

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

FACULTEIT
DIERGENEESKUNDE
accredited by EAEVE

MAART-APRIL 2023
VOL. 92 - 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



- Tigilanol-tiglaat ter behandeling van caniene mastceltumoren
- Infectieuze agentia bij abortus en perinatale sterfte bij het paard
- Leverevaluatie met 2D “shear wave”-elastografie bij de hond
 - Syndroom van Cushing bij honden
 - Puppysterfte bij de hond
- Rabiës aan het einde van de 19^{de} eeuw

Wij hebben jou in 't oog. Jij ons?

www.mediaservice.be



© SHUTTERSTOCK 127745M100133

Mediaservice  
gericht adverteren

VLAAMS DIERGENEESKUNDIG TIJDSCHRIFT

2023, vol. 92, nr. 2

INHOUD

Overzichtsartikel	Review
51 A. VERBRUGGHE, S. DE VOS, A. KRUPA, S. VANDENABEELE, H. DE ROOSTER Het gebruik van tigilanol-tiglaat (Stelfonta®) ter behandeling van caniene mastceltumoren	A. VERBRUGGHE, S. DE VOS, A. KRUPA, S. VANDENABEELE, H. DE ROOSTER The use of tigilanol tiglate (Stelfonta®) for the treatment of canine mast cell tumors
Retrospectieve studie	Retrospective study
58 V. SAEY, H. VAN LOO, A. GRYSPEERDT, S. PRONOST, F. GASTHUYTS, K. ROSIERS, D. CASSART, J. GOVAERE Detectie van infectieuze agentia bij abortus, doodgeboorte en neonatale sterfte bij het paard	V. SAEY, H. VAN LOO, A. GRYSPEERDT, S. PRONOST, F. GASTHUYTS, K. ROSIERS, D. CASSART, J. GOVAERE Detection of infectious agents in equine pregnancy loss, stillbirth and neonatal death
Origineel artikel	Original article
66 M. TOOM, J.H. SAUNDERS, L. DUCHATEAU, H. DE ROOSTER, N. DEVRIENDT, E. STOCK Evaluatie van de lever van gezonde eigenaarshonden via tweedimensionele “shear wave”-elastografie: intraobserver-betrouwbaarheid	M. TOOM, J.H. SAUNDERS, L. DUCHATEAU, H. DE ROOSTER, N. DEVRIENDT, E. STOCK Evaluation of liver stiffness in client owned healthy dogs using two-dimensional shear wave elastography: intraobserver reliability
Voor en uit de praktijk	In practice
75 G. SCHILS, M. HOGENDOORN, L. STAMMELEER, S. DAMINET Syndroom van Cushing bij honden in België en Nederland: een enquête bij de eigenaars	G. SCHILS, M. HOGENDOORN, L. STAMMELEER, S. DAMINET Canine Cushing’s syndrome in Flanders and the Netherlands: an owner survey
Permanente vorming	Continuing education
82 P. BANCHI, J. LANNOO, G. DOMAIN, R. VAN LEEUWENBERG, A. VAN SOOM Klinische aanpak van puppysterfte bij de hond	P. BANCHI, J. LANNOO, G. DOMAIN, R. VAN LEEUWENBERG, A. VAN SOOM Clinical approach to neonatal mortality in dogs
Uit het verleden	
92 C. VAN DER MEEREN, J. DE SMET, L. DEVRIESE Rabiës aan het einde van de 19 ^{de} eeuw - Korte beschrijving aan de hand van een verdacht geval in Kruishoutem (1889)	
Vraag en antwoord	
96 Hoe zinvol zijn serologische allergietesten bij een paard met huidklachten?	
Uit de faculteit	
101 Dierenartsenverenigingen	
103 SAVAB-nieuws	
91, 94 Uit het verleden	

Coverfoto: Purpose Dogs vzw

Neonatale sterfte vormt een belangrijk probleem bij **honden** gedurende de eerste drie levensweken en kan zowel door infectieuze als niet-infectieuze aandoeningen veroorzaakt worden. Het risico op puppysterfte is vooral groot tijdens de eerste twee levensdagen. Neonataal klinisch onderzoek is essentieel om een eventuele passende behandeling te starten maar ook preventie is van groot belang om neonatale ziekte en sterfte te beperken (cf. pg 82).

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 en Johan De Smet

Redactiecomité:

P. Bols, B. Broeckx, E. Cox, J. De Smet, W. De Spiege-
laere, M. Devreese, R. Ducatelle, M. Haspeslagh, M. Hesta, K.
Houf, B. Pardon, D. Paepe, I. Polis, J. Saunders, F. Van Immer-
seel, 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. 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 peer-reviewd worden door 2 onafhankelijke personen.

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

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

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

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

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

Editorial board:

P. Bols, B. Broeckx, E. Cox, J. De Smet, W. De Spiege-
laere, M. Devreese, R. Ducatelle, M. Haspeslagh, M. Hesta, K.
Houf, B. Pardon, D. Paepe, I. Polis, J. Saunders, F. Van Immer-
seel, 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. 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 <https://openjournals.ugent.be/vdt/>

The use of tigilanol tiglate (Stelfonta[®]) for the treatment of canine mast cell tumors

Het gebruik van tigilanol-tiglaaat (Stelfonta[®]) ter behandeling van caniene mastceltumoren

¹A. Verbrugghe, ^{2,3}S. De Vos, ¹A. Krupa, ^{1,*}S. Vandenabeele, ^{1,3,*}H. de Rooster

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

²Departement of Morphology, Imaging, Orthopedics, Rehabilitation and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium

³Cancer Research Institute Ghent (CRIG), Medical Research Building, University Hospital Ghent, 9000 Ghent, Belgium

*Shared senior authorship
Abel.Verbrugghe@UGent.be

ABSTRACT

Mast cell tumors are by far the most common skin tumors in dogs. The traditional treatment approach is the removal of the entire tumor, typically with 2 to 3 cm lateral margins and one deep facial plane. However, due to several factors, including anatomic location, condition of the patient, and potential involvement of vital tissues, it is not always feasible to take adequate lateral or deep margins, which increases the risk of local tumor recurrence. In cases where the traditional approach cannot be used, the use of tigilanol tiglate (Stelfonta[®]) as local therapy may offer a potential alternative treatment. Tigilanol tiglate has recently been registered as an intratumoral medicine for non-resectable, non-metastatic mast cell tumors. The aim of this narrative review is to provide a practical overview on the use of tigilanol tiglate in canine mast cell tumors. According to the available literature, tigilanol tiglate is a valuable alternative approach when surgical excision with complete margins is not feasible or desirable. Its application is described as easy-to-administer, and therefore this therapy can be applied by general practitioners as well as in specialized veterinary practices.

SAMENVATTING

Mastceltumoren zijn veruit de meest voorkomende huidtumoren bij de hond. De traditionele behandelingsbenadering is de verwijdering van de gehele tumor, typisch met 2 tot 3 cm laterale marges en een diepe fascialaag. Door verschillende factoren, waaronder de anatomische lokalisatie, de conditie van de patiënt en mogelijke betrokkenheid van vitale weefsels, is het echter niet altijd haalbaar om adequate laterale of diepe marges te nemen, waardoor het risico op lokaal recidief verhoogt. In gevallen waarbij de gebruikelijke benadering niet kan worden toegepast, kan het gebruik van tigilanol-tiglaaat (Stelfonta[®]) als lokale therapie een potentiële alternatieve behandeling bieden. Tigilanol-tiglaaat is relatief recent geregistreerd als een intratumoraal geneesmiddel voor niet-resectabele, niet-metastatische mastceltumoren. Het doel van deze literatuurbespreking is om een praktisch overzicht te geven van het gebruik van tigilanol-tiglaaat bij mastceltumoren bij de hond. Volgens de beschikbare literatuur is tigilanol-tiglaaat een waardevol alternatief wanneer chirurgische excisie met volledige marges niet haalbaar of wenselijk is. De toepassing wordt beschreven als eenvoudig en daarom kan deze therapie zowel door eerstelijnsdierenartsen als in gespecialiseerde dierenartspraktijken worden gebruikt.

INTRODUCTION

A mast cell tumor (MCT) arises from the neoplastic proliferation of mast cells and represents approximately 20% of all canine skin tumors (Patnaik et al., 1984; Blackwood et al., 2012; Oliveira et al., 2020). Although most mast cell tumors (MCTs) are solitary, a significant number of dogs may be presented with multiple tumors (Patnaik et al., 1984).

There are several options for the treatment of MCTs, based on the presence or absence of adverse prognostic factors, the clinical stage of the disease, and the tumor grade (London et al., 2020). Traditionally, whenever feasible, treatment involves surgical excision of the neoplastic mass with 2-3 cm (depending on the grade) lateral margins and one fascia plane deep margin, and preferentially, also excision of the sentinel lymph node (Simpson et al., 2004; Fulcher et al., 2006; Blackwood et al., 2012; Marconato et al., 2018; London et al., 2020). Surgical removal of the primary MCT as the sole treatment is considered curative in low-grade tumors that were resected with adequate margins in the absence of lymph node metastasis. Adjuvant therapy with chemotherapy, radiation therapy or tyrosine kinase receptor inhibitors should be considered in case of histopathological confirmation of dirty margins, high-grade MCTs, and/or metastatic lymph nodes. Furthermore, adequate surgical margins cannot always be obtained, such as in case of neighboring vital tissues or impractical localization of the tumor (e.g. on the distal extremities) (Boyle et al., 2014). In those cases, other local therapies can be

explored (Boyle et al., 2014; Panizza et al., 2019). A major advantage in general is that systemic toxicity is minimized, while the local accumulation of the drug allows for an effective dose to be reached (Boyle et al., 2014). Examples of local tumor treatment are intratumoral interleukin-2 therapy, intralesional corticosteroids, intraregional deionized water, hyperthermia combined with radiotherapy, photodynamic therapy, cryotherapy, electrochemotherapy, and the administration of Sendai virus with oncolytic properties (Krahwinkel, 1980; Kodre et al., 2009; Spugnini et al., 2011; Ziekman et al., 2013). In case of canine MCTs, a new treatment option that is easy to administer intratumorally and certainly practice-friendly has reached the market, namely tigilanol tiglate (TT; Stelfonta[®], Virbac, the Netherlands).

Tigilanol tiglate possesses anti-tumor activity and stimulates wound healing in the region of the treated site through the activation of protein kinase C (Wiest et al., 2021).

Within this narrative review, the published data on the use of TT as an approved novel intratumoral therapy in/for MCTs in dogs are addressed.

DISCOVERY, USE AND MODE OF ACTION OF TIGILANOL TIGLATE

Tigilanol tiglate (also known as EBC-46) is a diterpene ester isolated from the seed of the Australian rainforest plant *Fontainea picosperma* (Boyle et al., 2014). This new small molecule is currently approved

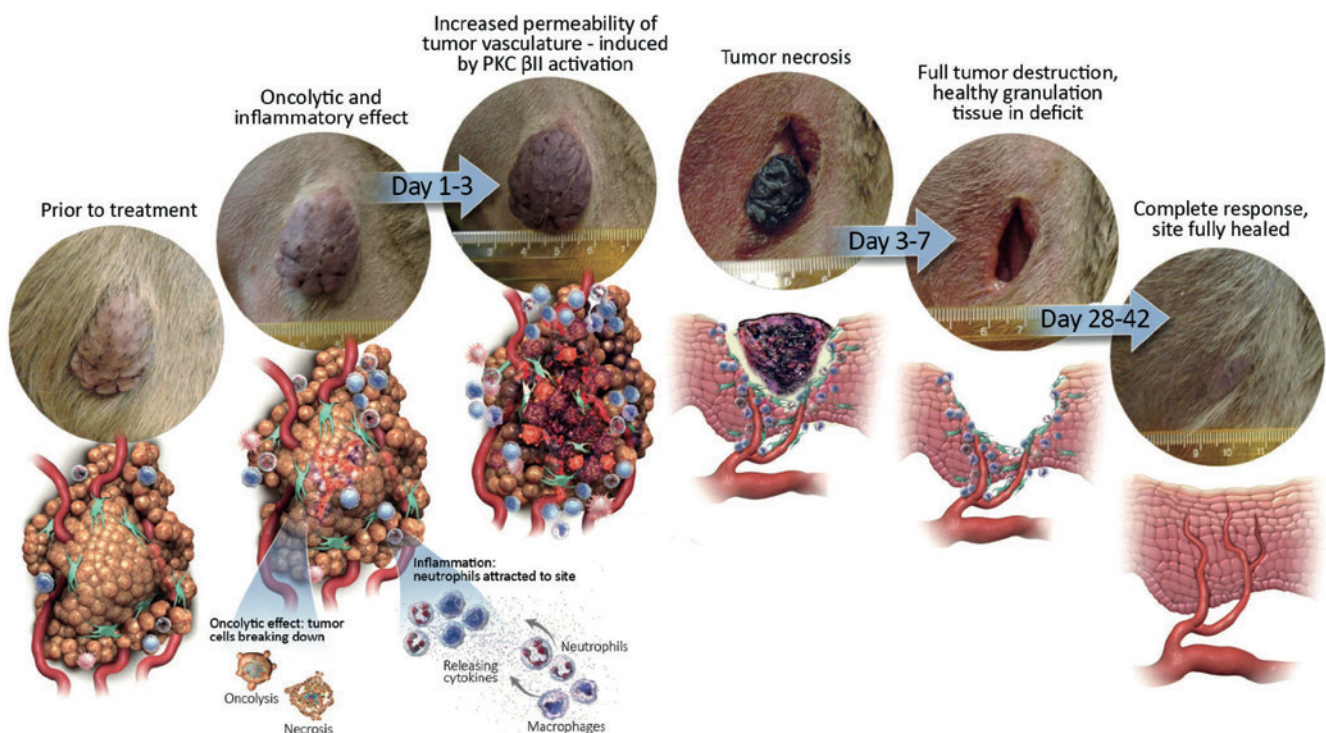


Figure 1. Chronological presentation of the multifactorial mechanism of action of tigilanol tiglate (Qbiotics, 2020).

by the European Medicine Agency (EMA) as a veterinary medicinal product, under the commercial name Stelfonta[®], in Europe, the UK and the USA to treat dogs with non-metastatic, non-resectable cutaneous and subcutaneous MCTs, and all grades of non-metastatic cutaneous MCTs (Jones et al., 2021). The drug has also been evaluated in clinical studies as intratumoral treatment of various other (sub)cutaneous tumor types in dogs, horses but also in humans, showing promising results (Boyle et al., 2014; Miller et al., 2019; Panizza et al., 2019; de Ridder et al., 2021).

Tigilanol tiglate is a potent cellular signalling molecule with a multifactorial mode of action (Figure 1). This diterpene ester is a phorbol ester that activates alpha, beta I, beta II, and gamma isoforms of protein kinase C. Protein kinase C enzymes are ubiquitous serine-threonine kinases found in different cell types. After activation, they translocate to membranes and promote downregulation of enzymes. Once this cascade is initiated, processes, such as proliferation, differentiation, apoptosis and migration, are regulated (Breitkreutz et al., Newton, 2010; Boyle et al., 2014). Prolonged stimulation of certain protein kinase C isoforms can exert potent antitumor effects (Boyle et al., 2014). The effects of TT appear already a few moments after administration; a rapid, acute and highly localized inflammatory response is seen in the tumor mass and its surroundings. Then, as a response to the inflammation, the innate immune system will be triggered. At the same time, activation of the protein kinase C pathway in the tumor vascular endothelial cells will induce a loss of tumor vascular integrity, which will eventually lead to tumor cell death with swelling and subsequent necrosis, usually achieved within three to seven days post injection. After the complete destruction of the tumor, wound healing is facilitated by the induction of the innate immune response that triggers a downstream of cytokines and chemokines, important to the initiation of wound healing processes at the treatment site (Boyle et al., 2014; Campbell et al., 2014; Barnett et al. 2019; Panizza et al., 2019). Wound healing after tumor destruction by the TT-injection is typically completed/achieved within four to six weeks (de Ridder et al., 2021; Reddell et al., 2021).

TIGILANOL TIGLATE TREATMENT PROTOCOL

Indications and contra-indications

Stelfonta[®] is registered for the treatment of non-resectable, non-metastatic (sub)cutaneous mast cell tumors that are accessible to intratumoral injection.

Patient factors, such as age, breed or sex of the dog, are not relevant. In contrast, the size and location of the primary tumor are. The tumor volume should not exceed 8 cm³. It is essential that the volume is de-

termined at the day of the drug administration (EMA, 2020). Subcutaneous MCTs are excluded if they are located above the elbow or hock (e.g. on the head, neck, body) as necrotic debris from the injected tumor may accumulate in the subcutaneous space, increasing the risk of systemic adverse reactions, including death, from mast cell degranulation (Blackwood et al., 2021). This restriction does not apply to cutaneous MCTs, for which eligibility is independent of tumor location. On the other hand, caution should be taken when treating tumors in mucocutaneous and sensitive locations as irritation or subsequent necrosis might impair function. Furthermore, all grades are officially eligible for treatment with Stelfonta[®]. Yet, it is noteworthy to mention that tumors with an unfavorable cytological grading will less frequently have a complete response (Camus et al., 2016; Brown et al., 2021).

Diagnosis of a MCT should always be confirmed by cytological examination of a fine needle aspirate (FNA) (Camus et al., 2016). In addition, the presence of metastatic disease should be excluded. Therefore, complete staging of the dog is recommended, including bloodwork (hematology and biochemistry), assessment of the regional/sentinel lymph nodes, abdominal ultrasound with FNAs of the spleen and liver, and (arguably) thoracic radiographs (Blackwood et al., 2012). In a large study on the use of TT in veterinary medicine, the majority of dogs did not have complete staging (de Ridder et al., 2021). This reflects the situation in routine clinical practice, although staging is strongly recommended in dogs with suspected aggressive MCTs/MCTs showing aggressive clinical behavior. Since the drug has not been evaluated in dogs with systemic signs of MCTs, including vomiting, diarrhea and inappetence, such patients were also not eligible for treatment in that study (de Ridder et al., 2021). Further exclusion criteria were previous treatment and/or interventions, including: (1) radiotherapy, chemotherapy, surgery or biopsy of target tumor at any time; (2) systemic or local anticancer therapy in the last two months; (3) non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in ≤ 7 days; (4) immunosuppressive doses of corticosteroids or anti-allergic medication (e.g. oclacitinib or cyclosporin) or canonized monoclonal antibodies within the last 14 days (de Ridder et al., 2021). It is recommended to include dogs with MCTs where the surface is intact, with the expectation of minimal product leakage from the tumor surface after the intratumoral injection. In MCTs with an ulcerated surface, part of the intratumorally injected TT might leak from the surface, potentially reducing effectiveness.

Although sedation or general anesthesia is not required for Stelfonta[®] treatment, in case of a frightened/aggressive dog or a MCT at a sensitive location, sedation is preferred to ensure an accurate and safe injection of the tumor site while minimizing the risk of self-injection (de Ridder et al., 2021).

Dose calculation

The administered dose of TT depends on the tumor volume (in cm³).

$$\text{Tumor volume (cm}^3\text{)} = \frac{1}{2} \times \text{length (cm)} \times \text{width (cm)} \times \text{depth (cm)}$$

The dose rate is 0.5 mL of 1 mg/mL TT per cm³ of tumor volume, except when the calculated volume is <0.2 cm³, in which case a minimum dose of 0.1 mL should be injected.

$$\text{Dose volume (mL)} = \text{tumor volume (cm}^3\text{)} \times 0.5 \text{ mL (with a minimum volume of 0.1 mL)}$$

Intratumoral injection of tigilanol tiglate

First, the area around the MCT is clipped with minimal manipulation to provide a clearly visible injection site. Extensive clipping is recommended so that any local reaction and potential adverse effects will not be masked by the coat. Secondary healing will also proceed better as there will be less risk of bacterial contamination. It is recommended to use a 23 Gauche needle on a Luer-Lock syringe for intratumoral injection. Otherwise, increased intratumoral pressure during injection may cause separation of the needle and the syringe, and lead to inadequate dosing and a risk of exposure of Stelfonta[®] to the administrator.

The appropriate point for inserting the needle is on the edge of the tumor. The product must be dispersed within one injection, i.e. after inserting the needle and controlling that no vessels were hit. Injection should be performed with equal pressure and a fanning manner to maximize distribution into the tumor (Figure 2); and the needle should not be immediately redrawn to prevent expulsion of the product.

Concomitant medication

The injection with TT results in an acute local inflammatory response with swelling, bruising and erythema, followed by hemorrhagic necrosis. Concomitant medications, shown in Table 1, are used to minimize the associated side effects and discomfort. In several studies, it has been demonstrated that using concomitant drugs leads to a treatment with fewer effects of local or systemic degranulation that can occur when MCTs are disturbed (Blackwood et al., 2012; de Ridder et al., 2021; Reddell et al., 2021).

The corticosteroids (e.g. oral prednisone or prednisolone at anti-inflammatory dose) must be initiated orally at inflammatory dose two days before Stelfonta[®] treatment to minimize the inflammation, and must be continued for eight days after injection. During the first seven days, a dose of 0.5 mg/kg q12 hours must be administered/continued, followed by three days at a dose of 0.5 mg/kg q24 hours. The H1 receptor blocking agent (e.g. oral diphenhydramine, 2 mg/kg PO q12 hours) potentially prevents the development of gastric ulceration and must be initiated on the day of Stelfonta[®] treatment and be continued for a total of eight days. In addition, the H2 receptor blocking agent (e.g. oral famotidine, 0.5mg/kg q12 hours) decreases the adverse effects of histamine on the peripheral vasculature and wound healing and must be started on the day of Stelfonta[®] treatment and be continued for eight days.

In a randomized controlled clinical study by de Ridder et al. (2021) evaluating the efficacy and safety of TT-treatment, three types of pain medication were used post injection. Tramadol was used in more than three quarters of the cases; buprenorphine and gabapentin being less commonly used and less frequently combined with tramadol (de Ridder et al., 2021).

