from sow milk. To attain capacity to process solid diets containing vegetable feedstuffs the gastrointestinal tract needs to go through a process of maturation. In a natural setting, a large part of a pig's diet consists of vegetable feedstuffs rich in dietary fibre, such as leaves, roots, tubers, fruits, and seeds. From which age wild boar and feral piglets start consuming non-milk feedstuffs has, however, not been fully established yet. Early consumption of such feedstuffs, next to sow milk, could facilitate gradual adaptation of piglet's gastrointestinal tract and its harbouring intestinal microbiota to a solid diet already before weaning, which occurs between 10 and 17 weeks of age in a natural setting. In contrast, on most farms, it is common practice to wean pigs at 3 to 4 weeks of age. Commonly, the diet of weaned pigs also contains a high proportion of vegetable feedstuffs, and varying levels of dietary fibre. Research has provided information that dietary fibre is implicated in gastrointestinal maturation and mitigates the risk for intestinal infections and diarrhoea often occurring in weaned pigs. Commercial supplemental diets fed to sow-suckled piglets², on the other hand, are formulated with sow milk being the benchmark. They usually are finely ground, highly digestible, nutrient-dense and low in dietary fibre. In this regard, there may be a major difference in diet characteristics between the natural diet and a typical commercial supplemental diet.

Titel: Ascaridoid nematodes in fish: occurrence, diversity, and evaluation of candling towards exploring the public health relevance in Belgium

Promovendus/a: Evelien Mercken (Vakgroep Translationele Fysiologie, Infectiologie en Volksgezondheid)

Promotor(en): Prof. dr. S. Gabriël, Faculty of Veterinary Medicine, UGent - Dr. I. Van Damme, Faculty of Veterinary Medicine, UGent

Korte beschrijving: Ascaridoids are marine nematodes occurring in a wide range of fish hosts. In the intermediate fish host, L3 (third stage) larvae reside in the viscera (primary infection site) and can migrate, both post- and ante-mortem to the fish musculature. Humans are accidental dead-end host, and may develop gastro-intestinal complaints after ingestion of a viable larva, or acquire allergic symptoms even after ingestion of a dead larva or residual allergens. The industry is tasked with the detection and removal of these larvae, in absence of a fast, cheap, and highly sensitive detection technique. Remaining larvae may, besides representing a food safety problem, trigger consumers complaints. The objectives of this thesis were to estimate the occurrence of ascaridoids in fish destined for the Belgian market; and to assess the sensitivity of the current mostly used diagnostic tool in fish, namely candling.

Titel: Optimizing the use of barley straw in tropical ruminant diets

Promovendus/a: Keno, Mulugeta Tilahun (Vakgroep Veterinaire en Biowetenschappen)

Promotor(en): Prof. dr. Geert Janssens (supervisor) - Prof. dr. Taye Tolamariam (supervisor) - Prof. Solomon Demeke (supervisor) - Dr. Jane Wamatu - Dr. Ashraf Alkhtib

Korte beschrijving: Due to the decline in grazing land, the degradation through overgrazing, and the expansion of arable cropping in tropical countries, the contribution of crop residues for animal feeding becomes increasingly important. The overall aim of this dissertation was to improve total barley biomass utilization for food and feed use through the dual-purpose evaluation of barley varieties for mixed livestock-barley production in Ethiopia highlands.



Sint Truidersteenweg 193
3700 Tongeren
info@savab.be

STEVEN VAN GUCHT WINT DE SAVAB-AWARD 2022



Steven Van Gucht werd tijdens het afgelopen congres over tandheelkunde voorgedragen als winnaar van de SAVAB-Award 2022.

Hij studeerde af als dierenarts in 2000 en bleef op de Faculteit Diergeneeskunde (UGent) om te doctoreren. Zijn doctoraat beëindigde hij in 2005 om nadien bij Scienscano aan de slag te gaan.

Als hoofd van Sciensano begeleidde Steven Van Gucht de Belgische bevolking door de coronapandemie. Regelmatig verscheen hij in de media met een duidelijke klare communicatiestijl zonder daarbij te polariseren. Met wetenschappelijke fundamenteën had hij op deze manier

een onwaarschijnlijk belangrijke rol in de bestrijding van de coronapandemie in België.

27STE FECAVA EUROCONGRESS

Van 8 tot 11 juni 2022 gaat het FECAVA-Eurocongress door in Praag. Voor inschrijving en verdere informatie: <https://www.fecava2022.org/>. Het programma kan je vinden op: <https://www.fecava2022.org/programme-at-a-glance/>
Als SAVAB-lid heb je recht op de FECAVA-korting.



ENQUÊTE VOOR DIERENARTSEN OVER GEBRUIK VAN ANTIBIOTICUMRICHTLIJNEN



ENOVAT (European Network for Optimization of Veterinary Antimicrobial Treatment) roept dierenartsen in Europa op om hun enquête in te vullen en aldus feedback te mogen ontvangen van gebruikers van antibioticumrichtlijnen.

Mogelijk gebruikt u de richtlijnen van AMCRA of FECAVA dagdagelijks in uw praktijk en kan u dus waardevolle feedback verlenen bij deze enquête.

Je vindt de enquête via volgende link: <https://liverpool.onlinesurveys.ac.uk/f3ydf6hwqr-11>



Toeziethoudend dierenarts bij de NVWA, een baan met impact

Bij de Rijksoverheid werken? Dat was bij Joris Theeuwes (61) in zijn loopbaan als dierenarts nog nooit opgekomen. Ruim 27 jaar werkte Joris in verschillende praktijken. Een collega vertrok naar de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA). 'Ik dacht: die is binnen een jaar terug. Maar hij bleef vertellen hoe goed hij het er naar zijn zin had. Zijn enthousiasme zorgde er zelfs voor dat ik in 2011 ook de overstap maakte. Als senior toeziethoudend dierenarts kan ik mijn veterinaire kennis en academisch denkniveau daar namelijk specifiek voor de opmaak op inzetten.'