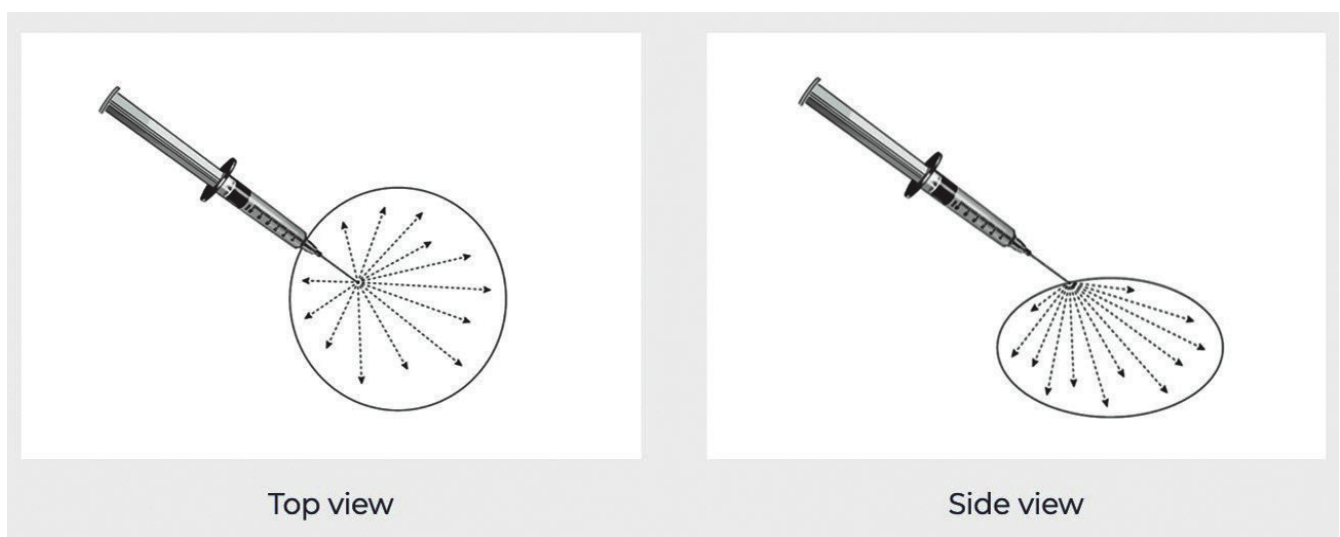


Figure 2. Simulation of the intra-tumoral injection with tigilanol tiglate in a mast cell tumor (Qbiotics, 2020).

Table 1. A general schedule of concomitant medication based on the concurrent medication, based on the dosing scheme by Virbac (2020), to minimize the risk of mast cell degranulation during treatment with tigilanol tiglate.

Concomitant medication	Day-2		Day-1		Day of injection		Day 1		Day 2		Day 3		Day 4		Day 5		Day 6		Day 7	
	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm	am	pm
Corticosteroids (e.g. prednisolone 0.5 mg/kg po q12/24h)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x		x
H1 receptor blocking agent (e.g. diphenhydramine 2.0 mg/kg po q12h)					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
H2 receptor blocking agent (e.g. famotidine 0.5 mg/kg po q12h)					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Pain relief (e.g. tramadol 3-5 mg/kg po q8h)					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Follow-up and prognosis

In the literature, no mandatory rechecks have been described after injection with TT. Ideally, rechecks should be scheduled every other week after injection until complete wound healing has occurred. A subsequent control consultation may take place three months later to evaluate whether there is any recurrence. Within the first four days after injection, it is recommended to remind the owner of the importance of the concomitant medications and to monitor whether any pain management needs to be implemented. On day seven, a check-up may be helpful to assess the size of the wound, initiate wound management if necessary and address the concerns of the owner.

The use and necessity of a bandage after the injection is variable and dependent upon the patient characteristics, tumor location, response to therapy and treatment site drainage. Dressing and bandaging are not necessary nor recommended in most of the cases. In a pivotal study on wound management and healing, the use of a bandage at any stage after the TT-injection was discouraged because of the possible interference with the resolution and drainage of local edema, followed by an increased wound size due to affection of the surrounding tissue (reddell et al., 2021).

In the large study by de Ridder et al. (2021), complete response after one treatment was achieved in 75% of cases by day 28, and an additional 12% with two injections combined in case complete response was not achieved with one single injection.

When no response or an incomplete response oc-

curs, potential repeated dosing can be conducted, but some conditions should be considered. It is recommended to wait at least 28 days before a second injection is given. This way, it is easier to obtain a noticeable difference in treatment response and wound healing. Before re-treating a tumor that did not achieve complete response, it is crucial to get a better understanding of the possible reasons for therapy failure. There are two main reasons: underdosing and interference with the immune response due to concurrent medication or disease.

In terms of safety and tolerability, most adverse events, including wound formation, tumor site pain, injection site bruising, swelling and erythema and lameness in the treated limb are low-grade, transient and manageable. There are two essential indicators of the efficacy of TT and thereby desirable side effects, namely erythema at the injection site and the formation of tumor necrosis and skin defect (de Ridder et al., 2021).

CONCLUSION

Tigilanol tiglate is a potential candidate to treat non-metastatic, non-resectable MCTs in dogs; however, several inclusion and exclusion criteria must be considered when evaluating whether a dog with a MCT is eligible for TT treatment or not. Clinical staging should be carried out before the injection to rule out metastatic disease.

Because of the multifactorial mechanism of action

of TT that relies mainly on the response of the ‘host tissues’, the use of TT also offers a potential treatment for a range of different tumor types in various species.

Tigilanol tiglate is a local therapy, with little systemic toxicity. Nevertheless, it is important to closely follow the treatment protocol so that pre- and concomitant medication and the injection are carried out correctly to aim for a complete response and minimize the risk of adverse events due to MCT degranulation.

A major concern of TT treatment and thereby also a significant difference with surgical excision is the fact that no margins and biopsies are taken. As a result, the information on the histological grade and/or the presence of the satellite tumor cells remains lacking.

The price of a Stelfonta[®] treatment varies according to the initial tumor volume. A single Stelfonta[®] treatment is generally less expensive than the cost of surgical excision. An additional advantage of TT in this regard is that the procedure can be performed in basically any veterinary practice, whereas chemotherapy and/or radiation therapy should be performed in more specialized practices/centers.

It can be concluded that in selected cases, TT can be proposed to owners as a worthy alternative to surgery. It offers a new opportunity for general practitioners and specialized veterinary centers to treat cutaneous and subcutaneous MCTs below the elbow and the hock in dogs, thereby avoiding general anesthetic and invasive surgery.

REFERENCES

- Barnett, C.M.E., Broit, N., Yap, P.Y., Cullen, J.K., Parsons, P.G., Panizza, B.J., Boyle, G.M. (2019). Optimising intratumoral treatment of head and neck squamous cell carcinoma models with the diterpene ester Tigilanol tiglate. *Invest New Drugs* 37, 1-8.
- Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P., de Vos, J.P., de Fornel-Thibaud, P., Hirschberger, J., Kessler, M., Pastor, J., Ponce, F., Savary-Bataille, K., Argyle, D.J. (2012). European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary Comparative Oncology* 10, 1-29.
- Boyle, G.M., D’Souza, M.M.A., Pierce, C.J., Adams, R.A., Cantor, A.S., Johns, J.P., Maslovskaya, L., Gordon, V.A., Reddell, P.W., Parsons, P.G. (2014). Intra-lesional injection of the novel PKC activator EBC-46 rapidly ablates tumors in mouse models. *PLoS One* 9, 1-12.
- Breitkreutz, D., Braiman-Wiksmann, L., Daum, N., Denning, M.F., Tennenbaum, T. (2007). Protein kinase C family: On the crossroads of cell signaling in skin and tumor epithelium. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 113, 793-808.
- Brown, G.K., Campbell, J.E., Jones, P.D., de Ridder, T.R., Reddell, P., Johannes, C.M., 2021. Intratumoural Treatment of 18 Cytologically Diagnosed Canine High-Grade Mast Cell Tumours With Tigilanol Tiglate. *Frontiers in Veterinary Science* 8, 1-8.
- Campbell, J., Miller, J., Blum, A., Toole, S., Ayerbe, J., Verner, M., Poulos, C., Boyle, G., Parsons, P., Moses, R., Steadman, R., Moseley, R., Schmidt, P., Gordon, V., Reddell, P. (2014). Exceptional in vivo wound healing following destruction of cutaneous and subcutaneous tumors in domesticated animals treated with the novel epoxy-tigliane drug EBC-46. *Wound Repair and Regeneration* 22, 557-684.
- Camus, M.S., Priest, H.L., Koehler, J.W., Driskell, E.A., Rakich, P.M., Ilha, M.R., Krimer, P.M. (2016). Cytologic criteria for mast cell tumor grading in dogs with evaluation of clinical outcome. *Veterinary Pathology* 53, 1117-1123.
- de Ridder, T.R., Campbell, J.E., Burke-Schwarz, C., Clegg, D., Elliot, E.L., Geller, S., Kozak, W., Pittenger, S.T., Pruitt, J.B., Riehl, J., White, J., Wiest, M.L., Johannes, C.M., Morton, J., Jones, P.D., Schmidt, P.F., Gordon, V., Reddell, P. (2021). Randomized controlled clinical study evaluating the efficacy and safety of intratumoral treatment of canine mast cell tumors with tigilanol tiglate (EBC-46). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 35, 415-429.
- EMA. European Medicines Agency—STELFONTA Summary of Product Characteristics (SmPC) [Internet]; 2020. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/stelfonta>. Accessed November 2, 2022.
- Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine, Package Insert (2020).
- Jones P.D., Campbell J.E., Brown G., Johannes C.M., Reddell P. (2021). Recurrence-free interval 12 months after local treatment of mast cell tumors in dogs using intratumoral injection of tigilanol tiglate. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 35, 451-455.
- Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cör, A., Tozon, N. (2009). Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In Vivo (Brooklyn)* 23, 55-62.
- London, C.A., Thamm, D.H. (2020). Mast cell tumors. In: Vail, D.M., Thamm, D.H., Liptak, J.M. (editors). *Withrow & MacEwen’s Small Animal Clinical Oncology*. Sixth edition, St. Louis, Missouri, p. 382-403.
- Marconato, L., Polton, G., Stefanello, D., Morello, E., Ferrari, R., Henriques, J., Tortorella, G., Benali, S.L., Bergottini, R., Vasconi, M.E., Annoni, M., Sabattini, S. (2018). Therapeutic impact of regional lymphadenectomy in canine stage II cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Comparative Oncology* 16, 580-589.
- Miller, J., Campbell, J., Blum, A., Reddell, P., Gordon, V., Schmidt, P., Lowden, S. (2019). Dose characterization of the investigational anticancer drug tigilanol tiglate (EBC-46) in the local treatment of canine mast cell tumors. *Frontiers in Veterinary Science* 6, 1-10.
- Newton, A.C. (2010). Protein kinase C: Poised to signal. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism* 298, 395-402.
- Panizza, B.J., de Souza, P., Cooper, A., Roohullah, A., Karapetis, C.S., Lickliter, J.D. (2019). Phase I dose-escalation study to determine the safety, tolerability, preliminary efficacy and pharmacokinetics of an intratumoral injection of tigilanol tiglate (EBC-46). *EBioMedicine* 50, 433-441.
- Reddell, P., de Ridder, T.R., Morton, J.M., Jones, P.D., Campbell, J.E., Brown, G., Johannes, C.M., Schmidt, P.F., Gordon, V. (2021). Wound formation, wound size, and progression of wound healing after intratumoral treatment of mast cell tumors in dogs with tigilanol tiglate. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 35, 430-441.

Spugnini, E.P., Vincenzi, B., Citro, G., Dotsinsky, I., Mudrov, T., Baldi, A. (2011). Evaluation of cisplatin as an electrochemotherapy agent for the treatment of incompletely excised mast cell tumors in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25, 407-411.

Virbac (2020). Stelfonta mode of action, Stelfonta® (tigilanol tiglate) injection technical monograph, 12-32. <https://vet-us.virbac.com/files/live/sites/virbac-b2b-usa/files/stelfonta/statique/documents/STELFONTA%20USA%20Technical%20Monograph.pdf>

Welle, M.M., Bley, C.R., Howard, J., Rüfenacht, S. (2008). Canine mast cell tumours: A review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology* 19, 321-339.

Ziekman, P.G.P.M., den Otter, W., Tan, J.F.V., Teske, E., Kirpensteijn, J., Koten, J.W., Jacobs, J.J.L. (2013). Intratumoural interleukin-2 therapy can induce regression of non-resectable mastocytoma in dogs. *Anticancer Research* 33, 161-165.



© 2023 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.

Detection of infectious agents in equine pregnancy loss, stillbirth and neonatal death

Detectie van infectieuze agentia bij abortus, doodgeboorte en neonatale sterfte bij het paard

¹V. Saey, ²H. Van Loo, ³A. Gryspeerdt, ⁴S. Pronost, ⁵F. Gasthuys, ¹K. Rosiers, ⁶D. Cassart, ²J. Govaere

¹Animal Health Care Flanders (DGZ), Site Torhout, Industrielaan 29, 8820 Torhout, Belgium

²Department of Internal Medicine, Reproduction and Population Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

³Equi Focus Point Belgium, Diksmuidseweg 105, B-8900 Ieper

⁴LABEO Frank Ducombe, Normandie University, UNICAEN BIOTARGEN, Rue de Saint Contest 1, 1400 Caen, France.

⁵Department of Surgery and anesthesiology of domestic animals, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

⁶Department of Morphology and Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Université de Liège, Boulevard de Colonster 20, 4000 Liège, Belgium

verosaey@hotmail.com

ABSTRACT

Equine abortion, stillbirth and neonatal death cause major economic losses to the equine industry worldwide. Both non-infectious and a wide range of infectious causes have been described. However, the relative contribution of pathogens to equine abortion, stillbirth and neonatal death is poorly documented, since available studies involve only a limited number of pathogens. Therefore, the objectives of the present retrospective monitoring study were to determine the prevalence of infectious agents associated with equine abortion and perinatal mortality in Belgium, and to set up a protocol usable under field conditions using polymerase chain reaction targeting. A real-time simple polymerase chain reaction for eight different abortifacient pathogens was conducted leading to the detection of at least one infectious agent in 37% of 105 analyzed cases. In the diagnosed cases, equine herpesvirus-1 was the most detected pathogen (49%), followed by *Streptococcus equi subspecies zooepidemicus* (28%), *Coxiella burnetii* (18%), *Leptospira interrogans* (3%) and *Neospora caninum* (3%). None of the analyzed cases was positive for equine viral arteritis, equine herpesvirus-4 and *Chlamydophila* spp.

In this study, PCR targeting is shown to have its value to detect a (co)-infectious cause in equine abortion, stillbirth and neonatal death, especially in field conditions where autolysis and contamination might preclude a full post-mortem examination protocol based on classical microbiological examination.

SAMENVATTING

Abortus, doodgeboorte en neonatale sterfte bij de merrie veroorzaken jaarlijks wereldwijde economische verliezen. Zowel infectieuze als niet-infectieuze oorzaken worden beschreven in de literatuur. Het relatieve belang van de verschillende pathogenen bij abortus, doodgeboorte en neonatale sterfte bij het paard is echter onduidelijk, aangezien in de meeste studies slechts een beperkt aantal pathogenen onderzocht werd. Daarom waren de doelstellingen van deze retrospectieve monitorings-

studie om de prevalentie van acht infectieuze oorzaken van abortus en perinatale sterfte bij het paard in België te bepalen en ten tweede om een onder veldomstandigheden bruikbaar “polymerase-chain-reaction” protocol op te stellen. Een “real-time polymerase chain reaction” voor acht pathogenen geassocieerd met abortus/perinatale sterfte bij het paard werd uitgevoerd bij 105 gevallen. In 37% van de gevallen werd tenminste één infectieus agens gedetecteerd, met als koploper equine herpesvirus-1 (49%) gevolgd door *Streptococcus equi subspecies zooepidemicus* (28%), *Coxiella burnetii* (18%), *Leptospira interrogans* (3%) en *Neospora caninum* (3%). Equine viral arteritis, Equine herpesvirus-4 and *Chlamydophila spp.* werden niet gedetecteerd.

In deze studie wordt aangetoond dat PCR nuttig kan zijn om een co(-infectieuze) oorzaak van abortus, doodgeboorte of neonatale sterfte bij het paard te detecteren, vooral in praktijkomstandigheden waarbij autolyse en contaminatie een uitgebreid post-mortemprotocol met klassieke microbiologische analyses kunnen verhinderen.

INTRODUCTION

Equine abortion, stillbirth and neonatal death (ASND) are major problems in the horse industry as they cause great economical and emotional losses worldwide (Bosh et al., 2009; Parameswaran and Senthil, 2014). Spontaneous abortion in horses is defined as pregnancy loss prior to three hundred days of gestation. Fetuses dying after three hundred days of gestation are conventionally termed as stillbirths, since foals born from that time on may be capable to survive (Acland, 1993). Cases of foals that die within two days after birth are classified as neonatal death.

Both infectious and non-infectious causes involved in equine ASND have been reported worldwide (Bain et al., 1969; Giles et al., 1993; Smith et al., 2003; Léon et al., 2006; Léon et al., 2012), but regional differences highlight the importance of local, systematic monitoring. In Belgium, limited information exists on the prevalence of equine causes of ASND.

Continuous surveillance of ASND in horses is important as some disorders, e.g. equine herpesvirus-1 (EHV-1) infections (Damiani et al., 2014) and the mare reproductive loss syndrome (MRLS) (Sebastian et al., 2008), require immediate preventive measures, encouraging laboratories to focus on specific infectious causes. However, examination is often challenging, especially under field conditions. Cases of ASND often show extensive post-mortal decay or autolysis, which hampers routine bacteriological and histological examination. Moreover, some pathogens are difficult to detect because of an intracellular location, e.g. *N. caninum* and *C. burnetii*, or a strenuous culture protocol (*Leptospira*). This underlines the importance of the use of PCR assays.

The aims of this study were (1) to determine the prevalence of the most important infectious causes of equine abortion, stillbirth and neonatal death in Belgium, and (2) to study the possible value of a panel of real-time polymerase chain reaction tests in the detection of infectious agents in equine abortion, stillbirth and neonatal death.

MATERIALS AND METHODS

Sample population

Between February 2015 and June 2017 (time period determined by availability of funding), a total of 133 cases (128 abortions/stillbirths, and 5 neonatal deaths) in different horse breeds (predominantly warmbloods) in Belgium (95 in Flanders, 38 in Wallonia) were declared by the owner. Within 24 hours of case declaration, the fetus and, in the majority of cases, corresponding fetal membranes and umbilical cord, or fetal organs were collected by the veterinarian and transported to the laboratory of Animal Health Services Flanders (DGZ Vlaanderen) or the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Liège. The location of referral depended only on the location where the ASND case happened (DGZ Vlaanderen for Flanders; University of Liège for Wallonia).

From the initial 133 cases, 28 cases were excluded because of incompleteness of submitted material, resulting in a final study population of 105 cases (Figure 1).

Necropsy protocol

Processing of the fetus/foal was performed within 24 hours after arrival at the laboratory facilities. At necropsy, the fetus/foal was weighed, placed in right-sided recumbency and the crown-rump length (cm) was measured. In cases where no gestational length was known, the gestational length was calculated based on fetal crown-rump length, as described by McGeady et al. (2017).

The fetus/foal, umbilical cord and placenta were checked for macroscopic abnormalities. The thoracic and abdominal cavities were cut-opened, followed by tissue sampling of the lung and liver. The skull was disarticulated at the atlantooccipital joint followed by sagittal dissection and tissue sampling of the brain. Finally, the placenta underwent tissue sampling.

All samples were separately packed and sent under

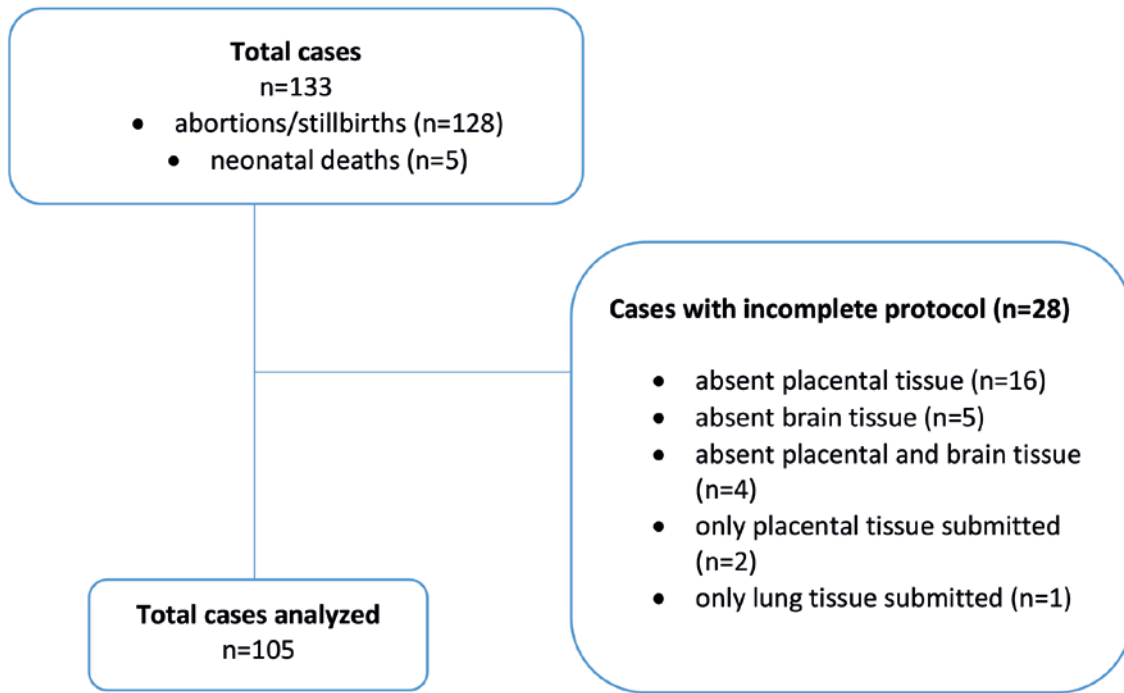


Figure 1. Flow chart showing the initial and final study population and the reasons of exclusion.

cooled conditions (4°C) to LABÉO (Caen, France) for PCR examination.

Molecular analysis

The presence of EHV-1, equine herpesvirus-4 (EHV-4), equine viral arteritis (EVA), *Lepstospira interrogans* (*L. interrogans*), *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*), and *Coxiella burnetii* (*C. burnetii*) was systematically investigated by a simple real-time PCR on a pool sample of liver and lung tissue. The real-time PCR for the detection of *Neospora caninum* (*N. caninum*) and *Chla-*

mydophila spp. (*Chlamydophila abortus*, *psittaci* and *pecorum*) was performed on brain and placenta, respectively. Nucleic acids of the collected organs were extracted using the Qiagen (QIAamp DNA/RNeasy mini kits) procedure according to the manufacturer's instructions. The real-time PCR tests were performed according to previously described procedures (Léon et al., 2006; Diallo et al., 2007; Pronost et al., 2010; Léon et al., 2012; Pronost et al., 2012).

RESULTS

The majority of analyzed cases (66%) happened between the 7th and 10th month of gestation (range 3-11 months). Forty percent of the analyzed cases were abortions, 57% were stillbirth cases (>300 days of gestation), while 3% of the cases were neonatal deaths.

In 35% of the analyzed cases (37/105), an infectious agent could be detected. In 65% (68/105) of the cases, no infectious agent was detected, nor was there an apparent cause of abortion seen.

Viral infection

The main infectious agent that could be detected was EHV-1. This virus was present in 49% of the diagnosed cases (19/39). In 58% of the EHV-1 positive cases (11/19), post-mortem examination revealed lesions such as icterus, and an enlarged liver with or without pinpoint necrotic foci was noticed (Figure 2).

No cases were positive for EVA.

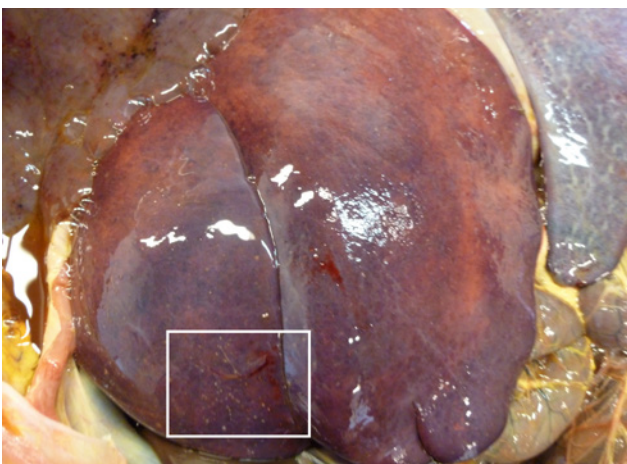


Figure 2. Enlarged liver with white necrotic foci on the capsular surface (rectangular) of an aborted foal diagnosed with EHV-1. These typical lesions were only seen in half of EHV-1 positive cases.

Bacterial infection

In 28% of the diagnosed cases (11/39), *S. zooepidemicus* was detected. *Coxiella burnetii* was detected in 18% of the diagnosed cases (7/39). In two of these *C. burnetii* positive cases, a co-infection was noticed (one with *S. zooepidemicus*; one with EHV-1). Only one case was positive for *Leptospira interrogans* (3%; 1/39), and no cases were positive for *Chlamydophila spp.*

Parasitic infection

Three percent of the diagnosed cases (1/39) was positive for *N. caninum*.

Non-infectious

In 4% of the analyzed cases (4/105), umbilical cord strangulation was present.

The results of the diagnostic analyses and the sampled tissues are summarized in Table 1.

In 5.7% of the analyzed cases (6/105), a presumptive diagnosis of placentitis was made based on gross abnormalities, such as thickening, edema and discoloration. However, no infectious agents could be detected in these cases.

DISCUSSION

This is the first overall survey in Belgium with the objective to establish an epidemiologic insight into equine ASND. In 37% of the analyzed cases (39/105), an infectious agent was detected.

In most large-case studies on aborted foals focusing on well-known pathogens causing abortion in horses (EHV-1 and *S. zooepidemicus*), standard microbiological, fungal examination, and viral isolation are used. In these surveys, prevalences of infectious causes of abortion ranging from 12% (Ricketts et al., 2003) to 20% (Smith et al., 2003) have been reported.

Léon et al. (2012) were the first to investigate an extensive panel of abortifacient pathogens (EHV, EVA, *S. zooepidemicus*, *Leptospira*, *C. burnetii*, *N. caninum* and *C. abortus*) in French horses using molecular analysis, resulting in a diagnostic rate of 27%. Szeregi et al. (2008) also used PCR to target EHV-1 and *C. abortus* in aborted foals. The higher diagnostic rate in the present study may be the result of the use of molecular analysis, or the higher prevalence of some of the analyzed pathogens. Additionally, the higher detection of infectious agents may also be caused by submission bias. Horse owners and their veterinarians may be more motivated to submit ASND cases for laboratory analysis when infectious causes are suspected.

In the present study, EHV-1 was the leading cause of equine ASND, similar to reports worldwide throughout all stages of pregnancy (Macleay et al., 2022). Both EHV-1 and EHV-4 are endemic in horses worldwide, but regional differences exist (Allen et al., 1999; Yildirim et al., 2015). In the UK, EHV was detected in 7% of aborted foals (Ricketts et al., 2001; Smith et al., 2003). The large majority of these cases represented an EHV-1 infection (>90%) which corresponds with other studies (Patel and Heldens, 2005). In France, Léon et al. (2012) identified EHV-1 infection in 8.8% of aborted foals. These percentages are low compared to the present study, which suggests a higher circulation of EHV-1 in Belgium than in some other countries. Belgium is known for its important role in equine breeding, and it is also a popular equestrian sports country. Consequently, there is a higher chance of direct contact between animals, which may lead to new outbreaks of EHV-1, as already shown in the past (Carvelli et al., 2022). In other important horse breeding areas, such as the USA and UK, EHV-1 positive cases have declined over time, which was attributed to a combination of vaccination and improved risk reduction (Macleay et al., 2022). The higher number of EHV-1 positive cases in the present study could be the result of the fact that the involved veterinarian might have been more inclined to refer

Table 1. Results of diagnostic analyses in 105 cases of equine abortion, stillbirth and neonatal death. In 37% of the cases (39/105), at least one infectious abortifacient agent could be detected (= diagnosed cases).

Pathogen	% positive (n=105)	% positive of diagnosed cases (n=39)	Sample type
EHV-1	18.1	48.7	Fetal/foal liver and lung
<i>S. zooepidemicus</i>	10.5	28.2	Fetal/foal liver and lung
<i>C. burnetii</i>	6.7	17.9	Fetal/foal liver and lung
<i>L. interrogans</i>	1.0	2.6	Fetal/foal liver and lung
<i>N. caninum</i>	1.0	2.6	Fetal/foal brain
<i>Chlamydophila spp.</i>	0	0	Placenta
EHV-4	0	0	Fetal/foal liver and lung
EVA	0	0	Fetal/foal liver and lung

EHV-1 = equine herpesvirus-1; *S. zooepidemicus* = *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus*; *C. burnetii* = *Coxiella burnetii*; *L. interrogans* = *Leptospira interrogans*; *N. caninum* = *Neospora caninum*; EHV-4 = equine herpesvirus-4; EVA = equine viral arteritis

only EHV-suspected cases for further investigation. Weber et al. (2018) also used a PCR test to detect infectious causes of abortion, but they found EHV-1/4 in only 9% of abortion cases.

In 7% of the analyzed cases, *C. burnetii* could be detected in liver and lung tissues of the fetus/foal. This prevalence suggests a high circulation of this bacterium in Belgium. Recently, 8.5% of Belgian bovine abortions originating from Wallonia, were tested positive for *C. burnetii* on the basis of a PCR test on a pool of fetal spleen and, if available, placental cotyledons (Saegerman et al., 2022). In Flanders, a percentage of only 1.5 % of bovine cases tested positive for *C. burnetii*. However, in these Flemish cases, only the fetal abomasal content was tested by PCR (Van Loo et al., 2021). Not much literature is available regarding *C. burnetii* infections in horses. A pooled mean seroprevalence of 15.8% has been calculated in horses (Marenzoni et al., 2013). Léon et al. (2012) were the first to report the presence of *C. burnetii* in 1.5% of aborted foals. The placenta is the target organ of *C. burnetii* (Clothier and Anderson, 2016). In the study by Léon et al. (2012), both lung and placental tissues of equine fetuses were tested by PCR. However, it was not specified if there were significant differences in prevalence between both tested organs. In the present study, in 2/7 of the *C. burnetii* positive cases, co-infection was present (one co-infection with EHV-1 and one co-infection with *S. zooepidemicus*). Presuming that this EHV-1 infection was the cause of abortion, the percentage of *C. burnetii* positive ASND cases may be overestimated in the present study. Considering the zoonotic character of *C. burnetii*, extra attention should be paid to this pathogen (Deyell et al., 2006). More studies, including histology and immunohistochemistry, are needed to further unravel the role of this pathogen in equine ASND.

L. interrogans is considered to be one of the most widespread zoonosis worldwide (Levett, 2001). Leptospirosis has also been described as a cause of placentitis in horses (Ellis and O' brien, 1988; Donahue et al., 2000). Moreover, the disease has been documented as the second most common cause of equine abortion in North America (Donahue et al., 1991; Macleay et al., 2022). However, only 4% of equine cases of pregnancy loss positive for leptospirosis worldwide originated from Europe (Macleay et al., 2022). Up till now, no information is available concerning the role of leptospirosis in equine ASND in Belgium. In the present study, only 3% of the diagnosed cases were positive for *L. interrogans*. Differences in density of the horse population and in the presence of wild animal reservoirs may explain the lower prevalence of leptospirosis in our region compared to others.

Neospora caninum, an apicomplexa protozoan parasite, is recognized as a major cause of abortion in cattle (Dubey, 2005; Dubey and Schares, 2006; Van Loo et al., 2021). In horses, an association between equine reproductive disorders and *N. caninum* infec-

tion has also been suggested (Villalobos et al., 2006; Veronesi et al., 2008). The number of animals with elevated anti-*Neospora* specific antibodies is higher in aborting mares (Pitel et al., 2003; Kligler et al., 2007). Léon et al. (2012) detected *N. caninum* by molecular analysis in 1% of aborted foals in France. PCR for *N. caninum* was positive in 23% of brain specimen from aborted foals in a study by Veronesi et al. (2008). In the present study, *N. caninum* was detected in only one case in the brain. However, as this parasite is very easily transmitted from infected mother to fetus, it can also be found in cases where *N. caninum* is not the cause of abortion (Dubey and Schares, 2006). Veronesi et al. (2008) also reported infections with *N. caninum* in aborted foals where the abortion event was assumed as primarily caused by EHV-1. Histology was not performed in this study, which could have been useful in order to correlate results of the PCR with the detection of *N. caninum* tachyzoites in fetal tissues (Dubey and Schares, 2006). However, detecting these protozoal agents in brain specimens by histological examination may be challenging (Veronesi et al., 2008).

In the present study, no EVA virus was detected. However, a serological study has shown that 10% of tested horses in Belgium presented specific antibodies to EVA (unpublished data, Lauwers, 1997-1998). In 2000, a severe outbreak of EVA infection happened in a Belgian Arabian stud farm (Van der Meulen et al., 2001). Gryspeerdt et al. (2009) reported also a small outbreak of neonatal death caused by EVA infection in Belgium.

Chlamydophila abortus, *C. psittaci* or *C. pecorum* were not detected in this study. There is only limited information available regarding the role of *Chlamydophila spp* in equine abortion. Abortions associated with *C. psittaci* have been reported in both Australia and Europe (France, Germany, Hungary and Switzerland) (Macleay et al., 2022). A high prevalence of *C. psittaci* in equine fetal membranes has been demonstrated in Hungary (Szeredi et al., 2005). Reports based on molecular tests also associated *C. psittaci* with equine abortion (Henning et al., 2000; Telocnik et al., 2018).

Placentitis is known as one of the main causes of infectious ASND in horses (Brinsko et al., 2011). According to a study by Macleay et al. (2022), placentitis accounted for 16% of reported pregnancy loss in mares worldwide. However, this percentage may be an underestimation as the diagnosis of placentitis in most studies is only based on gross placental examination without further cause-specific laboratory tests or histology (Macleay et al., 2022). Histopathology has been described as the standard tool for definitive diagnosis of placentitis (Cummins et al., 2008). Unfortunately, in the present study, no microbiological or histological examination on placental tissue was performed because of autolysis, contamination or scavenger damage in multiple cases. Studies in the

US (Tengelsen et al., 1997) and France (Bain et al., 1996) using microbiologic examination of the placenta, showed an infection by *S. zooepidemicus* in 7% and 24% of equine abortions, respectively.

No analyses were performed to detect nocardioform placentitis. This specific type of placentitis is associated with gram-positive branching actinomycetes. The disease causes episodic abortions and weak neonates in horses, primarily in the USA (Fedorka et al., 2021). However, nocardioform placentitis is rather uncommon in Europe (Cattoli et al., 2004), and therefore, this pathogen was not included in the current study.

Non-infectious conditions such as umbilical cord abnormalities were rarely detected in the present study. In the literature, umbilical cord disorders in horses have been reported with an incidence ranging from 0.8 to 46% (Smith, et al. 2003; Tengelsen et al., 1997; Ricketts et al., 2003; Weber et al., 2018). Macleay (2022) reported umbilical cord torsion mainly in Europe and North America, in both mid and late gestation. In the current study, which included predominantly warmblood foals, 4% of the cases showed umbilical strangulations. Important to mention is that in half of these cases, no infectious pathogen was detected. In the other half of the cases, an infection with *S. zooepidemicus* was diagnosed. During agony, umbilical strangulation can occur, secondary to the primary cause of compromise. Twisted umbilical cords without vascular compromise can often be seen in aborted foals (Vandenplassche and Lauwers, 1986). Umbilical strangulation in this study was only mentioned if edema, congestion or hemorrhage of the cord was present. Umbilical or placental disorders were possibly underestimated in this study due to the submission of incomplete placental tissue specimens and/or the absence of the umbilical cord in multiple cases.

Miscellaneous conditions such as dystocia or twinning could be missed due to the limited availability of history in several cases, and the less likelihood of such cases to be submitted as the main aim of submission to a diagnostic lab is the exclusion of infectious causes. Twin pregnancy was the main cause of non-infectious abortion (21.1%) in the study by Weber et al. (2018). Late-term twin pregnancies are however quite rare in Belgian horses because of routine ultrasonographic examination in early pregnancy.

CONCLUSION

In this study, the importance of PCR tests is confirmed, as advanced autolysis or strenuous culture protocols are often limiting factors in standard investigation protocols of equine ASND.

EHV-1 was the predominant infectious cause of ASND in Belgian horses, which is comparable to results worldwide. The high prevalence of *S. equi subspecies zooepidemicus* in this study highlights the

importance of molecular analysis for this pathogen in future studies. Given the detection of *C. burnetii* and *Leptospira spp.*, these zoonotic pathogens should be taken into account as possible causes of equine ASND.

As an infectious agent was detected in only 37% of the cases, additional analyses to detect both infectious and non-infectious causes of ASND in horses are required to increase the diagnostic rate.

REFERENCES

- Acland, H. (1993). Abortion in mares. In: A.O. McKinnon and J.L. Voss, Lea & Febiger, Malvern, Pennsylvania (editors). *Equine Reproduction*. Mosby-Year Book, St. Louis, Michigan, 554-562.
- Allen G.P., Kydd J.H., Slater J.D., Smith K.C. (1999). Advances in understanding of the pathogenesis, epidemiology and immunological control of equine herpesvirus abortion. In: Wernery U., Wade J.A., Mumford J.A., Kaaden O.R. (editors). *Equine Infectious Diseases VIII, Proceedings of the Eight International Conference*. R and W Publications, Newmarket, 129-146.
- Bain A.M. (1969). Foetal losses during pregnancy in the Thoroughbred mare: a record of 2562 pregnancies. *New Zealand Veterinary Journal* 17, 155-158.
- Bosh K.A.; Powell D., Neiberger J.S.; Shelton B., Zent W. (2009). Impact of reproductive efficiency over time and mare financial value on economic returns among Thoroughbred mares in central Kentucky. *Equine Veterinary Journal* 41, 889-894.
- Brinsko, S.P., Blanchard, T.L., Varner, D.D., Schumacher, J., Love, C.C., Hinrichs, K., Hartman, D. (2011). Pregnancy loss. In: P. Rudolph and L. Harms (editors). *Manual of Equine Reproduction*. Third edition, Mosby Elsevier, Maryland Heights, MO, USA.
- Carvelli A., Saxmose Nielsen S., Paillet R., Broglia A., Kohnle L. (2022). Clinical impact, diagnosis and control of Equine Herpesvirus-1 infection in Europe. *European Food Safety Authority (EFSA) Journal, Scientific Report* doi: 10.2903/j.efsa.2022.7230.
- Cattoli G., Vascellari M., Corrb M., Capua I., Mutinelli E., Sells S.F., Donahue. (2004). First case of equine nocardioform placentitis caused by *Crossiella equi* in Europe. *Veterinary Record* 154, 730-731.
- Clothier K. and Anderson M. (2016). Evaluation of bovine abortion cases and tissue stability for identification of infectious agents in California diagnostic laboratory cases from 2007 to 2012. *Theriogenology* 85, 933-938.
- Cummins C., Carrington S., Fitzpatrick E., Duggan V. (2008). Ascending placentitis in the mare: a review. *Irish Veterinary Journal* 61(5), 307-313.
- Damiani A.M., Vries M., Reimers G., Winkler S., Osterrieder N. (2014). A severe equine herpesvirus type 1 (EHV-1) abortion outbreak caused by a neuropathogenic strain at a breeding farm in northern Germany. *Veterinary Microbiology* 172(3-4), 555-562.
- Deyell M.W., Chiu B., Ross D.B., Alvarez N. (2006). Q fever endocarditis: a case report and review of the literature. *Canadian Journal of Cardiology* 2(9), 781-785.
- Diallo I.S., Hewitson G., Wright L.L., Kelly M.A., Rodwell B.J., Corney B.G. (2007). Multiplex real-time PCR for

- the detection and differentiation of equid herpesvirus 1 (EHV-1) and equid herpesvirus 4 (EHV-4). *Veterinary Microbiology* 123, 93–103.
- Donahue J.M., Smith B.J., Redmon K.J., Donahue J.K. (1991). Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 3, 148-151.
- Donahue J.M., Williams N.M. (2000). Emergent causes of placentitis and abortion. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 16(3), 443-456.
- Dubey J.P. (2005) Neosporosis in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 21, 473-483.
- Dubey J.P., Schares G. (2006). Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology* 140, 1-34.
- Ellis W.A., O' Brien J.J. (1988). Leptospirosis in horses. In: *Proceedings of the Fifth International Conference of Equine Infectious Disease*. Lexington, KY, 168.
- Erol E., Sells S.F., Williams N.M., Kennedy L., Locke S.J., Labeda D.P., Donahue J.M., Carter C.N. (2012). An investigation of a recent outbreak of nocardioform placentitis caused abortions in horses. *Veterinary Microbiology* 158(3), 425-430.
- Fedoroka C.E., Scoggin K.E., Ruby R.E., Erol E., Ball B.A. (2021). Clinical, pathologic, and epidemiologic features of nocardioform placentitis in the mare. *Theriogenology* 171, 155-161.
- Giles R.C., Donahue J.M., Hong C.B., Tuttle P.A., Petrites-Murphy M.B., Poonacha K.B., Roberts A.W., Tramontin R.R., Smith B., Swerczek T.W. (1993). Causes of abortion, stillbirth and perinatal deaths in horses: 3527 cases (1986-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 203, 1170-1185.
- Gryspeerd A., Chiers K., Govaere J., Vercauteren G., Ducatelle R., Van de Walle G.R., Nauwynck H.J. (2009). Neonatal foal death due to infection with equine arteritis virus in Belgium. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 78, 189-193.
- Henning K., Sachse K., Sting R. (2000) Demonstration of Chlamydia from an equine abortion. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 107(2),49-52.
- Hue E.S., Fortier C.I., Laurent A., Quesnelle Y., Fortier G.D., Legrand L.J., Pronost S. (2015). Development and validation of a quantitative PCR method for equid herpesvirus-2 diagnostics in respiratory fluids. *Journal of Visualized Experiments* 109, 53-67.
- Hussey S.B., Clark R., Lunn K.F., Breathnach C., Soboll G., Whalley J.M., Lunn D.P. (2006). Detection and quantification of equine herpesvirus-1 viremia and nasal shedding by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 18(4), 335-342.
- Jelocnik M., Jenkins C., O' Rourke B., Barnwell J, Polkinghorne A. (2018). Molecular evidence to suggest pigeon-type Chlamydia psittaci in association with an equine foal loss. *Transbound Emerging Diseases* 65(3), 911-915.
- Kligler E.B., Shkap V., Baneth G., Mildenberg Z., Steinman A. (2007). Seroprevalence of Neospora spp. among asymptomatic horses, aborted mares and horses demonstrating neurological signs in Israel. *Veterinary Parasitology* 148(2),109-113.
- Léon A., Pronost S., Tapprest J., Foucher N., Blanchard B., André-Fontaine G., Laugier C., Fortier G., Leclercq R. (2006). Identification of pathogenic Leptospira strains in tissues of a premature foal by use of polymerase chain reaction analysis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 18, 218-221.
- Léon A., Richard E., Fortier C., Laugier C., Fortier G., Pronost S. (2012). Molecular detection of Coxiella burnetii and Neospora caninum in equine aborted fetuses and neonates. *Preventive Veterinary Medicine* 104(1-2), 179-183.
- Levett P.N. (2001) Leptospirosis. *Clinical Microbiology Review* 14, 296-326.
- Macleay C.M., Carrick J., Shearer P., Begg A., Stewart M., Heller J., Chicken C., Brookes V.J. (2022). A scoping review of the global distribution of cause and syndromes associated with mid- to late-term pregnancy loss in horses between 1960 and 2020. *Veterinary Science* 9(4), 186; <https://doi.org/10.3390/vetsci9040186>.
- Marenzoni M.L., Stefanetti V., Papa P., Casagrande Proietti P., Bietta A., Coletti M., Passamonti F., Henning K. (2013). Is the horse a reservoir or an indicator of Coxiella burnetii infection? Systematic review and biomolecular investigation. *Veterinary Microbiology* 167(3-4), 662-669.
- McGeady T.A., Quinn P.J., Fitzpatrick E.S. (2017). Age determination of the embryo and foetus. In: *Veterinary Embryology*. Second edition, Blackwell Publishing, Oxford, 26, 331-332.
- Parameswaran T. and Senthil N.R. (2014). Analysis of economic loss due to Equine Herpes Viral infection. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology* 3(1), 134-139.
- Patel J.R., Heldens J. (2005). Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) – epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. *The Veterinary Journal* 170, 14-23.
- Pitel P.H., Romand S., Pronost S., Foucher N., Gargala G., Maillard K., Thulliez P., Collobert-Laugier C., Tainturier D., Fortier G., Ballet J.J. (2003). Investigation of Neospora sp. antibodies in aborted mares from Normandy, France. *Veterinary Parasitology* 18(1-2), 1-6.
- Pronost S., Legrand L., Pitel P.H., Wegge B., Lissens J., Freymuth F., Richard E., Fortier G. (2012). Outbreak of equine herpesvirus myeloencephalopathy in France: a clinical and molecular investigation. *Transbound Emerging Diseases* 59, 256-263.
- Pronost S., Pitel P.H., Miszczak F., Legrand L., Marcillaud-Pitel C., Hamon M., Tapprest J., Balasuriva U.B., Freymuth F., Fortier G. (2010). Description of the first recorded major occurrence of equine viral arteritis in France. *Equine Veterinary Journal* 42(8), 713-720.
- Ricketts S.W., Barrelet A., Whitwell K.E. (2001). A review of the causes of abortion in UK mares and means of diagnosis used in an equine studfarm practice in Newmarket. *Pferdeheilkunde* 17, 589-592.
- Ricketts S.W., Barrelet A., Whitwell K.E. (2003). Equine abortion. *Equine Veterinary Education, Manual* 6, 18-21.
- Saegerman C., Grégoire F. Delooz L. (2022). Diagnosis of Coxiella burnetii cattle abortion: a one-year observational study. *Pathogens* 11, 429-444.
- Sebastian M.M., Bernard W.V., Riddle T.W., Latimer C.R., Fitzgerald T.D., Harrison L.R. (2008). Review paper: mare reproductive loss syndrome. *Veterinary Pathology* 45(5), 710-722.
- Smith K.C., Blunden A.S., Whitwell K.E., Dunn K.A., Wales A.D. (2003). A survey of equine abortion, stillbirth and neonatal deaths in UK from 1988 to 1997. *Equine Veterinary Journal* 35, 496-501.
- Szeredi L., Hotzel H., Sachse K. (2005). High prevalence of chlamydial (Chlamydia psittaci) infection in foe-