Expertise als dierenarts

Na zijn studie Diergeneeskunde in Antwerpen en Gent ging Joris in de praktijk aan de slag in zijn specialisatie paardengeneeskunde. 'Ik moest altijd klaarstaan. Ook 's nachts of in het weekend was ik telefonisch bereikbaar. In de laatste paar jaar werkte ik als zzp'er en was het door de crisis soms ook lastig om mijn agenda vol te krijgen. Klanten vonden de prijs belangrijker dan de kennis en kunde die ik leverde. In die laatste jaren ging me dat steeds meer tegenstaan. Bij de NVWA draag ik vanuit mijn expertise als dierenarts bij aan het dierenwelzijn en de voedselveiligheid in Nederland. De organisatie staat middenin de maatschappij. Als je een krant openslaat, lees je iedere dag iets wat het werk van de NVWA raakt. Het NVWA-werk heeft dus echt impact. Ik adviseer dierenartsen dan ook om ook naar de NVWA te kijken als ze een baan zoeken.'

Voldoende persoonlijke ontwikkeling

Tijdens het eerste sollicitatiegesprek bij de NVWA kreeg ik meteen de indruk dat er veel toekomstperspectief voor mij was. Elke dierenarts krijgt bij de NVWA een opleiding van 5 tot 9 maanden. En er zijn veel mogelijkheden om je verder te ontwikkelen in functies binnen beleidsvorming, management, of - zoals in mijn geval- intern onderwijs. Ik leid nu zelf nieuwe collega's op. Dat daagt me ook uit om alle wet- en regelgeving goed op een rijtje te hebben.'

Strak rooster

Na zijn overstap naar de NVWA waren er ook wel zaken waar Joris aan moest wennen: een strak werkrooster, plannen in een outlookagenda en veel overleggen. 'Toeziethouden doe je alleen, maar iets bereiken doen we samen. Nederland is een grote speler in de wereld op het gebied van vleesexport. Het bedrijfsleven en de overheid hebben samen een enorme verantwoordelijkheid om te zorgen dat het op orde is. Daarom doen we het werk allemaal op dezelfde manier. Iedereen is gelijk voor dezelfde wet. Bij het toezicht in slachterijen zijn verdeeld over de tijd vaak meerdere dierenartsen betrokken. Dan is goed overleg nog belangrijker.'

Goede werkverdeling

Het verschil tussen het werken bij een praktijk en het werk bij de NVWA is dat je als practicus probeert een ziek dier beter te maken. Als toeziethoudend dierenarts analyseer je de productieprocessen van de voedselproducenten en stuur je zodanig op verbeteringen bij de exploitanten dat zij zich beter aan de regels houden. Mijn teamleider zorgt dat het werk goed verdeeld wordt. Op vrijdagmiddag ben ik klaar. Als het een keer niet lukt om mijn werk af te krijgen, geef ik mijn grens aan. De NVWA zorgt goed voor haar medewerkers, dat is fijn. Zo kan en wil ik dit werk tot mijn pensioen blijven doen.'

SMILE

naar ons dentale assortiment !

Komt u ook naar de Savab of de Veterinexpo? Bezoek ons op onze stand en bekijk onderstaande producten en geniet van vele beursaanbiedingen!

Dentanomic

Scherp en sterk!



Digivet

Beelden zeggen meer dan 1000 woorden



Profident Plus

Snel en betrouwbaar!



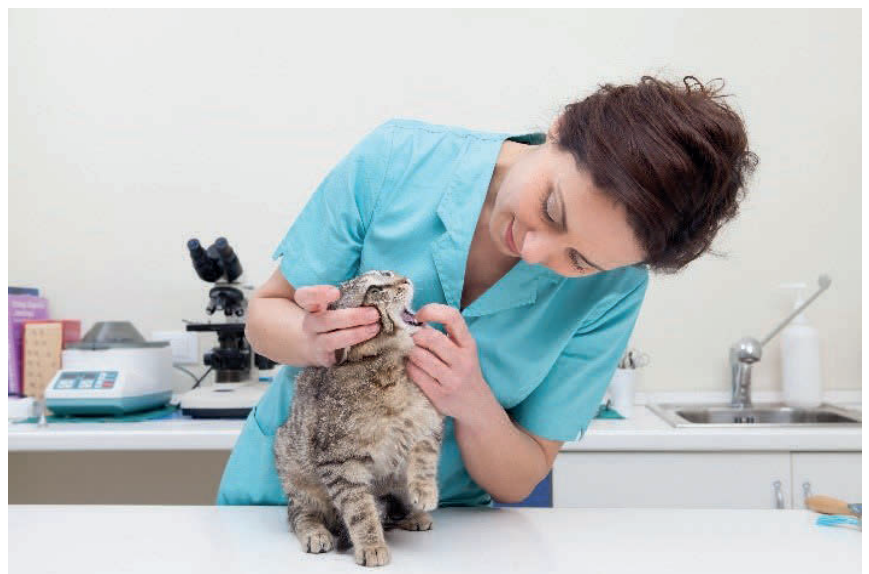
U kan steeds ons volledige (dentale) gamma terugvinden op www.eickemeyer.nl

Contacteer zeker onze nieuwe accountmanager België voor een kennismaking

Ilse Mathijs

i.mathijs@eickemeyer.nl

0496081855



TELEFOON +31 (0) 345 - 589400

www.eickemeyer.nl

veterinary technology for life
Eickemeyer®