- tal membranes of aborted equine fetuses. *Veterinary Research Communities* 29(1), 37-49.
- Szeredi L., Tenk M., Janosi S., Palfi V., Hotzel H., Sachse K., Pospischil A., Bozso M., Glavits R., Molnar T. (2008). A survey of equine abortion and perinatal foal losses in Hungary during a three-year period (1998-2000). *Acta Veterinaria Hungarica* 56, 353-367.
- Tengelsen L.A., Yamini B., Mullaney T.P., Bell T.G., Render J.A., Patterson J.S., Steficek A., Fitzgerald S.C., Kennedy F.A., Slanker M.R., Ramos-Vara J.A. (1997). A 12-year retrospective study of equine abortion in Michigan. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 9, 303-306.
- Van der Meulen K.M., Caij A., Nauwynck H., Pensaert M. (2001). An outbreak of equine viral arteritis abortion in Belgium. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 70, 221-222.
- Vandenplasse M., Lauwers H. (1986). The twisted umbilical cord: an expression of kinesis of the equine foetus? *Animal Reproduction Science* 10(3), 163-175.
- Van Loo H., Bogado Pascottini O., Ribbens S., Hooberghs J., Pardon B., Opsomer G. (2021). Retrospective study of factors associated with bovine infectious abortion and perinatal mortality. *Preventive Veterinary Medicine*. doi: 10.1016/j.prevetmed.2021.105366.
- Verma A., Stevenson B., Adler B. (2013). Leptospirosis in horses. *Veterinary Microbiology* 167(1-2), 61-66.
- Veronesi F., Diaferia M., Mandara M.T., Marenzoni M.L., Cittadini F., Piergili Fioretti D. (2008). Neospora spp. Infection associated with equine abortion and/or stillbirth rate. *Veterinary Research Communications* 21(Suppl 1), 223.
- Villalobos E.M., Ueno T.E., de Souza S.L., Cunha E.M., do Carmo Custodio de Souza Hunold Lara M., Genari S.M., Soares R.M. (2006). Association between the presence of serum antibodies against Neospora spp. and foetal loss in equines. *Veterinary Parasitology* 142(3-4), 372-375.
- Weber R., Hospes R., Wehrend A. (2018). Causes of abortion in horses – overview of the literature and own evaluations. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Grosstiere/Nutztiere* 46(1), 35-42.
- Whitwell K.E., Blunden A.S., Miller J., Errington J. (2009). Two cases of equine pregnancy loss associated with Leptospira infection in England. *Veterinary Records* 165(13), 377-378.
- Yildirim Y., Yilmaz V., Kirmigizul A.H. (2015). Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) infections in horses and donkeys in northeastern Turkey. *Iranian Journal of Veterinary Research* 16(4), 341-344.
- Yin L., Schautteet K., Kalmar D., Bertels G., Van Driessche E., Czaplicki G., Borel N., Longbottom D., Fretin D., Dispas M., Vanrompay D. (2014) Prevalence of Chlamydia abortus in Belgian ruminants. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 83, 164-170.



© 2023 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/>).

DGZ Vlaanderen als exclusieve partner van PathoSense voor Belux

Vanaf 2 mei 2023 zullen alle PathoSense analyses in de Belux exclusief uitgevoerd worden in het labo van DGZ. Dit werd op 29 maart 2023 officieel vastgelegd in de samenwerkingsovereenkomst die werd ondertekend tussen DGZ-MCC-Vivee en PathoSense.

PathoSense is een recente UGent spin-off die door dr. Sebastiaan Theuns en prof. dr. Hans Nauwynck werd opgericht in oktober 2020. PathoSense biedt een compleet 'staalname-tot-en-met-diagnostisch-interpretatie'-platform voor infectieziekten in de diergeneeskunde aan via nanopore sequencing (Oxford Nanopore Technologies). Via een gepatenteerde nieuwe swab kan je als dierenarts op een eenvoudige wijze stalen collecteren en de pathogenen in het staal meteen opzuiveren. De registratie van de analyse gebeurt via een intuïtieve mobiele app. Aangezien het platform gebruik maakt van een metagenoom analyse gebaseerd op ad random nanopore sequencing, hoef je geen voorafgaande selectie te maken van de te testen pathogenen. Hierdoor kan er een brede identificatie van virussen en bacteriën uitgevoerd worden bij acuut zieke dieren. Deze analyse kan worden ingezet voor alle diersoorten.



Marcel Heylen, voorzitter van DGZ en dr. Sebastiaan Theuns, co-founder van PathoSense ondertekenden de samenwerkingsovereenkomst onder het goedkeurend oog van prof. dr. Hans Nauwynck, co-founder van PathoSense en prof. dr. Benedikt Sas, directeur van DGZ.

Vanaf begin mei worden de PathoSense-analyses uitgevoerd in het labo van DGZ. Dierenartsen die de kit reeds in hun bezit hebben kunnen deze blijven gebruiken. Andere labo's die de kits nu al verdelen, blijven dit doen.



PathoSense



Evaluation of liver stiffness in a population of client owned healthy dogs using two-dimensional shear wave elastography: intraobserver reliability

Evaluatie van de lever van gezonde eigenaarshonden via tweedimensionele “shear wave”-elastografie: intraobserver-betrouwbaarheid

¹M. Toom, ¹J.H. Saunders, ²L. Duchateau, ³H. De Rooster, ³*N. Devriendt, ¹*E. Stock

¹Department of Morphology, Imaging, Orthopedics, Rehabilitation and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

²Department of Veterinary and Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

³ Small Animal Department, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

*These authors contributed equally to this work and share last authorship
Merle.Toom@Ugent.be

ABSTRACT

Sonoelastographic techniques can complement conventional grey-scale and Doppler ultrasonography by evaluating tissue elasticity, which has the prospect to provide differentiation between malignant and benign conditions. Both technical and patient-related confounding factors are known to influence the reliability and reproducibility of elastographic methods. Therefore, the study was designed to assess liver stiffness in a diverse population of client-owned healthy dogs, evaluate the effect of patient characteristics on the elastography measurements and to assess intraobserver reliability. A total of forty dogs underwent two-dimensional shear wave elastography (2D SWE) twice, performed by the same operator, one to six days apart. The average, median and maximum 2D SWE velocities for the linear probe were 2.50 +/- 0.067 m/s; 2.46 +/- 0.067 m/s; 3.58 +/- 0.13 m/s, respectively, and for the convex probe 0.99 +/- 0.11 m/s; 0.98 +/- 0.12 m/s and 1.34 +/- 0.21 m/s, respectively. No statistically significant effect ($P > 0.05$) on the 2D SWVs was seen of the dog-related characteristics sex, age, body weight and body condition score. The intraobserver agreement of 2D SWE was moderate with the intraclass correlation coefficient (ICC) for the average, median and maximum 2D SWE being 0.69; 0.71 and 0.74, respectively. The moderate ICC and discrepant results obtained with different probes mandates standardization of patient-related and technical factors to overcome excessive variability in measurements in order to implement this technique in clinical practice.

SAMENVATTING

Met elastografietechnieken kan de weefselelasticiteit geëvalueerd worden. Op deze manier kunnen ze een standaard B-mode en doppechografisch onderzoek aanvullen. Mogelijk kunnen ze ook helpen bij de differentiatie tussen goed- en kwaadaardige processen.

Zowel technische als patiëntgerelateerde factoren die eerder al tegenstrijdig bleken, kunnen de betrouwbaarheid en de reproduceerbaarheid van elastografieresultaten beïnvloeden. Daarom werd de voorliggende studie opgezet om de lever te beoordelen bij een gevarieerde populatie van gezonde eigenaarshonden, het effect van patiënteigenschappen te evalueren middels elastografiemetingen en om de intraobserver-betrouwbaarheid te bepalen. In totaal ondergingen veertig honden tweemaal een tweedimensioneel “shear wave” elastografisch onderzoek (2D SWE), uitgevoerd door dezelfde operator met een tussenspanne van één tot zes dagen. De gemiddelde, mediaan en maximum 2D SWE-snelheden

voor de lineaire sonde waren respectievelijk 2,50 +/- 0,067 m/s; 2,46 +/- 0,067 m/s; 3,58 +/- 0,13 m/s, voor de convex sonde waren ze respectievelijk 0,99 +/- 0,11 m/s; 0,98 +/- 0,12 m/s en 1,34 +/- 0,21 m/s. Er werd geen statistisch significant effect ($P > 0,05$) gezien op de 2D SWV met betrekking tot het geslacht, de leeftijd, het lichaamsgewicht en de lichaamsconditiescore van de honden. De intra-observer-overeenkomst van de 2D SWE was matig waarbij de intraclass-correlatiecoëfficiënt (ICC) voor de gemiddelde, mediaan en maximum 2D SWE respectievelijk 0,69; 0,71 en 0,74 bedroeg. De matige ICC en de tegenstrijdige resultaten verkregen met verschillende sondes nopen tot standaardisatie van patiëntgerelateerde en technische factoren. Dit om overmatige variabiliteit van de resultaten te voorkomen teneinde deze techniek te kunnen implementeren in de klinische praktijk.

INTRODUCTION

Ultrasonography is a widely available, non-invasive and sensitive imaging modality used in the diagnostic work-up process of hepatobiliary diseases. However, due to similarities in the sonographic appearance of different disease processes and the fact that liver can appear unremarkable even in the presence of severe pathology (Feeney et al., 2008), liver cytology or biopsy are often needed for a definitive diagnosis (Marolf, 2017). Liver biopsy is an invasive technique associated with possible complications such as anesthetic risk, hemorrhage, air-embolism and vagotonic shock, and sampling errors can occur due to the variability in disease presence and/or severity in different parts of the liver (Bedossa et al., 2003; Cole et al., 2002; Kemp et al., 2015; Lidbury, 2017). In recent years, liver elastography has been researched in veterinary medicine (Cha et al., 2022; Holdsworth et al., 2014; Jung et al., 2020; K. Kim et al., 2020; Park et al., 2021; Tamura et al., 2021; Tamura, Ohta, Nisa, et al., 2019; Tamura, Ohta, Shimbo, et al., 2019), as studies in human medicine have shown promise of this non-invasive elastography method in both the diagnosis and monitoring of liver pathologies (Dietrich et al., 2017; Feng et al., 2016; Sigrist et al., 2017). With sonoelastography techniques, the firmness of tissues which might indicate the presence of pathological tissues, can be evaluated (Ophir et al., 1999; Sigrist et al., 2017). There are four types of ultrasound-based elastography techniques available: strain elastography, transient elastography, point-shear wave elastography and two-dimensional shear wave elastography (2D SWE) (Ozturk et al., 2018). The last method is most frequently used as it enables to sample a large area, change the sampling area quickly under B-mode ultrasound observation, while displaying a color map of shear wave values over a B-mode image (Dietrich et al., 2017; Naganuma et al., 2020). In 2D SWE, the ultrasound transducer produces focused push pulses, which mechanically produce small perpendicular tissue movements (shear waves). The shear wave speed can be measured and quantitative information regarding tissue elasticity is thus obtained (Dietrich et al., 2017; Ophir et al., 1999; Ozturk et al., 2018). It is known from human medicine that elastography can be affected by various technical (ultrasound system, probe, scanning approach, etc.) and patient-related

factors (positioning, breathing, fasting, anesthesia) (Dietrich et al., 2017; Naganuma et al., 2020; Zelesco et al., 2018). Therefore, specific guidelines and recommendations by EFSUMB (European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology) have been implemented for performing elastography studies in human patients (Dietrich et al., 2017). In recent years, several veterinary studies have been published pertaining to liver elastography of both normal dogs (Cha et al., 2022; Holdsworth et al., 2014; Jeon et al., 2015; Jung et al., 2020; Kim et al., 2020; Tamura, Ohta, Nisa, et al., 2019; White et al., 2014) and dogs with various pathological hepatobiliary diseases (Facin et al., 2020; Feng et al., 2016; Huaijantug et al., 2020; Tamura et al., 2021; Tamura, Ohta, Shimbo, et al., 2019). However, many of these above-mentioned studies have been performed on a small number of purpose-bred research colony dogs, specific population groups (e.g. brachycephalic dogs) or single disease entity patients (e.g. dogs with extrahepatic biliary obstruction). The findings on sources of variability and inter- and intraobserver variability have been conflicting. Therefore, the aim of this study was to evaluate liver stiffness by 2D SWE in a larger cohort of healthy client-owned dogs without the use of anesthesia or breath-holding methods. Furthermore, intraobserver variability and the effect of patient characteristics (sex, age, body weight, body condition score) on the 2D SWE values was assessed.

MATERIALS AND METHODS

Animals

All procedures were approved by and conducted in accordance with the local ethical and deontological committee (EC 2020-009, 2020-061 and DWZ/KF/20/1.15/44). Clinically healthy client-owned dogs, not receiving any medication, were recruited. Inclusion criteria mandated normal physical examination, the absence of any abnormalities on hematology, serum biochemistry, B-mode abdominal ultrasound, and the presence of normal preprandial serum bile acids (SBA). Dogs were excluded in case any abnormality was found during any of the examinations or analysis. Maltese dogs and brachycephalic dogs were excluded as Maltese dogs and dogs with respiratory disease can

have increased serum bile acid concentrations without having liver disease (Bauer et al., 2006; Tisdall et al., 1995). Overweight and obesity were not a criterion for exclusion. Signalment, that consisted of sex, age, body weight and body condition score (BCS) on a nine-point scale was recorded at the time of recruitment.

Two-dimensional shear wave elastography examination of the liver

The recruited dogs were also part of a study assessing the influence of the type and quantity of food on the postprandial SBA concentrations. Therefore, all dogs underwent pre- and postprandial serum bile acid measurements and the recommended eight hours fasting prior to the ultrasonographic examination was not achieved. The food quantity administered was however small: two teaspoons of either recovery diet (RD), two teaspoons of a liver-supportive diet (LD), 10% RER RD, 10% RER LD, or 50% RER LD. Routine ultrasonography was performed on non-sedated dogs with an ultrasonography scanner (Philips EPIQ7) after clipping the subject's hair and applying coupling gel. At first, a conventional B-mode study was performed using either a linear probe (eL18-4) or a convex transducer (C8-5) after which the 2D SWE measurements were taken using Philips ElastQ Imaging (ElastQ, software version 3.0.3, Philips, Brussels, Belgium) and a linear (eL18-4) or convex (C5-1) probe. The measurements were taken in accordance with recommended guidelines for the clinical use of elastography in humans (Dietrich et al., 2017; Sigrist et al., 2017) and published results in dogs (Holdsworth et al., 2014; Jung et al., 2020; Tamura, Ohta, Nisa, et al., 2019). Using the visual control of the 2D B-mode image, an artifact-free image of the liver parenchyma was chosen for subsequent 2D SWE measurements, avoiding interfering structures such as blood vessels. The elastograms were displayed alongside the grey-scale image with a superimposing confidence map, which highlighted areas with optimal shear wave propagation. The confidence interval was placed at 50%, which set the areas of stiffness/velocity image with a confidence value less than 50% as transparent, thus the transparent areas were not measured. At least ten 2D SWE velocity measurements were performed at end-expiration phase to minimize the effect of breathing motion. One region of interest (ROI) per elastogram was assessed, which was set at 5-10 mm in diameter, and excluded regions that were not color-coded. The ROI was positioned in the parenchyma of the liver at least 10 mm deep to the liver capsule. In each ROI, shear wave velocities (SWVs) were generated by the ElastQ software (mean, median, maximum SWV and interquartile range). For the consistency of measurements, the interquartile range (IQR) ratio to median was set to be <30%. The IQR is the spread of 50% of the measurements around the median and

thus the IQR/median is an effective way to assess the quality of the range of measurements (Barr, 2014). On each dog two-dimensional SWE measurements were acquired by one ECVDI second-year resident (M.T.) on two separate days (maximum of six days between both 2D SWE studies). The sub-xiphoidal and/or left lateral recumbency intercostal approach was used for obtaining the 2D SWE measurements from the right liver lobes. The right liver lobes are used as per recommendations from human medicine to decrease the influence from cardiac motion to the velocity results (Dietrich et al., 2017; Sigrist et al., 2017; Zelesco et al., 2018). The decision on the intercostal or subxiphoidal approach was based on the best hepatic image accessibility with the differentiation between measurement approaches not recorded.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed with SAS (SAS V.9.4, SAS institute). The Shapiro-Wilk test was used to assess whether the response variables (average, median and maximum 2D SWE velocities) followed a normal distribution. A mixed model was fitted with animal as random effect, and probe, sex, age, weight and BCS as fixed effect factors; F-tests were used to assess the effect of the different variables. Probe, sex and weight were introduced as continuous variables and probe and sex as nominal categorical variables. BCS is an ordinal categorical variable, and its score was put in as a number to assess the linear relationship between BCS and the response variables. The intraobserver intraclass correlation coefficient (ICC) was calculated to assess the reproducibility of the assessment. The agreement results were defined as follows: poor < 0.5, moderate 0.5 to 0.75, good 0.75 to 0.9, and greater than 0.90 excellent (Koo and Li, 2016). Finally, a logistic regression model was fitted to assess whether particular dog characteristics had an effect on the choice of the probe type.

RESULTS

Study population

Dogs that fulfilled all prerequisites were enrolled until a total of forty dogs were included. This number was chosen in accordance with the ASVCP guidelines (Friedrichs et al., 2012) in order to be able to determine reference intervals for pre- and postprandial SBA. As it is not known from the literature which variability in elastography measurement is to be expected, all these dogs were also included for the 2D SWE procedure and study.

The causes for exclusion were mostly related to abnormalities on blood analysis (n=29). Two dogs had abnormalities on abdominal ultrasonography, two dogs refused to eat, and four dogs were uncoop-

erative. Eight intact females, 19 neutered females, 7 intact males and 6 neutered males and the following breeds were included: seven cross breed dogs, five Labrador retrievers, four Border collies, four golden retrievers, two Jack Russell terriers, two Nova Scotia Duck Tolling retrievers, two Shetland sheepdogs and one each of Australian shepherd dog, Dutch sheepdog, English Cocker spaniel, Great dane, husky, Kooikerhondje, Lagotto Romagnolo, Lakeland terrier, Miniature Australian shepherd dog, Miniature schnauzer, Pomeranian, Samoyed, Tamaskan dog, White Swiss shepherd dog. Age and body weight of the dogs were not normally distributed. The median age of the dogs was 48 months (range, 7-146 months). The median body weight of the dogs was 19.5 kg (range: 4.9-65.0 kg). The median body condition score was 5/9 (range 4-9), with the majority having a normal weight (BCS 4-5/9, n=29), six having a BCS of 6/9, four having a BCS of 7/9 and one dog with a BCS of 9/9.

Two-dimensional shear wave elastography measurements of the liver

A representative 2D SWE image of the right lobes of the liver using the linear and convex probe is seen on Figures 1 A and B.

The linear probe was used for 85% of the measurements (n=34) and the curvilinear probe for 22.5% of the measurements (n=9). In three dogs, the 2D SWE acquisition was performed with both probes separately.

Weight was a significant predictor ($P = 0.03$) for transducer type selection with a more frequent use of the curvilinear probe associated with a higher weight.

The mean 2D SWE velocities in the liver parenchyma according to the probe used are illustrated in Figure 2. The mean values for the average, median and maximum 2D SWE velocities for the linear probe were 2.50 +/- 0.067 m/s; 2.46 +/- 0.067 m/s; 3.58 +/- 0.13 m/s, respectively, and for the convex probe 0.99

+/- 0.11 m/s; 0.98 +/- 0.12 m/s and 1.34 +/- 0.21 m/s, respectively (Table 1).

The ICC for intraobserver variability for the average (AvgVel), median (MedVel) and maximum (MaxVel) 2D SWVs was 0.69, 0.71 and 0.74, respectively.

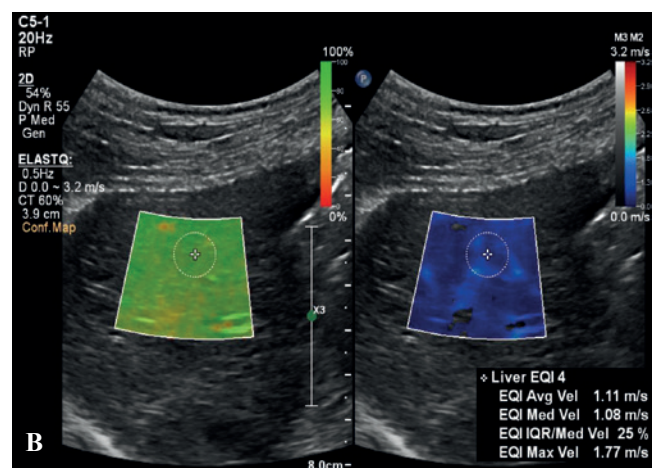
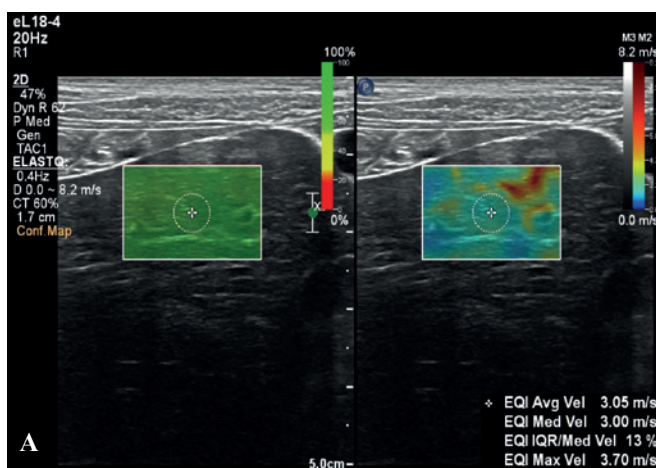
The categorical variable sex did not have an effect on the average, median and maximum 2D SWVs (Table 2), nor did the variables age, weight and BCS (Table 3).

DISCUSSION

The appeal to use the non-invasive 2D SWE technique in veterinary medicine is clear; but similarly to human medicine, the impact of technical and patient-related confounders have been conflicting (Cha et al., 2022; Facin et al., 2020; Holdsworth et al., 2014; Jung et al., 2020; K. Kim et al., 2020; Tamura, Ohta, Nisa, et al., 2019; Tamura, Ohta, Shimbo, et al., 2019) regarding approach (intercostal versus subxiphoidal), depth of ROI placement, breathing phase versus sedation/anesthesia, sex and body weight. Therefore, the aim of this study was to perform 2D SWE measurements under common clinical situations and circumstances in a population of healthy dogs consisting of different dog breeds.

Good quality elastography images could be obtained in all dogs without anesthesia or breath-holding due to the rapid measurement process and real-time evaluation of the B-mode image in conjunction with the confidence map with the IQR/median ratio not exceeding 0.3. All 2D SWE systems have built-in indicators of the quality of the shear-wave speed estimate and take appropriate action to adjust the display when the quality falls too low, which typically occurs as the signal-to-noise ratio deteriorates with depth (Dietrich et al., 2017).

The ICC for intraobserver variability in the present study was moderate (0.69-0.74). Based on the 95%



Figures 1 A and B. Representative 2D SWE images of the right lobes of the liver for a speed mode in a dog using the linear (eL18-4) and convex (C5-1) probes. The green confidence map and the elastogram image are displayed concurrently over the B-mode image.

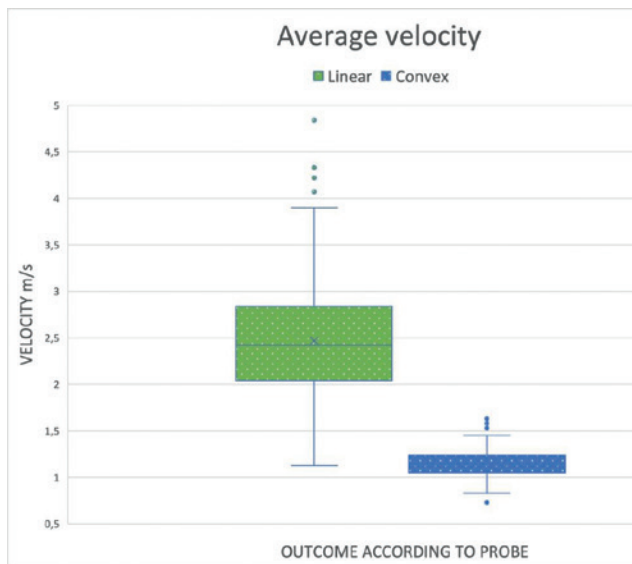


Figure 2. Box and Whiskers plot for average two-dimensional shear wave velocities in healthy dog livers according to probe.

confident interval of the ICC estimate, values less than 0.5, between 0.5 and 0.75, between 0.75 and 0.9, and greater than 0.90 are indicative of poor, moderate, good, and excellent reliability, respectively (Koo and Li, 2016). Previous studies pertaining to liver stiffness measurements in dogs and cats have shown better agreement (Jung et al., 2020; Kim et al., 2020; Tamura, Ohta, Nisa, et al., 2019). For example, in the study by Jung et al. (2020), the ICC for the liver in healthy beagle dogs was excellent: 0.864–0.948. It could be argued that the poorer ICC in the present study could be attributed to the fact that both intercostal and sub-xiphoidal approaches were used interchangeably, no breath-holding method was applied, and a variety of dog breeds were included. In humans, excessive panting, for example due to stress, is known to cause less saturated 2D SWE boxes (shear wave propagation map or wavefront map), resulting in inaccurate estimation of liver stiffness (Naganuma et al., 2020; Pelot-Barakat et al., 2016; Zelesco et al., 2018). However, in pediatric medicine, which in many technical

aspects is similar to the small animal scenario, it has been shown that mean elasticity values do not reveal any significant difference between free breathing and breath-holding (Dietrich et al., 2018, 2019). Nevertheless, the moderate agreement in the current study indicates that without firm measurement guidelines to decrease result variability, the potential implementation of this method in clinical practice will not give sufficient advantages over more invasive diagnostic methods.

The mean liver 2D SWE velocities in this study differ according to the probe used with the measurements obtained with the convex probe showing lower velocity values. The convex probe was more frequently used in heavier patients to obtain reliable measurements, as maximum possible tissue depth of the linear probe is inferior to the convex probe. The logistic regression model showed that weight was a significant predictor ($P=0.03$) for probe selection and increase in weight made it more likely to choose a curvilinear probe. In human studies, the data regarding the different values obtained with the linear versus the convex transducer are conflicting. In a study by Zelesco et al. (2018), a higher frequency linear transducer (10 MHz) in comparison to lower frequency convex transducer (5 MHz) produced considerably higher SWVs for the liver (15.3 kPa versus 5.8 kPa, respectively). In a study using phantoms and normal liver tissue, Chung et al. (2013) demonstrated that SWVs with a lower frequency probe had a tendency to be higher at the same depth when compared to the linear probe (Chang et al., 2013). Also, in pediatric medicine, conflicting results have been reported. Hanquinet et al. (2013) demonstrated similar mean SWVs between probes; however, in that study, the choice of the transducer was based on the age of the child and no child was examined with both probes. Contrarily, Fontanilla et al. (2014) and Franchi-Abella et al. (2016) showed that the SWV means tended to be lower with the higher frequency linear transducer when compared to the convex low frequency probe. The mean liver 2D SWE velocities in the present study ranged from 2.46–3.58 m/s (linear transducer) and 0.98–1.34 m/s (convex transducer). The measurements obtained with the linear transducer

Table 1. Mean (+/- standard error) of the two-dimensional shear wave velocities (2D SWV) of healthy dog livers using the linear (eL18-4) or convex (C8-5) transducer.

2D SWV	Average (m/s)	Median (m/s)	Maximum (m/s)
Linear probe (n=33)	2.50 +/- 0.07	2.46 +/- 0.07	3.57 +/- 0.13
Convex probe (n=8)	0.99 +/- 0.12	0.98 +/- 0.12	1.34 +/- 0.22
P-value	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

Table 2. Mean (+/- standard error) of the two-dimensional shear wave velocities (2D SWV) of healthy dog livers according to gender.

2D SWV	Average (m/s)	Median (m/s)	Maximum (m/s)
Female intact (n=8)	1.78 +/- 0.14	1.75 +/- 0.14	2.58 +/- 0.26
Female neutered (n=19)	1.78 +/- 0.09	1.75 +/- 0.09	2.64 +/- 0.17
Male intact (n=7)	1.71 +/-0.15	1.69 +/- 0.15	2.30 +/- 0.28
Male castrated (n=6)	1.71 +/-0.15	1.69 +/-0.15	2.31 +/-0.29
P-value	0.96	0.97	0.60

Table 3. The change in the two-dimensional shear wave velocities (2D SWV) for every unit increase in age, body condition score (BCS) and body weight (slope +/- standard error).

2D SWV	Effect	Slope	P-value
AvgVel	Age (months)	-0.00044 (+/-0.0018)	0.81
	BCS (scale 1-9)	0.002660 (+/-0.058)	0.96
	Weight (kg)	0.002493 (+/-0.0054)	0.65
MedVel	Age (months)	-0.00040 (+/-0.0018)	0.83
	BCS (scale 1-9)	-0.00032 (+/-0.0585)	0.99
	Weight (kg)	0.002185 (+/-0.0054)	0.69
MaxVel	Age (months)	-0.00192 (+/-0.0034)	0.58
	BCS (scale 1-9)	0.05128 (+/-0.1104)	0.64
	Weight (kg)	0.005963 (+/- 0.0102)	0.56

differ considerably from the results obtained in studies by Holdsworth et al. (1.18-1.88 m/s), Jung et al. (1.60-1.69 m/s) and Tamura et al. (1.51± 0.08 m/s) on healthy dogs' livers (Holdsworth et al., 2014; Jung et al., 2020; Tamura, Ohta, Nisa, et al., 2019). In the first two studies, a linear probe was used, whereas in the last one, a curvilinear probe was used for SWV measurement acquisition. The present study design did not include acquisition of 2D SWV measurements using both probes on all the enrolled dogs. Although the linear probe could not have been used in all the dogs due to their weight and BCS, measurements with convex probe would have been feasible in all recruited dogs. In retrospect, this would have been interesting data to record and compare. It is known that comparison of data between the different SWE technologies from different manufacturers should not be done, as measured values of shear wave velocity will vary with a number of system factors, in particular shear wave vibration frequency and bandwidth (Dietrich et al., 2017; Ozturk et al., 2018; Sigrist et al., 2017). Other

known causes of measurement variability between ultrasound systems are the depth, shape, strength and irradiation time of the push pulse and the shape and size of the ROI (Kishimoto et al., 2022). Nevertheless, manufacturers do not completely disclose the processing algorithms and scanner sequencing used in their devices, which is considered an underlying factor of the problem; therefore, standardization among systems is required (Kishimoto et al., 2022).

In the current study, an (P=0.65) effect of body weight on SWE velocity measurements could not be demonstrated. This is contrary to Holdsworth's et al. (2014) findings who demonstrated a statistically significant positive effect for body weight, with the shear wave velocity value increasing by 0.03 m/s for every kg increase in body weight. The latter study is the only one so far that also included different dog breeds and sizes. However, due to their low sample size (n=15), their correlation observed with weight can be due to type I error or natural variation between individuals. The study populations in other veterinary

studies by Tamura et al. (2019) and Jung et al. (2020) included purpose-bred beagle dogs only, hence no proper association with body weight could be drawn. In human medicine, both obesity and undernutrition (increased or decreased body mass index) have shown to cause increased liver stiffness values (Dietrich et al., 2019; Ferraioli et al., 2015). Additionally, morbid obesity is also known to contribute to the likelihood of increased data variability (Dietrich et al., 2017, 2019; Ferraioli et al., 2015). The present study also assessed the effect of BCS on SWV results, which, to the authors' knowledge, has not been documented in other veterinary studies thus far. Although a positive trend was identified, with the 2D SWV value increasing by 0.0026-0.051 m/s for every unit increase in the BCS scale system, this was not statistically significant ($P=0.96$). An additional parameter, not assessed in the present study, that can influence the 2D SWE velocities is the depth of the ROI placement. In all the cases in the current study, the ROI was placed, as per recommendations, at least 10 mm below the hepatic capsule in order to avoid reverberation artefacts and increased subcapsular stiffness (Dietrich et al., 2017; Ferraioli et al., 2015; Zelesco et al., 2018). However, the maximum depth of ROI placement could have varied to some degree. Nevertheless, as per recommendations in human hepatic medicine, the optimal depth of 4-5 cm from the transducer and never deeper than 6-7 cm was followed (Dietrich et al., 2017). There is, however, no clear recommendation in dogs regarding the preferred depths of measurement in the liver. In a study by Holdsworth et al. (2014), it was shown that considering the median and IQR values of the liver, the SWE velocity value decreased as depth increased (Holdsworth et al., 2014), whereas Jung et al. (2020) showed that SWV of the liver tended to be higher with an increasing depth (Jung et al., 2020). This is similar to pediatric studies, where the depth of measurements has shown contradictory influence (Dietrich et al., 2018).

Aging has been shown to enhance vulnerability to acute liver injury and increase susceptibility to the fibrotic response in human medicine in cases of clinical liver disease (Kim et al., 2015). In the current study, a statistically significant ($P=0.81$) effect of age on the SWV values could not be demonstrated, which is consistent with findings in human medicine regarding the healthy adult population (Huang et al., 2014; Mulabecirovic et al., 2018). However, in pediatric medicine, the results are contradictory with one study reporting statistically significant difference of SWV values obtained in children <6 years compared to those obtained in older children, while other studies showed no effect (Dietrich et al., 2017; Hanquinet et al., 2013; Matos et al., 2014). Veterinary studies of liver elastography in a population of healthy puppies is lacking and would be an interesting area of research.

Holdsworth et al. (2014) studied 15 dogs (10 females and 5 males) and demonstrated a significant

effect ($P<0.01$) of gender on the liver stiffness measurements, with females showing lower values than males. The results of the present study could not identify any statistically significant effect of sex on the SWV ($P=0.39$). Other canine studies (Cha et al., 2022; Jung et al., 2020; Tamura, Ohta, Nisa, et al., 2019) also failed to find an association with gender. However, the number of dogs in Holdsworth's et al. study (2014) was small, and the difference could have resulted from the small sample size leading to type I error or natural variation between individuals. Interestingly, in humans, the influence of gender on SWV has been documented in multiple studies (Dietrich et al., 2017; Corpechot et al., 2006; Roulot et al., 2008), suggesting an intrinsic difference between men and women in density of liver extracellular matrix and a possible protective effect of ovarian hormones against the accumulation of extracellular matrix and fibrosis in the liver (Roulot et al., 2008; Yasuda et al., 1999). The situation is somewhat different in veterinary companion animal medicine, where many animals are electively neutered, rendering the hormonal influence on liver stiffness values unsubstantial. In the present study population, from the forty dogs examined, only 15 dogs (8 female, 7 male) were intact and no statistically significant effect of the neuter status on liver stiffness observations was present.

This study has some limitations. First, as the patients in the current study underwent pre- and postprandial bile acid testing, the recommended fasting prior to the ultrasound procedure was not achieved. In human studies, SWE velocity readings are increased for an estimated 120-180 minutes after eating due to increased liver blood flow following food intake (Dietrich et al., 2017; Zelesco et al., 2018). Unfortunately, the authors did not record the exact time when the patients underwent the ultrasound examination compared to eating time. While some of the patients underwent SWE immediately post eating, others had the procedure after the second blood example (that is >2 hours after the meal). The impact of food and influence of time after eating on hepatic elastography results has not been studied in dogs, but a similar physiological influence would be expected. Secondly, only a small number of dogs ($n=9$) had the SWVs acquired with the convex probe, which may have decreased statistical power and may have led to type II error. Thirdly, healthy hepatic tissue was not confirmed with cytological or histological examination but presumed by physical examination, blood tests and ultrasonography, as liver sampling is invasive and was not considered justifiable in a healthy population of client-owned dogs. Although all important blood parameters to rule out liver disease were determined, bilirubin was not analyzed. Nevertheless, as none of the dogs presented with icterus, increased liver enzymes and increased preprandial SBA, it is unlikely that hyperbilirubinemia was present in any of the dogs (Webster et al., 2019).

CONCLUSION

Two-dimensional SWE is a feasible method to apply on a diverse population of client-owned, healthy, non-anesthetized dogs; however, large discrepancies between measurements obtained with linear versus convex probes and only moderate ICC underline the importance of standardization of technical and patient-related factors to obtain more comparable results between individual dogs, and reliably implement this non-invasive diagnostic method into clinical practice.

REFERENCES

- Barr, R. G. (2014). Elastography in clinical practice. *Radiologic Clinics of North America* 52(6), 1145–1162.
- Bauer, N. B., Schneider, M. A., Neiger, R., Moritz, A. (2006). Liver disease in dogs with tracheal collapse. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20(4), 845–849.
- Bedossa, P., Dargère, D., Paradis, V. (2003). Sampling Variability of Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 38(6), 1449–1457.
- Cha, J., Kim, J., Ko, J., Kim, J., Eom, K. (2022). Effects of confounding factors on liver stiffness in two-dimensional shear wave elastography in Beagle dogs. *Frontiers in Veterinary Science* 9, 1–10.
- Chang, S., Kim, M. J., Kim, J., Lee, M. J. (2013). Variability of shear wave velocity using different frequencies in acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography: A phantom and normal liver study. *Ultraschall in Der Medizin* 34(3), 260–265.
- Cole, T. L., Center, S. A., Flood, S. N., Rowland, P. H., Valentine, B. A., Warner, K. L., Erb, H. N. (2002). Diagnostic comparison of needle and wedge biopsy specimens of the liver in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220(10), 1483–1490.
- Corpechot, C., Naggar, A.E. and Poupon, R. (2006). Gender and liver: Is the liver stiffness weaker in weaker sex? *Hepatology* 44(2), 513–514.
- Dietrich, C. F., Bamber, J., Berzigotti, A., Bota, S., Cantisani, V., Castera, L., Cosgrove, D., Ferraioli, G., Friedrich-Rust, M., Gilja, O. H., Goertz, R. S., Karlas, T., de Knegt, R., de Ledingham, V., Piscaglia, F., Procopet, B., Saftoiu, A., Sidhu, P. S., Sporea, I., Thiele, M. (2017). EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version). *Ultraschall in der Medizin* 38(4), 16–47.
- Dietrich, C. F., Ferraioli, G., Sirlì, R., Popescu, A., Sporea, I., Pienar, C., Kunze, C., Taut, H., Schradling, S., Bota, S., Schreiber-Dietrich, D., Fang, C., Dong, Y. (2019). General advice in ultrasound based elastography of pediatric patients. *Medical Ultrasonography*, 21(3), 316–326.
- Dietrich, C. F., Sirlì, R., Ferraioli, G., Popescu, A., Sporea, I., Pienar, C., Kunze, C., Taut, H., Schradling, S., Bota, S., Schreiber-Dietrich, D., Yi, D. (2018). Current knowledge in ultrasound-based liver elastography of pediatric patients. *Applied Sciences (Switzerland)* 8(6), 1–19.
- Facin, A. C., Usategui, R. A. R., Maronezi, M. C., Pavan, L., Menezes, M. P., Montanhim, G. L., Camacho, A. A., Feliciano, M. A. R., Moraes, P. C. (2020). Liver and spleen elastography of dogs affected by brachycephalic obstructive airway syndrome and its correlation with clinical biomarkers. *Scientific Reports* 10(1), 1–10.
- Feeney, D. A., Anderson, K. L., Ziegler, L. E., Jessen, C. R., Daubs, B. M., Hardy, R. M. (2008). *Statistical relevance of ultrasonographic criteria in the assessment of diffuse liver disease in dogs and cats. American Journal of Veterinary Research*, 69 (2), 212–219.
- Feng, Y. H., Hu, X. D., Zhai, L., Liu, J. bin, Qiu, L. Y., Zu, Y., Liang, S., Gui, Y., Qian, L. X. (2016). Shear wave elastography results correlate with liver fibrosis histology and liver function reserve. *World Journal of Gastroenterology* 22(17), 4338–4344.
- Ferraioli, G., Filice, C., Castera, L., Choi, B. I., Sporea, I., Wilson, S. R., Cosgrove, D., Dietrich, C. F., Amy, D., Bamber, J. C., Barr, R., Chou, Y. H., Ding, H., Farrokh, A., Friedrich-Rust, M., Hall, T. J., Nakashima, K., Nightingale, K. R., Palmeri, M. L., Kudo, M. (2015). WFUMB guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography. *Ultrasound in Medicine and Biology* 41(5), 1161–1179.
- Friedrichs, K. R., Harr, K. E., Freeman, K. P., Szladovits, B., Walton, R. M., Barnhart, K. F., Blanco-Chavez, J. (2012). ASVCP reference interval guidelines: Determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology* 41(4), 441–453.
- Hanquinet, S., Courvoisier, D., Kanavaki, A., Dhouib, A., Anoosiravani, M. (2013). Acoustic radiation force impulse imaging - Normal values of liver stiffness in healthy children. *Pediatric Radiology* 43(5), 539–544.
- Holdsworth, A., Bradley, K., Birch, S., Browne, W. J., Barberet, V. (2014). Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 55(6), 620–627.
- Huaijantug, S., Yatmark, P., Phophug, P., Worapakdee, M., Phutrakul, A., Julapanthong, P., Chuaychoo, K. (2020). Quantitative ultrasound elastography and serum ferritin level in dogs with liver tumors. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 7(4), 575–584.
- Huang, Z., Zheng, J., Zeng, J., Wang, X., Wu, T., Zheng, R. (2014). Normal liver stiffness in healthy adults assessed by real-time shear wave elastography and factors that influence this method. *Ultrasound in Medicine and Biology* 40(11), 2549–2555.
- Jeon, S., Lee, G., Lee, S. K., Kim, H., Yu, D., Choi, J. (2015). Ultrasonographic elastography of the liver, spleen, kidneys, and prostate in clinically normal beagle dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 56(4), 425–431.
- Jung, J. W., Je, H., Lee, S. K., Jang, Y., Choi, J. (2020). Two-dimensional shear wave elastography of normal soft tissue organs in adult Beagle dogs; interobserver agreement and sources of variability. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 1–15.
- Kemp, S. D., Zimmerman, K. L., Panciera, D. L., Monroe, W. E., Leib, M. S. (2015). Histopathologic variation between liver lobes in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29(1), 58–62.
- Kim, I. H., Kisseleva, T., Brenner, D. A. (2015). Aging and liver disease. *Current Opinion in Gastroenterology* 31(3), 184–191.
- Kim, K., Lee, J., So, J., Jang, Y. S., Jung, M., Kang, K., Choi, M., Yoon, J. (2020). Feasibility and reliability of two-dimensional shear-wave elastography of the liver of clinically healthy cats. *Frontiers in Veterinary Science* 7,

- 1–9.
- Kishimoto, R., Suga, M., Usumura, M., Iijima, H., Yoshida, M., Hachiya, H., Shiina, T., Yamakawa, M., Konno, K., Obata, T., Yamaguchi, T. (2022). Shear wave speed measurement bias in a viscoelastic phantom across six ultrasound elastography systems: a comparative study with transient elastography and magnetic resonance elastography. *Journal of Medical Ultrasonics* 49(2), 143–152.
- Koo, T. K., Li, M. Y. (2016). A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. *Journal of Chiropractic Medicine* 15(2), 155–163.
- Lidbury, J. A. (2017). Getting the most out of liver biopsy. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* 47(3), 569–583.
- Marolf, A. J. (2017). Diagnostic imaging of the hepatobiliary system: an update. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 47(3), 555–568.
- Matos, H., Trindade, A., Noruegas, M. J. (2014). Acoustic radiation force impulse imaging in paediatric patients: Normal liver values. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 59(6), 684–688.
- Mulabecirovic, A., Mjelle, A. B., Gilja, O. H., Vesterhus, M., Havre, R. F. (2018). Liver elasticity in healthy individuals by two novel shear-wave elastography systems- Comparison by age, gender, BMI and number of measurements. *PLoS ONE*, 13(9), 1–18.
- Naganuma, H., Ishida, H., Uno, A., Nagai, H., Kuroda, H., Ogawa, M. (2020). Diagnostic problems in two-dimensional shear wave elastography of the liver. *World Journal of Radiology* 12(5), 76–86.
- Ophir, J., Alam, S. K., Garra, B., Kallel, F., Konofagou, E., Krouskop, T., Varghese, T. (1999). Elastography: Ultrasonic estimation and imaging of the elastic properties of tissues. In: *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* 213(3), 203–233.
- Ozturk, A., Grajo, R. J., Dhyani, M., Anthony, W. B., Samir, E. A. (2018). Principles of ultrasound elastography. *Abdominal Radiology (NY)* 43(4), 773–785.
- Park, S., Choi, J., Kim, K., Oh, D., Yoon, J., Choi, M. (2021). Point shear wave elastography of the liver in healthy adult cats. *American Journal of Veterinary Research* 82(4), 286–291.
- Pellot-Barakat, C., Chami, L., Correas, J. M., Lefort, M., Lucidarme, O. (2016). Does motion affect liver stiffness estimates in shear wave elastography? Phantom and clinical study. *European Journal of Radiology* 85(9), 1645–1650.
- Roulot, D., Czernichow, S., le Clésiau, H., Costes, J. L., Vergnaud, A. C., Beaugrand, M. (2008). Liver stiffness values in apparently healthy subjects: Influence of gender and metabolic syndrome. *Journal of Hepatology* 48(4), 606–613.
- Sigrist, R. M. S., Liau, J., Kaffas, A. el, Chammas, M. C., Willmann, J. K. (2017). Ultrasound elastography: Review of techniques and clinical applications. *Theranostics* 7(5), 1303–1329.
- Tamura, M., Ohta, H., Nisa, K., Osuga, T., Sasaki, N., Morishita, K., Takiguchi, M. (2019). Evaluation of liver and spleen stiffness of healthy dogs by use of two-dimensional shear wave elastography. *American Journal of Veterinary Research* 80(4), 378–384.
- Tamura, M., Ohta, H., Osuga, T., Sasaki, N., Morishita, K., Takiguchi, M. (2021). Extrahepatic biliary obstruction can interfere with hepatic fibrosis prediction using two-dimensional shear wave elastography in dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 62(4), 483–489.
- Tamura, M., Ohta, H., Shimbo, G., Osuga, T., Sasaki, N., Morishita, K., Kagawa, Y., Takiguchi, M. (2019). Usefulness of noninvasive shear wave elastography for the assessment of hepatic fibrosis in dogs with hepatic disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(5), 2067–2074.
- Tisdall, P., Hunt, G., Tsoukalas, G., Malik, R. (1995). Postprandial serum bile acid concentrations and ammonia tolerance in Maltese dogs with and without hepatic vascular anomalies. *Australian Veterinary Journal* 72(4), 121–126.
- Webster, C. R. L., Center, S. A., Cullen, J. M., Penninck, D. G., Richter, K. P., Twedt, D. C., Watson, P. J. (2019). ACVIM consensus statement on the diagnosis and treatment of chronic hepatitis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(3), 1173–1200.
- White, J., Gay, J., Farnsworth, R., Mickas, M., Kim, K., Mattoon, J. (2014). Ultrasound elastography of the liver, spleen, and kidneys in clinically normal cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 55(4), 428–434.
- Yasuda, M., Shimizu, I., Shiba, M., Ito, S. (1999). Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology* 29(3), 719–727.
- Zelesco, M., Abbott, S., O'Hara, S. (2018). Pitfalls and sources of variability in two dimensional shear wave elastography of the liver: An overview. *Sonography* 5(1), 20–28.



Cushing's syndrome in Flanders and the Netherlands: an owner survey

*Syndroom van Cushing bij honden in België en Nederland:
een enquête bij de eigenaars*

G. Schils, M. Hogendoorn, L. Stammeleer, S. Daminet

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

Gaëlle.schils@gmail.com

ABSTRACT

Cushing's syndrome is a common chronic condition, with daily impact on the owner's and dog's life. The owners' perception and quality of life are essential, as any negative impact could lead to cessation of medical care or decision of euthanasia. The present survey aimed at collecting the perception of Flemish and Dutch owners of dogs affected by Cushing's syndrome on medical, practical, financial and emotional aspects. In total, the questionnaires of 218 respondents were available for analysis, highlighting owners' expectations, quality of life, understanding of the disease and encountered difficulties, and identifying weak and strong points regarding owner-veterinary interactions, together with providing several demographic data related to canine Cushing's syndrome in Flanders and the Netherlands.

SAMENVATTING

Het syndroom van Cushing is een veelvoorkomende chronische aandoening, met een dagelijkse impact op het leven van de eigenaar en de hond. De perceptie van de eigenaren en de kwaliteit van leven zijn essentieel, aangezien elke negatieve impact kan leiden tot stopzetting van medische zorg of de beslissing tot euthanasie. Het voorliggende onderzoek was gericht op het verzamelen van de perceptie van Vlaamse en Nederlandse eigenaren van honden met het syndroom van Cushing over de medische, praktische, financiële en emotionele aspecten van de aandoening. In totaal waren 218 vragenlijsten beschikbaar voor analyse, waarbij de verwachtingen van eigenaren, kwaliteit van leven, begrip van de ziekte en ervaren moeilijkheden werden benadrukt. Tevens werden zwakke en sterke punten geïdentificeerd met betrekking tot de interactie tussen eigenaar en dierenarts. Tot slot werden verschillende demografische gegevens over honden met het Cushingsyndroom in Vlaanderen en in Nederland verzameld.

INTRODUCTION

Hypercortisolism (HC) is a relatively common endocrine disorder in older dogs, with a prevalence of 0.20-0.28% in dogs attending primary-care veterinary practices (O'Neill et al., 2016; Carotenuto et al., 2019). Dogs often exhibit chronic clinical signs. Diagnosis, treatment and monitoring of Cushing's syndrome can be challenging. Moreover, medical therapy is required lifelong and treatment is expensive. All

these factors impact an owner's daily life on different levels (financial, practical and emotional). Recently, a health-related quality-of-life tool for dogs with Cushing's syndrome has been developed, based on answers provided by dog's owners. In the study performed to elaborate that tool, the authors considered the financial and emotional strain of Cushing's syndrome to the owner. Indeed, a negative impact of disease and/or therapy on the owner could lead to cessation of treatment or euthanasia (Schofield et al., 2019). The

aim of the present survey was to collect the opinion of owners of dogs suffering from HC in Flanders and the Netherlands about their perception and understanding of Cushing's syndrome, from the diagnosis until the treatment, focusing on the impact on their own daily life, and the relationship with their veterinarian.

MATERIAL AND METHODS

In May 2021, owners of dogs with HC living in Flanders and the Netherlands were contacted. A message was posted on social media groups related to canine Cushing's syndrome. People owning, or who had recently owned, a dog with HC, were asked to answer an online questionnaire. The questionnaire was uploaded to an online survey tool (SurveyMonkey, San Mateo, California). The questionnaire was available only in Dutch, and counted 45 questions (38 multiple choice and seven open questions), divided in six categories: general information, dog and owner characteristics, diagnosis, treatment and veterinarian-related information. The estimated time to complete the survey was ten minutes. The questionnaire was available during ten days. If the diagnosis of Cushing's syndrome was not made by a veterinarian, the results of the questionnaire were excluded.

RESULTS

In total, 228 questionnaires were completed (180/228 from the Netherlands, 48/228 from Flanders). Ten questionnaires were excluded. In 9/10, the diagnosis of Cushing's syndrome was not confirmed by a veterinarian and one questionnaire was filled-out by the owner of a cat with Cushing's syndrome.

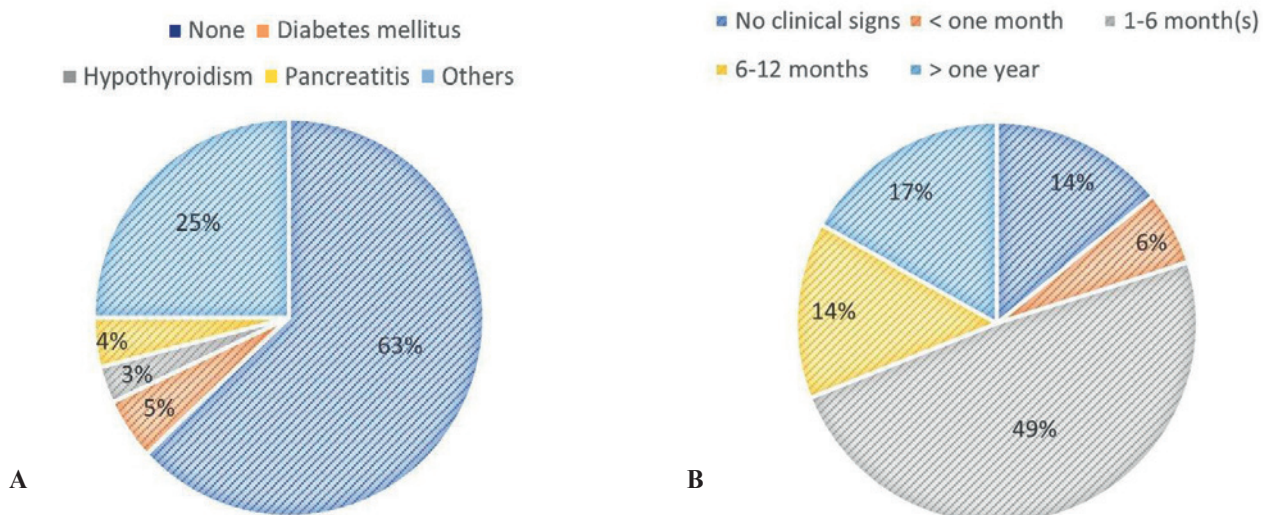
Of the 218 included questionnaires, 135 were from owners of dogs alive at the moment of the survey. The

median age of these dogs was eleven years (range: 4-18 years). The median age of all dogs at the moment of the diagnosis was nine years (range: 2-17 years). Thirty-seven percent of the dogs (81/218) had at least one comorbidity and, for most cases (107/218, 49%), clinical signs related to HC had been present for one to six month(s) before diagnosis (Figures 1A and B).

In 96/218 (44%) cases, the owners suspected Cushing's syndrome themselves. Seventy-seven percent of the dogs (169/218) had a general blood test, and 185/218 (85%) urinalysis, performed during work-up, while 196/218 (90%) underwent more specific tests for HC. Screening tests for HC were realized in 190/218 (87%) cases. The urine cortisol:creatinine ratio (UCCR) was the most commonly used screening test, followed by the ACTH-stimulation test and the low-dose dexamethasone suppression test (LDDST) (Figure 2). Imaging was performed in a total of 115/218 (53%) dogs, before or after (up to two years later) diagnosis. Seventy-four percent (85/115 dogs) underwent abdominal ultrasound, 39/115 (34%) CT scan or MRI.

To most owners 179/218, (82%), the differentiation of Cushing's syndrome in their pet was clear: 137/179 (77%) pituitary-dependent hypercortisolism (PDH), 30/179 (17%) adrenal-dependent hypercortisolism (ADH), 10/179 (6%) both pituitary- and adrenal-dependent hypercortisolism and 2/179 (1%) iatrogenic Cushing's syndrome.

In 121/218 (55%) cases, the primary veterinarian was the only person involved in the diagnosis, treatment and follow-up, but 70/218 (32%) owners consulted several veterinary practices before reaching the diagnosis, and 81/218 (37%) took a second opinion after diagnosis. For 57/81 (70%) respondents, the second opinion included a consultation with a specialist in internal medicine. In total, a specialist was consulted at least one time by 65/218 (30%) participants. The dog's usual, primary veterinarian was not consulted at all in eight cases.



Figures 1A and B. Prevalence of comorbidities and duration of clinical signs related to HC before diagnosis, n=218 dogs.

Most owners (152/218, 70%) found the explanation of their veterinarian about the disease at the moment of diagnosis satisfying but 29/218 (13%) evaluated the quality of the information given as insufficient. These data, together with the satisfaction levels regarding the explanation of the veterinarian about the different modalities of treatment, can be found in Figure 3.

The dogs had been treated for a broad variety of time (less than one month to more than one year) at the moment of the survey, or before they died. Most dogs in both groups had been treated for more than one year (72/135, (53%) in the alive group, 43/83 (52%) in the deceased group). Three percent of the dogs (4/135) in the alive group and 7/83 (8%) in the deceased group did not receive medication. The majority of dogs 191/218, (88%) were treated with trilostane (Vetoryl®, Dechra Limited, North Yorkshire, UK), at one of the following frequencies: 2/191 (1%) once every other day, 83/191 (43%) once a day, 102/191 (53%) two times a day and 14/191 (7%) three times a day. Eight percent of the owners (18/218) mentioned using alternative therapy (holistic, homeopathic, energetic, natural products or Chinese herbs), alone (n=7) or in combination with classical treatment (n=11). Only 9/218 (4%; 2% adrenalectomy and 2% hypophysectomy) dogs were treated surgically. More than half (123/209, 59%) of the owners noticed clinical improvement with treatment, 60/209 (29%) judged the evolution as being highly variable and fluctuating, while 26/209 (12%) did not see any changes with therapy. Trilostane was mainly bought at the local veterinary practice (152/208 responses). Other provided answers were: at the pharmacy (31/208, 15%), online/second-hand/abroad (Italy, Spain and United Kingdom before Brexit) (25/208, 12%), by another veterinarian (42/208, 20%). As Vetoryl is only available at few different dosages, it was sometimes (n=11) reformulated into a more convenient dosage by the pharmacy. Three respondents opened and divided the capsules themselves.

The care of a dog with Cushing’s syndrome was evaluated as costly by 120/218 (55%) of respondents, while costs were acceptable for 55/218 (25%) and not a problem at all for 43/218 (20%). Only 25/218 (11%) dogs were insured, and a major part of the costs was covered by the insurance in 19 of these 25 dogs (76%). The median extra time per day that owners had to put into the care of their dog was 30 minutes (range; 1-300 minute(s)). The administration of the medication was difficult in 14/209 (7%), average in 28/209 (13%) and easy in 167/209 (80%) medically treated dogs. Only 7/209 (3%) owners found the reorganization of their daily routine difficult, while 173/209 (83%) evaluated it as easy. The global care needed for a dog suffering from HC was underestimated and overestimated by 52/201 (26%) and 4/201 (2%) participants, respectively.

To improve their knowledge of the disease,

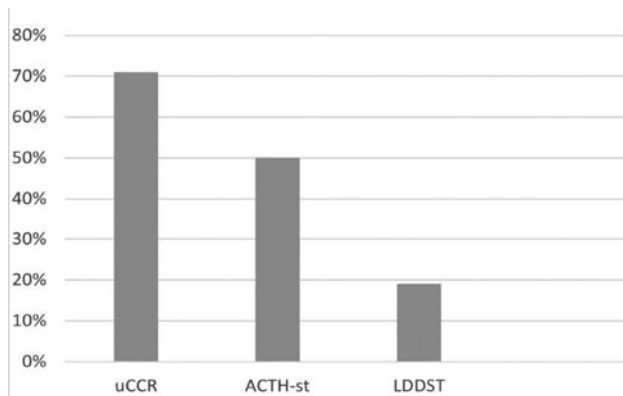


Figure 2. Percentages of the different screening tests performed in a total of 190 dogs.

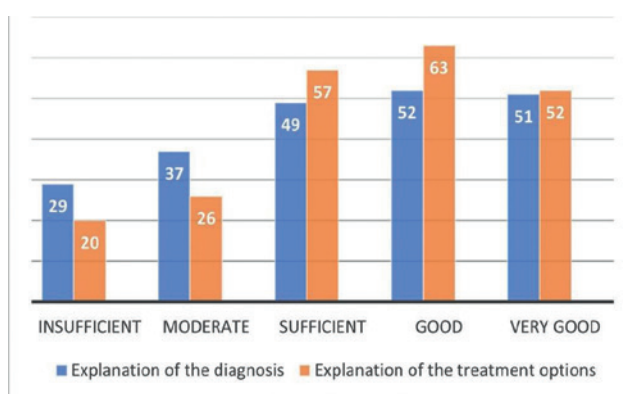


Figure 3. Levels of satisfaction regarding communication with the veterinarian, n=218.

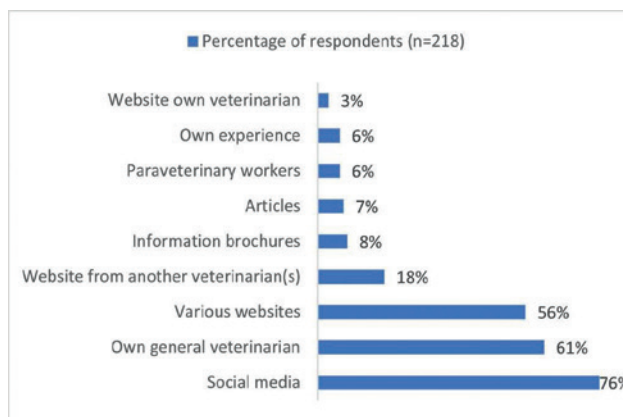
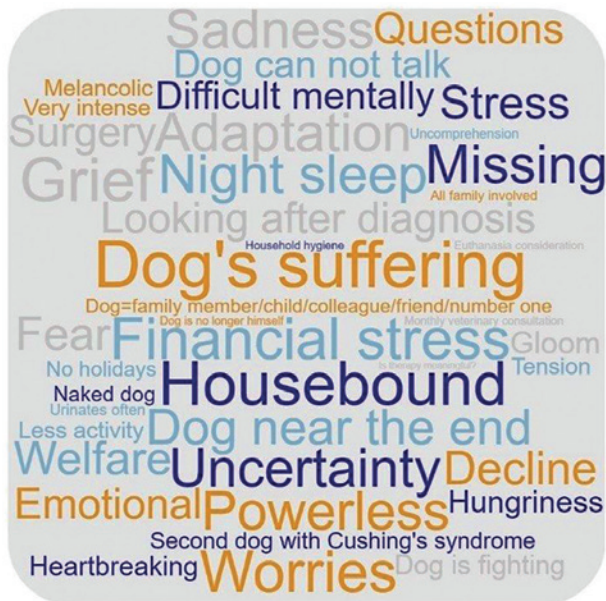


Figure 4. Sources of information about canine Cushing’s syndrome, n=218.

164/218 (75%) respondents spent more than five hours (on top of the veterinary consultations) looking for information. The different sources of information are illustrated in Figure 4. Nevertheless, 81/218 (37%) owners felt like they still did not know enough about their pet’s disease.

The pet-owner relationship did not change after the dog’s diagnosis for 142 (65%), improved for 65 (30%) and deteriorated for 11/218 (5%) respondents. Most participants (185/218, 85%) could assess the



Figures 5 and 6. Keywords related to respectively, the negative influence of Cushing's syndrome on owners' quality of life and to positive feedback points on the veterinarian.

clinical state of their pet well, while 21/218 (10%) answered being easily over-worried. For 128/218 (59%) owners, the dog's condition did not influence their own quality of life, but 81/218 (37%) felt that it impacted it negatively. The quality of life of nine owners (4%) improved. Keywords related to the negative influence of the disease on owners' quality of life are illustrated in Figure 5. In 79 % of cases (172/218), one family member was responsible for the veterinary visits and the pet's medical care. Sixteen percent of the respondents (35/218) tried to attend the veterinary consultations with two or more family members. One different person was bringing the dog to consultation every time in 11/218 (5%) cases. Ninety-five percent of the participants (207/218) found it easy to transmit the information given by the veterinarian to the family, while 11/218 (5%) assessed it as being difficult.

Most owners (180/218, 83%) felt involved and heard by their veterinarian, with an average score of 7.5/10 given to the general practitioners for the service offered. Thirty-two percent of the participants (69/218) gave a score inferior to 7/10, and 34/69 (49%) inferior to 5.5/10. For scores inferior to seven, the respondents were asked to write down the weak points of interaction. The answers, in order of importance, were: insufficient knowledge of the veterinarian, owner overwhelmed by the complexity of the disease, lack of involvement of the veterinarian, fast explanation, complicated words used by the veterinarian, insufficient own concentration ability. Keywords about positive feedback points are illustrated in Figure 6. Overall, the preferred way of communication with the veterinarian shortly after diagnosis, but also on long term, were veterinary consultations. Extra information about the preferences of 218 respondents

regarding short- and long-term follow-up are illustrated in Table 1.

DISCUSSION

In the present study, the pet owners' perception is described regarding the diagnosis and management of canine Cushing's syndrome, with a focus on their quality of life. These insights are very valuable to any veterinarian as negative experiences in relation to diagnosis, treatment and follow-up of the disease, can significantly impact the owners' decisions regarding the medical care of their pet.

UCCR was the most commonly used screening test in the present survey, while LDDST was performed in less than one fifth of the dogs. In Belgium, LDDST is often the test of choice in dogs suspected of Cushing's syndrome. However, a majority of respondents were Dutch, and UCCR (potentially combined with high-dose dexamethasone suppression test (HDDST)) is more frequently used by veterinarians in the Netherlands than in other countries as it was developed by Utrecht University. Moreover, UCCR is easy and non-invasive, while LDDST lasts eight hours and requires three blood samples. UCCR is not a complete diagnostic test without combined HDDST, but in the questionnaire, there was no clear differentiation between UCCR measurement only, and the combination of UCCR with HDDST.

It is also possible that some owners did not completely understand and/or remember which tests were performed, and so did not provide the actual answer. As ACTH-stimulation is often used during follow-up, owners may have remembered this test more than the

other ones, and may have wrongly thought that this test was also the one used for diagnosis. More than half of the dogs in present survey underwent imaging (abdominal ultrasound and/or CT scan/MRI), and the delay between diagnosis and imaging varied greatly. This delay may be due to the evolution of the clinical signs, such as appearance of neurological signs in case of pituitary macroadenoma, or to insufficient improvement despite therapy. Imaging in dogs with HC is especially important to determine the best treatment option for individual cases, by discriminating between ADH and PDH and evaluating the presence of metastasis, or to plan surgery/radiotherapy (Feldman et al., 2015).

Consultation with one or more other veterinarian(s) before reaching diagnosis, or for a second opinion, was very common. A significant percentage of respondents evaluated the explanation of their primary veterinarian regarding diagnosis and treatment of Cushing’s syndrome as insufficient, with the most commonly mentioned weakness being a lack of knowledge of the practitioner. A possible explication is that many general veterinarians in Belgium and in the Netherlands, according to the authors’ estimation, only encounter one to two dog(s) with HC per year. Another possible contributing factor for dissatisfaction is that, nowadays, clients have access to a lot of online information. Consequently, the owners will easily find content about canine Cushing’s syndrome and could have the feeling, while coming up with specific questions, that the veterinarian was unable to answer them or to provide new elements. Access to the internet could also, at least partially, explain the high number of owners who raised the initial suspicion of HC themselves. Four respondents specifically added in the free text area that they googled the clinical signs of their pet, and found Cushing’s syndrome as a possible diagnosis. Others already had owned a dog with Cushing’s

syndrome and recognized the clinical picture. However, it is difficult to believe that almost half of the respondents suggested the diagnosis to their veterinarian. It is possible that the question was not fully understood by the participants. Interestingly, 14% of the respondents answered that their pet had no clear clinical signs of HC. None of the currently available adrenal function tests are totally reliable and, when a population without high clinical suspicion is tested, some patients could be misdiagnosed and started on unnecessary therapy, placing them in a potentially life-threatening situation. In order to keep the number of false-positive results as low as possible, a compatible history and physical examination findings remain the main indication to test for HC (Behrend et al., 2013). Based on these data, it is not impossible that some dogs in the present study were misdiagnosed with Cushing’s syndrome.

Participants to this survey had a clear preference for direct personal contact with their veterinarian regarding communication, mainly through consultations or over the phone. Nowadays, pet owners wish tailored communication based on their needs and expect partnership and shared decision-making with their veterinarian (Janke et al., 2021). Extra communication via mails or phone calls could be beneficial for both the patient and his owner. However, it might be challenging to add these (often free) services to the already heavy workload of most veterinarians. The pet respondents’ preference for a quarterly consultation during long-term follow-up is in agreement with the classical recommendation of three to six months monitoring after having reached a stable dose of trilostane (Ramsey, 2010).

Eight percent of the respondents indicated using alternative therapies, alone (7/18) or alongside (11/18) conventional treatment. There is a raising interna-

Table 1. Short- and long-term follow-up options, preferences of 218 respondents.

Short-term follow-up (218 respondents, several answers possible)	Contact with veterinarian n=254	<ul style="list-style-type: none"> • Consultations n=133 • Phone calls n=99 • Emails n=22
	Contact with paraveterinary staff n=27	
	Others n=50	<ul style="list-style-type: none"> • Information brochures n=15 • Summary on paper n=35
Long-term follow-up (218 respondents, several answers possible)	Contact with veterinarian n=185	<ul style="list-style-type: none"> • 6-months consultations n=74 • 3-months consultations n=31 • Monthly consultations n=42 • Emails n=34 • Phone calls n=4
	Contact with paraveterinary staff n=79	<ul style="list-style-type: none"> • While picking up medication n=65 • 3-months contact n=5 • Monthly contact n=6 • Emails n=3
	Others n=23	Daily diary

tional interest in veterinary naturopathy and complementary medicine, from both veterinarians and pets' owners. In a recent survey among German small animal medicine veterinary practitioners, 85.4% of the participants used naturopathy and complementary medicine. The owners' demand for naturopathy and complementary treatments over the last five years was rated as growing by 57.9% of the respondents (Stanossek and Wehrend, 2022). There is currently a lack of evidence-based data regarding the effectiveness, safety and mechanism of action of these alternative therapies. If given without conventional treatment, they could lead to disease progression.

Only 4% of the dogs in this survey were treated surgically. Surgery allows the removal of the source of hormones excess. Adrenalectomy is recommended for dogs with uni- or bilateral adrenocortical tumor, and hypophysectomy is especially interesting in cases of pituitary macroadenoma (Sanders et al., 2018). Four owners added in the questionnaire that they were not informed by their veterinarian about surgical options. No specific question was asked in this survey as whether the respondents knew about the possibility of adrenalectomy or hypophysectomy. Consequently, more owners could have been unaware of these treatment options. Other possible explanations for the low number of surgeries mentioned in the survey are the high initial costs and the fear of severe peri-operative complications. The most frequently used treatment was trilostane. Vetoryl is registered for the medical treatment of canine PDH and ADH. There is a broad variation in the optimal dose. Some dogs may benefit from three-times-a-day medication (Feldman, 2011; Vaughan et al., 2008), but 3/14 owners in that situation found this schema complex. Giving trilostane every other day, as done by two respondents, is not recommended. Worryingly, a few owners opened the capsules of trilostane. Trilostane is a hazardous substance (may be harmful by inhalation, ingestion, or skin absorption: skin corrosion/irritation, serious eye damage/eye irritation, toxic to reproduction, may be irritating to the mucous membranes and respiratory tract), and the capsules should never be opened without the required experienced and equipment (Dechra, 2017). Veterinarians should be aware of this and strongly discourage owners who wish to compound trilostane themselves.

One owner out of four underestimated the care required for a dog with Cushing's syndrome, which reinforces the importance of clear communication and explanation at the moment of the diagnosis. The veterinarian should make sure that all treatment options, with their associated benefits and risks, have been discussed with the owner, and provide a long-term plan. However, based on the results, multiple weaknesses seem to exist in this regard. Likely, veterinarians do not always have sufficient time during a consultation to inform the clients thoroughly. If unexperienced with Cushing's syndrome, the general practitioner could offer referral.

More than one third of the respondents assessed their quality of life as being negatively impacted by their pet's disease. In a study by Schofield et al. (2019), the most important questions reported by pet owners were those that explored whether Cushing's syndrome affects the bond with their animal and how much they worry about their dog's future health. In the present survey, 30% of the respondents answered that the pet-owner relationship after diagnosis improved. This could be due to the extra time spent with a diseased pet, because of both medical and 'tender loving' care. Tender loving care was, actually, often mentioned as an 'extra' treatment by the respondents in the free text area. A small percentage of participants found, on the contrary, that the bond with their dog deteriorated. Frustration, stress, fear, linked to the administration of the medication itself, or to other factors, can have a negative impact on the owner-pet bond. Not to underestimate is the impact of interrupted night sleep because of nocturia.

The present study has several limitations. First, only owners from the Netherlands and Flanders could participate. Geographical variations in owners' perception are likely (cultural, economic and availability of local professional skills). A study assessing differences between patients from the USA and the Netherlands in how the Cushing QoL (widely used disease-specific questionnaire to assess quality of life in humans with Cushing's syndrome) is interpreted, showed that 3/12 items on the questionnaire were interpreted differently, concluding that the results' interpretation requires consideration of the country of residence (Winter et al., 2018). As the questionnaire was available online and was posted in specific Facebook groups only, there is likely a bias in the selected population, especially as 92% of the participants were members of the same Facebook group. Indeed, members of a discussion group are more likely to be strongly involved in their pet's medical condition and treatment. This, together with the aforementioned cultural and financial differences, suggest that the results of the present survey cannot be extrapolated to the totality of the pet owners population worldwide. However, the authors believe that the findings are still very relevant in a large part of the world, and indicate points of attention and areas of possible improvement in relation to canine hypercortisolism.

CONCLUSION

The present survey provides a valuable insight from the owner's point of view into canine Cushing's syndrome in the Netherlands and Flanders. For the majority of respondents, the quality of life was not impacted negatively by their dog's medical condition. Many owners were highly-motivated and ready to involve themselves in terms of finances and time, in the medical care of their pet. Several weak points related to diagnosis were identified, with no screening tests

performed to confirm HC in more than 10% of the dogs, and with only half of the present study population undergoing medical imaging. Consequently, a significant proportion of dogs in this survey was treated without a proper diagnosis. These findings highlight the importance of veterinary education about Cushing's syndrome. Information regarding potential owner's exposure to trilostane is mandatory.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors want to thank Joanna Hogendoorn for her work as a student, and to congratulate her for obtaining her degree as a veterinarian. The authors also want to thank all participating owners.

LITERATURE

- Behrend, E. N., Kooistra, H. S., Nelson, R., Reusch, C. E., Scott-Moncrieff, J. C. (2013). Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 acvim consensus statement (small animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27(6), 1292–1304. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jvim.12192>
- Carotenuto, G., Malerba, E., Dolfini, C., Brugnoli, F., Giannuzzi, P., Semprini, G., Tosolini, P., Fracassi, F. (2019). Cushing's syndrome-an epidemiological study based on a canine population of 21,281 dogs. *Open Veterinary Journal* 9(1), 27–32. <https://doi.org/10.4314/ovj.v9i1.5>
- Dechra (2017). Safety Data Sheet Vetoryl (version number 1). Dechra Limited.
- Feldman, E. C. (2011). Evaluation of twice-daily lower-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 238(11), 1441–1451. <https://doi.org/10.2460/javma.238.11.1441>
- Janke, N., Coe, J. B., Bernardo, T. M., Dewey, C. E., Stone, E. A. (2021). Pet owners' and veterinarians' perceptions of information exchange and clinical decision-making in companion animal practice. *PloS One* 16(2), e0245632. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245632>
- O'Neill, D. G., Scudder, C., Faire, J. M., Church, D. B., McGreevy, P. D., Thomson, P. C., Brodbelt, D. C. (2016). Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210,824 dogs attending primary-care veterinary practices in the UK from 2009 to 2014. *The Journal of Small Animal Practice* 57(7), 365–373. <https://doi.org/10.1111/jsap.12523>
- Sanders, K., Kooistra, H. S., Galac, S. (2018). Treating canine Cushing's syndrome: Current options and future prospects. *Veterinary Journal* 241, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.09.014>
- Schofield, I., O'Neill, D. G., Brodbelt, D. C., Church, D. B., Geddes, R. F., Niessen, S. J. M. (2019). Development and evaluation of a health-related quality-of-life tool for dogs with Cushing's syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(6), 2595–2604. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jvim.15639>
- Stanossek, I., Wehrend, A. (2022). Application of veterinary naturopathy and complementary medicine in small animal medicine-A survey among German veterinary practitioners. *PloS One*, 17(2), e0264022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264022>
- Vaughan, M. A., Feldman, E. C., Hoar, B. R., Nelson, R. W. (2008). Evaluation of twice-daily, low-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 232(9), 1321–1328. <https://doi.org/10.2460/javma.232.9.1321>
- Winter, S. D., Depaoli, S., Tiemensma, J. (2018). Assessing differences in how the CushingQoL is interpreted across countries: comparing patients from the U.S. and the Netherlands. *Frontiers in Endocrinology* 9, 368. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00368>



© 2023 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/>).

Klinische aanpak van puppysterfte bij de hond

Clinical approach to neonatal mortality in dogs

P. Banchi, J. Lannoo, G. Domain, R. Van Leeuwenberg, A. Van Soom

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

Penelope.Banchi@Ugent.be
voortplanting.gezelschapdieren@ugent.be

SAMENVATTING

Neonatale sterfte vormt een belangrijk probleem bij honden gedurende de eerste drie levensweken. Het risico op puppysterfte is vooral groot tijdens de eerste twee levensdagen en de meeste sterfgevallen doen zich in deze periode voor. Zowel infectieuze als niet-infectieuze aandoeningen, zoals dystocie, trauma en aangeboren misvormingen, kunnen neonatale sterfte veroorzaken. Van alle aandoeningen die bij pups tot de dood kunnen leiden, worden hypoxie, hypothermie en hypoglycemie het meest waargenomen. Een nauwkeurig neonataal klinisch onderzoek maakt het mogelijk om pasgeborenen met een verhoogd risico te identificeren en hen een passende behandeling te geven. Apgarscore, geboortegewicht, lichaamstemperatuur en glycemie zijn nuttige parameters voor de beoordeling van pups met een verhoogd risico.

Ten slotte is preventie een belangrijk punt om neonatale ziekten en sterfte te beperken. Preventie gebeurt het beste door een nauwgezet fokbeleid en een goed gecontroleerde omgeving.

ABSTRACT

Neonatal mortality represents a relevant problem in dogs during the first three weeks of life. The risk of mortality during the first two days of life is particularly high, with most neonatal losses occurring within this period. Both infectious and non-infectious diseases, such as dystocia, trauma and congenital malformations, can cause neonatal mortality. Among all the conditions that can lead to death in newborns, hypoxia, hypothermia and hypoglycemia are mostly observed. An accurate neonatal clinical examination allows to identify at-risk newborns and to provide them with adequate treatment. Apgar score, birth weight, body temperature and glycemia are useful parameters for the assessment of at-risk newborns.

Finally, prevention is a key point to limit neonatal diseases and mortality. Prevention is carried out through meticulous breeding and environmental management.

INLEIDING

De neonatale periode heeft betrekking op de eerste drie weken van het leven van een puppy (Mila et al., 2014; Chastant-Maillard et al., 2019). Het is een zeer gevoelige periode, waarbij 70-90% van de sterfgevallen al vóór het spenen gebeurt (Chastant-Maillard et al., 2017). Het is vooral de vroege neonatale fase (vanaf de geboorte tot de tweede levensdag) die het meest kritisch is. In deze 48 uur hangt de overleving van de

pup af van zijn vermogen zich aan te passen aan de talrijke veranderingen die gepaard gaan met de overgang van intra- naar extra-uterien leven (Chastant-Maillard et al., 2019; Mila et al., 2017). Daartoe behoren de aanpassing van het ademhalingsstelsel (ademen via de longen) en de opname van voedingsstoffen (via het maagdarmlkanaal), beide functies die voorheen via de navelstreng en placenta plaatsvonden (Chastant-Maillard et al., 2019). Ook is de opname van colostrum in de eerste 24 uur cruciaal voor de neonaat voor de

opbouw van immuniteit (Hillman et al., 2012). Neonatale sterfte varieert gewoonlijk tussen 10% en 30% (Meloni et al., 2014; Mila et al., 2015).

In geval van neonatale sterfte is het belangrijk dat de dierenarts een diagnose kan stellen om de overlevende pups te kunnen behandelen en vooral om preventieve maatregelen te kunnen nemen en de fokker zo nodig corrigerende beleidsmaatregelen voor te stellen.

OOZAKEN

De oorzaken van neonatale sterfte kunnen al dan niet infectieus zijn. Vaak liggen meerdere onderliggende oorzaken, zoals een te laag geboortegewicht en het optreden van hypothermie, hypoglycemie en sepsis aan de basis van een vicieuze cirkel die de puppy uiteindelijk fataal wordt.

Diverse virale, bacteriële en, in mindere mate, schimmel- en protozoaire infectieuze agentia zijn betrokken bij neonatale sterfte (Mila et al., 2014; Meloni et al., 2014).

Infectieuze oorzaken

Bacteriële infecties zijn de belangrijkste oorzaak van puppysterfte en veroorzaken ongeveer 65% van de sterfgevallen (Meloni et al., 2014). Besmetting kan plaatsvinden tijdens de dracht, tijdens de geboorte, via besmette afscheidingen van de moeder, zoals melk, oro-nasale afscheiding, vaginale afscheiding, via de uitwerpselen van de teef (Mümmich en Lübke-Becker, 2004; Schäfer-Somi et al., 2003) of door bacteriële translocatie van kiemen uit het darmstelsel van de pup (Dahlinger et al., 1997; Go et al., 1994). De meest frequent geïsoleerde micro-organismen zijn *Escherichia coli* (Meloni et al., 2014; Askaa et al., 1978), stafylokokken (Lamm et al., 2010), streptokokken (Münnich et al., 2008) en *Klebsiella pneumoniae* (Münnich et al., 2008; Münnich et al., 2015). Soms worden na neonatale sterfte echter ook *Proteus mirabilis* en *Pseudomonas aeruginosa* geïsoleerd (Münnich et al., 2008). Deze agentia kunnen alleen of in combinatie met elkaar aanwezig zijn (Meloni et al., 2014). In het geval van bacteriële septicemie maakt het snelle verloop van de ziekte elke therapie vaak zinloos en kan de dood plotseling intreden (Veronesi et al., 2013). In een studie van Meloni et al. (2014) werd geconstateerd dat wanneer de oorzaak bacterieel is, in 70% van de gevallen meer dan één individu in het nest betrokken is en in veel gevallen zijn de bacteriën die de infectie veroorzaken multiresistent en aanwezig in de fokpopulatie. Het misbruik van antibiotica in een poging om de neonatale sterfte te verminderen, verhoogt alleen maar het risico dat potentieel pathogene micro-organismen worden geselecteerd die resistent zijn tegen antimicrobiële stoffen (Milani et al., 2012). Bacteriologisch onderzoek en een antibio-

gram zijn essentieel om de pups adequaat te behandelen en de teef bij volgende nesten te evalueren in geval van terugkerende neonatale verliezen. De meest effectieve antibioticaklassen blijken cefalosporinen te zijn (Meloni et al., 2014). Fluoroquinolonen kunnen ook effectief zijn, maar toediening bij de pup wordt afgeraden wegens bijwerkingen op het kraakbeen (Takizawa et al., 1999) en om onnodig gebruik van kritisch belangrijke antibiotica (derde keuze) te vermijden.

Wat de virale oorzaken betreft, is het herpesvirus het agens dat het vaakst in verband wordt gebracht met neonatale sterfte (Dahlbom et al., 2009; Ronse et al., 2004; Rota et al., 2020; Verstegen et al., 2008). De infectie kan in utero of bij de bevalling optreden en intra-uteriene dood of neonatale sterfte veroorzaken. Pups vertonen niet-specifieke symptomen zoals lethargie, overmatige vocalisaties of plotselinge dood. De diagnose vindt hoofdzakelijk post mortem plaats en het beeld dat bij necropsie kan worden vastgesteld is karakteristiek, met de aanwezigheid van multifocale hemorrhagische necrose in de interne organen, goed waarneembaar in de nieren en de lever (Lamm et al., 2012). De bevestiging wordt definitief verkregen door histopathologisch onderzoek en PCR (Lamm et al., 2012). Enkel na post-mortemonderzoek van de pups kan herpes als oorzaak van neonatale sterfte bevestigd worden.

Parvovirus (CPV1) infectie is niet typisch voor de neonatale fase; het virus kan echter enteritis, longontsteking, myocarditis en lymfadenitis bij de pup veroorzaken. Braken, diarree, dyspnee en vocalisaties zijn de meest voorkomende symptomen. De puppysterfte kan optreden tussen de 5de en 21ste dag na de geboorte (Peterson en Kutzler, 2011).

Niet-infectieuze oorzaken

Niet-infectieuze oorzaken van neonatale sterfte mogen niet onderschat worden, aangezien de meeste sterfgevallen het gevolg zijn van hypoxie, hypoglycemie en hypothermie (Lawler, 2008; Münnich en Küchenmeister, 2014). Daarom is het verloop van de bevalling een element dat de overleving van de pasgeborene kan bepalen, en dystocie is zeker een predisponerende factor bij neonatale sterfte (Münnich en Küchenmeister, 2014). In dit geval wordt de pasgeborene namelijk getroffen door de langdurige hypoxische toestand die vaak optreedt bij een niet-vorderende partus of bij placentaloslating. Hoewel de neonat een groter vermogen heeft om hypoxische omstandigheden te verdragen dan de volwassene, kan gebrek aan zuurstoftoevoer snel tot de dood leiden (Münnich en Küchenmeister, 2014; Low et al., 1991).

Trauma na de geboorte of toegebracht door de moeder kan ook een risico vormen. Soms vertoont de teef afwijkend moederlijk gedrag, wat leidt tot karnibalisme waarbij het hele nest verloren kan gaan; dergelijk gedrag kan zich bij volgende geboorten



Figuur 1. Cavalier King Charles-pup met anasarca. Anasarca bestaat uit diffuus, subcutaan oedeem van niet-inflammatoire oorsprong. Het is te wijten aan de effusie van vocht in de extracellulaire ruimte en kan moeilijkheden veroorzaken bij de partus tijdens de passage door het geboortekanaal. Deze misvorming is niet verenigbaar met leven.

herhalen (Lezama-García et al., 2019). Anderzijds is het niet verzorgen of afwijzen van niet-vitale, koude, immobiele, niet-vocale zuigelingen normaal gedrag voor een moederdier (Lezama-García et al., 2019).

Bij de niet-infectieuze oorzaken van doodgeboorte spelen genetische of congenitale afwijkingen, zoals anasarca en navelbreuk, die structurele of functionele veranderingen van één of meer organen veroorzaken waardoor de levensvatbaarheid van de pup in gevaar komt, een eerder kleine rol (Nobre Pacifico Pereira et al., 2019) (Figuur 1 en 2). De incidentie van misvormingen bij pasgeborene pups ligt tussen 1% en 3% (Tabel 1). De incidentie is hoger bij rashonden en een gespleten gehemelte is de meest voorkomende afwijking (Figuur 2) vooral bij brachycefale rassen. Het veroorzaakt neonatale sterfte als gevolg van aspiratie van voedsel, wat aspiratiepneumonie veroorzaakt of door het wegwijnen van de pup die niet kan eten. Het verstrekken van een correct dieet aan de teef tijdens de zwangerschap, waarbij al voor de dekking of vanaf de vijftiende dag van de dracht foliumzuur wordt toe-



Figuur 2. Pup met omfalocoele (navelbreuk) en gespleten gehemelte. Deze aangeboren afwijking bestaat uit het niet sluiten van de buikwand van de pasgeborene met uitstulping van de buikorganen naar buiten toe. De pup leefde op het moment van de beeldopname, maar zijn toestand was niet levensvatbaar.

gevoegd, lijkt de incidentie van gespleten gehemelte bij deze rassen te verminderen (Moura en Pimpão, 2017).

Een volledige en nauwkeurige medische voorgeschiedenis is essentieel om vast te stellen wat de oorzaken van de neonatale sterfte zouden kunnen zijn.

Het is erg belangrijk om dode pups naar een laboratorium te sturen waar necropsie, histopathologie en alle nodige onderzoeken kunnen verricht worden om de doodsoorzaken vast te stellen en nuttige elementen voor toekomstige preventie te identificeren (Meloni et al., 2014; Tønnessen et al., 2012).

RISICOPUPS HERKENNEN DOOR KLINISCH ONDERZOEK

Bij de geboorte kan aan elke pasgeborene een graad van levensvatbaarheid, de Apgar-score, worden toegekend (Tabel 2), waardoor vastgesteld kan worden welke pups speciale zorg nodig hebben. De score

Tabel 1. Voorkomen van bepaalde aangeboren afwijkingen bij de hond (naar: Nobre Pacifico Pereira et al. (2019)).

Misvorming	Incidentie (%)
Gespleten gehemelte	2,8
Hydrocefalie (waterhoofd)	1,5
Anasarca (waterpup)	0,7
Gespleten lip	0,6
Gastroschisis (gat in buikwand)	0,6
Atresia ani	0,4
Segmentale aplasie van de darm	0,4
Persistent urachuskanaal	0,24
Lissencefalia (hersenafwijking)	0,24
Navelbreuk	0,24
Ooglidagenese	0,24
Ageneze van de buikspieren	0,12
Macroglossia	0,12
Mitralisklepdysplasie	0,12
Pulmonale hypoplasie	0,12
Pulmonaire klepstenose	0,12
Recto-vaginale fistels	0,12
Hypoplasie van de ribben	0,12
Tricuspidalisklepdysplasie	0,12
Unilaterale ageneze van de nieren	0,12
Vaginale atresie	0,12

is afgeleid van de humane geneeskunde (Sion et al., 2020) en omvat de beoordeling van gemakkelijk waarneembare parameters, zoals de kleur van de slijmvliezen, hartslag, reflexen, ademhaling en spiertonus. Er bestaan versies die aangepast zijn aan het hondenras (Veronesi et al., 2009) en de eerste beoordeling kan onmiddellijk na de geboorte plaatsvinden (Veronesi et al., 2016). De pup wordt beoordeeld binnen de eerste acht uur van zijn leven, om een effectief middel te zijn voor het voorspellen van sterfte op korte termijn (Mila et al., 2017). De Apgarscore kan liggen tussen 0 en 10. Pups met een score tussen 0 en 3 zijn die met de slechtste prognose en bij wie ongetwijfeld intensieve zorg moet worden toegepast. In ieder geval moeten



Figuur 3. Nest geboren via keizersnede. Deze procedure is in de meeste gevallen van dystocie (60%-80%) noodzakelijk op de spoedafdeling, maar kan worden gepland bij een voorgeschiedenis van bevallingsproblemen (Proctor-Brown et al., 2019).

alle pups met een score onder 6 (Mila et al., 2017) nauwlettend opgevolgd worden en speciale zorg krijgen. Pups met hoge scores hebben een lager risico op vroegtijdige neonatale sterfte maar kunnen nog altijd sterven (Veronesi et al., 2016). Apgar-beoordeling is bijzonder nuttig bij dystocie, keizersnede en bij brachycefale rassen, waarvoor een aangepast formulier is ontwikkeld (Batista et al., 2014).

Het wegen van de pups bij de geboorte is essenti-

Tabel 2. Apgarscore voor puppybeoordeling (naar: Veronesi et al., 2009).

Parameter	Score		
	0	1	2
Kleur van de slijmvliezen	Cyanotisch	Bleek	Roze
Hartslag (bpm)	<180	180-220	>220
Reflexmatige prikkelbaarheid	Afwezig	Grimas	Krachtig
Motiliteit	Slappe pup	Een paar bewegingen	Actieve
Ademhalings-inspanning (vocalisaties en ademhalingsfrequentie)	Geen vocalisatie en ademhalingsfrequentie <6 handelingen per minuut	Matige vocalisaties en ademhalingsfrequentie tussen 6 en 15 handelingen per minuut	Krachtige vocalisaties en ademhalingsfrequentie >15 handelingen per minuut

eel, aangezien een laag geboortegewicht een risico-factor is voor zowel vroege als late sterfte (Mila et al., 2017). Een pup met ondergewicht heeft een twaalfmaal hoger sterfterisico dan een pup met een normaal gewicht (Mila et al., 2017; Mila et al., 2015; Groppetti et al., 2015). Voor veel rassen is het ideale geboortegewicht vastgesteld (Mugnier et al., 2019) (Tabel 3).

Het bepalen van het gewicht moet dagelijks worden herhaald, omdat een regelmatige groei een van de weinige elementen is waarmee de gezondheid van de pasgeborene kan worden gecontroleerd en eventuele problemen tijdig kunnen worden opgespoord (Mugnier et al., 2018; Schrank et al., 2019). Daarbij moet rekening worden gehouden met het hondenras waartoe de pup behoort (Schrank et al., 2019; Haethorne et al., 2004). Gewichtsverlies van meer dan 10% in de 24 uur na de geboorte moet worden beschouwd als een ongunstige prognostische factor (Peterson en Kutzler, 2011).

Klinische kenmerken om de gezondheidstoestand van een neonatale pup te beoordelen zijn de eerste le-

vensdagen beperkt. Een eerste element dat kan wijzen op een situatie van malaise bij de pasgeborene is de neiging tot vocaliseren: de pup kan vanaf de eerste momenten van zijn leven vocaliseren, maar langdurige episodes moeten als abnormaal worden beschouwd (Casal, 2010) en kunnen voorkomen in geval van hypoglycemie of sepsis (Peterson en Kutzler, 2011).

Wat het meten van de lichaamstemperatuur betreft, moet er rekening mee gehouden worden dat de pasgeborene vóór de leeftijd van zes dagen niet in staat is tot efficiënte thermoregulatie (Casal, 2010). Daarom moet het onderzoek van de pasgeborene altijd worden uitgevoerd in een voldoende verwarmde omgeving (Peterson en Kutzler, 2011). De temperatuur bij de geboorte is soms lager dan 30°C en moet normaliter in de eerste 24 uur van het leven stijgen tot 35-37,2°C (Lawler, 2008). Een verlaging van de lichaamstemperatuur gaat gepaard met een verlaging van de harten ademhalingsfrequentie en een vermindering van de gastro-intestinale motiliteit (Lawler, 2008). Een onderkoelde puppy moet in eerste instantie niet wor-

Tabel 3. Gemiddeld geboortegewicht en worpgrootte van enkele hondenrassen (naar: Mugnier et al. (2019)).

Ras	Grootte*	Gemiddeld geboortegewicht, g	Gemiddelde nestgrootte
Alaskan malamute	Groot ras	563	6
Australische herder	Medium ras	363	7
Beagle	Medium grootte	309	6
Berner sennenhond	Reuzenras	490	7
Bichon frisé	Klein ras	189	6
Boxer	Groot ras	464	7
Cavalier king charles- spaniël	Klein ras	225	5
Chihuahua	Klein ras	120	3
Cockerspaniël	Medium ras	266	5
Coton de tulear	Klein ras	188	4
Teckel	Klein ras	184	4
Engelse bulldog	Medium ras	316	5
Franse bulldog	Klein ras	238	5
Duitse herder	Groot ras	506	7
Golden retriever	Groot ras	395	7
Jackrussellterriër	Klein ras	202	4
Labrador-retriever	Groot ras	410	7
Leonberger	Reuzenras	517	8
Lhasa apso	Klein ras	188	5
Maltezer	Klein ras	165	5
Newfoundlander	Reuzenras	630	5
Pomeranian	Klein ras	152	3
Rottweiler	Reuzenras	404	8
Shih tzu	Klein ras	176	5
Witte Zwitserse herder	Groot ras	473	7
West Highland white terriër	Klein ras	196	4
Yorkshireterriër	Klein ras	142	4

*Grootte: Klein ras, volwassen gewicht < 10 kg; Medium ras, 10-25 kg; Groot ras, 26-45 kg; Reuzenras, > 45 kg.

Tabel 4. Enkele belangrijke klinische parameters van de pasgeboren pup (naar: Peterson en Kutzler (2011)).

Parameter	0-2 weken		2-4 weken
	< 24 levensuren	> 24 levensuren	
Hartslag	>180 slagen/ minuut		>180 slagen/ minuut
Ademhalingsfrequentie	>15 handelingen/ minuut	20-30 handelingen/ minuut	15-35 handelingen/ minuut
Lichaamstemperatuur	30°C	35-36,5°C	37-37,7°C
Hematocriet	29-53%		27-37%
Totaal eiwit	3,4-5,2 g/dl		4 g/dl
Bloedglucose	111-146 mg/dl		86-115 mg/dl
Urine soortelijk gewicht	1006-1017		1006-1017

den gevoederd, maar wel worden opgewarmd. Het is belangrijk te onthouden dat het onderkoelde dier geleidelijk moet worden opgewarmd, idealiter door het geven van warme vloeistoftherapie via injectie en een paar druppels 20% glucoseoplossing oraal, waarbij pas op daadwerkelijke voeding wordt overgeschakeld als de lichaamstemperatuur 35°C (Peterson en Kutzler, 2011) bereikt; bij een lagere lichaamstemperatuur is de zuigreflex niet aanwezig (Casal, 2010). De temperatuur mag evenmin meer dan 1°C per uur stijgen (Casal, 2010). Hypothermie en gastro-intestinale stase zijn predisponerend voor de verspreiding van bacteriën (Peterson en Kutzler, 2011). Zodra de onderkoeling is verholpen, kan antibioticatherapie van cruciaal belang zijn om te voorkomen dat de pup sterft aan bacteriële infecties, met name *E. coli* (Münlich en Küchenmeister, 2014).

Het onderzoek wordt voortgezet met observatie van de ademhaling die regelmatig moet zijn en waarvan de frequentie rond de 15 ademhalingen per minuut moet liggen in de eerste 24 uur van het leven, oplopend tot 20-30. Inspectie van de slijmvliezen kan een hypoxische toestand aantonen wanneer de kleur bleek of cyanotisch is (Münlich en Küchenmeister, 2014) en kan informatie geven over de hydratatiestatus van de pasgeborene (Peterson en Kutzler, 2011). Urineonderzoek kan ook nuttig zijn om de hydratatiestatus van de zuigeling vast te stellen; een okergele kleur is een indicatie van uitdroging (Münlich en Küchenmeister, 2014). In geval van uitdroging moet de zuigeling geleidelijk worden gerehydrateerd, bij voorkeur intraveneus (of intraosseus), of alternatief subcutaan of intraperitoneaal (Münlich en Küchenmeister, 2014). In geval van ernstige dehydratie en hypovolemie kan een bolus NaCl (3-4 ml/100 g gewicht) worden toegediend, waarna geleidelijke rehydratie kan worden uitgevoerd, waarbij kan worden overgeschakeld op ringerlactaat (Münlich en Küchenmeister, 2014; Lee en Cohn, 2017).

Het cardiocirculatiesysteem kan worden beoordeeld aan de hand van de hartslag en de perifere perfusie. De aanwezigheid van hartruis wordt bij de pasgeborene niet gemakkelijk waargenomen vanwege de hoge hartslag (Tabel 4). Onschuldig geruis kan aanwezig zijn tot de leeftijd van twaalf weken (McMichael, 2008) en is meestal systolisch, graad I- of II-geruis, met het punt van maximale intensiteit gelegen in de regio van de linkerhartbodem (Szatmári et al., 2015). Een hartslag onder 150 spm vereist opname en toediening van zuurstof (Casal, 2010).

Het beoordelen van de toestand van het bewustzijn is een andere belangrijke stap in het onderzoek van de neonatale patiënt (Lavelly, 2006). In het algemeen moet de pasgeborene reageren op externe prikkels. De flexortoon overheerst in de eerste drie à vier dagen van het leven, wanneer de zuigeling, op hoofdhoogte gehouden, de neiging heeft zich in zichzelf te vouwen. Vanaf de vierde of vijfde dag overheerst de extensorische toon (Lavelly, 2006). Vanaf het moment van de geboorte moeten drie reflexen aanwezig zijn: de strekreflex, de wroetreflex en de zuigreflex (Vasalo et al., 2015).

Wat de evaluatie van het maag-darmstelsel betreft, is het belangrijk de mondholte te inspecteren op misvormingen (gespleten gehemelte) (Figuur 2), de opening van de anus te controleren en de buik te palperen, die zacht en niet pijnlijk moet zijn (Peterson en Kutzler, 2011). Bij inspectie moet de navelstreek droog en vrij van roodheid zijn (Münlich en Küchenmeister, 2014). De blaas, linkernier, dunne darm en dikke darm zijn over het algemeen goed te voelen bij palpatie. De leverkwabben mogen daarentegen niet buiten de costale boog uitsteken en mogen dus niet palpabel zijn; deze bevinding wijst op hepatomegalie (Peterson en Kutzler, 2011).

Bloedafname bij kleine neonaten is uitdagend. Indien het toch lukt om bloed te nemen, zou een minimumanalyse, naast het soortelijk gewicht van de uri-

ne, idealiter hematocriet, totaal eiwit en bloedglucose moeten omvatten, rekening houdend met het feit dat het maximale bloedvolume dat kan worden afgenomen 1 ml per 100 g diergewicht is (Casal, 2010). Bovendien zijn de referentieparameters specifiek voor de pup en verschillen zij van die van de volwassene (McMichael, 2008) (Tabel 4). Een glucose bloedprik is vaak een praktisch alternatief. De bloedglucose moet in de eerste 24 uur van het leven stijgen tot 120 mg/dl (Rosset et al., 2009). Een lagere bloedglucoseconcentratie (< 98 mg/dl) in de eerste acht uur van het leven wordt in verband gebracht met een verhoogde neonatale sterfte (Mila et al., 2017). De bloedglucose moet in de eerste vier uur van het leven worden gecontroleerd, vooral bij kleinere puppy's en bij jongen die te vroeg zijn geboren, zodat 0,5-1 g/kg glucose gemakkelijk kan worden verstrekt met een 5%- of 10%-oplossing.

Bloedafname kan ook nuttig zijn om de juiste overdracht van passieve immuniteit te beoordelen. De parameters die worden gebruikt om de kwaliteit van de immuniteitsoverdracht aan de zuigeling te beoordelen, zijn de bloedconcentratie van immunoglobuline G (IgG) en de gamma-glutamyltransferase- (GGT) activiteit (Mila et al., 2014). Met betrekking tot IgG is de drempelwaarde voor het vaststellen van de juiste passage van passieve immuniteit 230 mg/dl (Mila et al., 2014). Onder deze waarde bereikt het neonatale sterftecijfer 44%, vergeleken met 4% sterfte bij zuigelingen met bloedconcentraties van IgG boven de drempelwaarde (Mila et al., 2014). Zoals eerder aangehaald, is het meten van gewichtsstijging of verlies in de eerste 24-48 uur een goede praktische indicator voor colostrumopname bij de pasgeborene pup.

Bepaalde anatomische en fysiologische verschillen bemoeilijken ook de behandeling van de neonaat met geneesmiddelen. Het hogere percentage water en het lagere percentage vetweefsel, de lagere concentratie van plasmatransporteiwitten, en de onvolledige rijping van de leverenzymkit en het hepato-renale systeem zijn van invloed op de dosering van vele geneesmiddelenklassen (Mathews, 2008; McMichael, 2008).

PREVENTIE

Het beperken van risicofactoren met betrekking tot gebrekkige ervaring van de fokker, de fokteef en de fokomgeving is een belangrijk punt in de preventie van neonatale sterfte (Peterson en Kutzler, 2011).

De keuze van de fokdieren is een kritiek punt: overmatige inteelt moet worden vermeden, er moeten gezonde fokdieren worden gebruikt en deze moeten worden getest op rassespecifieke genetische ziekten. Men houdt rekening met bepaalde factoren zoals de leeftijd van de teef: teven tussen twee en vier jaar oud hebben nesten met een lagere neonatale sterfte dan oudere dieren (Ogbu et al., 2016). De gedragsken-

merken van de moeder zijn een ander aspect dat moet worden beoordeeld met betrekking tot het vermijden van trauma bij de nakomelingen: overmatig likken, kannibalisme of moeilijkheden bij het zogen. Dergelijk gedrag herhaalt zich vaak bij de volgende nesten (Lezama-García et al., 2019) en daarom is het raadzaam moeders te selecteren met een goede houding ten opzichte van het grootbrengen van nakomelingen. Voorts is het van essentieel belang dat alle dieren in de groep regelmatig worden gevaccineerd. Ook moet worden overwogen om het moederdier te vaccineren tegen het herpesvirus (Casal, 2010).

De voeding van de teef en haar voedingstoestand zijn van invloed op de neonatale sterfte bij hondenbeslagen (Casal, 2010); een evenwichtige voeding helpt om dit tegen te gaan. Parasitaire aantastingen en infecties met *Salmonella* spp. kunnen het gevolg zijn van de consumptie van rauw voer (Freeman et al., 2013); daarom wordt deze voeding niet aanbevolen voor drachtige teven.

Ten slotte is de leefomgeving van de pups in de eerste levensweken een belangrijk punt voor de preventie van ziekte en sterfte in de neonatale fase. Dit moet methodisch gebeuren en gericht zijn op het creëren van de meest geschikte omgevingsomstandigheden voor de pasgeborene. De omgeving en de werpkist moeten zodanig zijn ontworpen dat de teef en pups stressvrij en hygiënisch kunnen gehuisvest worden. Daarvoor is het raadzaam materialen te gebruiken die gemakkelijk te reinigen zijn; dit om infecties te voorkomen.

Om het welzijn van de teef te waarborgen, moet bovendien de omgeving geventileerd worden en de kamertemperatuur moet rond de 24-25°C liggen, zodat de nodige warmte aan de pups kan geboden worden. Als de pups van hun moeder moeten worden gescheiden (Figuur 3), moet hen in de eerste levensweek een kamertemperatuur van 29-32°C geboden worden, dalend tot 26°C in de tweede week (Monson, 1987). Het is belangrijk de omgeving zo te ontwerpen dat de zuigelingen de gelegenheid hebben de ideale temperatuur te kiezen door middel van een plaatselijke warmtebron waar ze kunnen onder liggen of zich van kunnen verwijderen. Te veel warmte geven is een veelgemaakte fout. Het veroorzaakt ademhalingsmoeilijkheden, uitdroging en daaruit voortvloeiende constipatie bij de neonaten (Peterson en Kutzler, 2011).

CONCLUSIE

De conclusie is dat verschillende factoren van invloed zijn op de neonatale mortaliteit en morbiditeit bij honden. Op het gebied van preventie is de rol van de dierenarts fundamenteel, omdat inzicht in de oorzaken van al dan niet infectieuze ziekte of sterfte het mogelijk maakt therapeutische of ten minste beschermende maatregelen te treffen voor de overlevende pups. Indien nodig, dienen de omstandigheden die de

gezondheid en de overleving van pasgeborenen in gevaar brengen, gewijzigd te worden.

REFERENTIES

- Askaa J., Jacobsen K.B., Sørensen M. (1978). Neonatal infections in puppies caused by *Escherichia coli* serogroups 04 and 025. *Nordisk Veterinaermedicin* 30(11), 486-488.
- Batista M., Moreno C., Vilar J., et al. (2014). Neonatal viability evaluation by Apgar score in puppies delivered by cesarean section in two brachycephalic breeds (English and French bulldog). *Animal Reproduction Science* 146(3-4), 218-226.
- Casal M. (2010). Management and critical care of the neonate. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*. Gloucester, UK, British Small Animal Veterinary Association, pp 135-154.
- Chastant-Maillard S., Aggouni C., Albaret A., et al. (2017). Canine and feline colostrum. *Reproduction in Domestic Animals* 52, 148-152.
- Chastant-Maillard S., Mila H. (2019). Passive immune transfer in puppies. *Animal Reproduction Science* 207, 162-170.
- Concannon P.W., England G., Verstegen III J., et al. (2020). Recent advances in small animal reproduction. *International Veterinary Information Service*.
- Dahlbom M., Johnsson M., Myllys V., et al. (2009). Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucella canis* in Finnish breeding kennels with and without reproductive problems. *Reproduction in Domestic Animals* 44(1), 128-131.
- Dahlinger J., Marks S.L., Hirsh D.C. (1997). Prevalence and identity of translocating bacteria in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 11(6), 319-322.
- Moura E., Pimpão C.T. (2017). Cleft lip and palate in the dog: medical and genetic aspects, designing strategies for cleft lip and palate care. Mazen Ahmad Almasri, IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/67049>.
- Freeman L.M., Chandler M.L., Hamper B.A., Weeth L.P. (2013). Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 243(11), 1549-1558.
- Go L.L., Ford H.R., Watkins S.C., et al. (1994). Quantitative and morphologic analysis of bacterial translocation in neonates. *The Archives of Surgery* 129(11), 1184-1190.
- Groppetti D., Rivasio G., Bronzo V., et al. (2015). The role of birth weight on litter size and mortality within 24h of life in purebred dogs: What aspects are involved? *Animal Reproduction Science* 163, 112-119.
- Hawthorne A.J., Booles D., Nugent P.A., et al. (2004). Body-weight changes during growth in puppies of different breeds. *The Journal of Nutrition* 134(8), 2027-2030.
- Hillman N.H., Kallapur S.G., Jobe A.H. (2012). Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life. *Clinics in Perinatology* 39(4), 769-783.
- Lamm C.G., Ferguson A.C., Lehenbauer T.W., et al. (2010). Streptococcal infection in dogs: a retrospective study of 393 cases. *Veterinary Pathology* 47(3), 387-395.
- Lamm C.G., Njaa B.L. (2012). Clinical approach to abortion, stillbirth, and neonatal death in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 42(3), 501-513.
- Lavelly J.A. (2006). Pediatric neurology of the dog and cat. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 36(3), 475-501.
- Lawler D.F. (2008). Neonatal and pediatric care of the puppy and kitten. *Theriogenology* 70(3), 384-392.
- Lee J.A., Cohn L.A. (2017). Fluid therapy for pediatric patients. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 47(2), 373-382.
- Lezama-García K., Mariti C., Mota-Rojas D., et al. (2019). Maternal behaviour in domestic dogs. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 7(1), 20-30.
- Low J.A., Muir D.W., Pater E.A., et al. (1991). The association of intrapartum asphyxia in the mature fetus with newborn behaviour. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 165, 1157-1158.
- Mathews K.A. (2008). Pain management for the pregnant, lactating, and neonatal to pediatric cat and dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 38(6), 1291-1308.
- McMichael M. (2008). Critically ill neonatal and pediatric patients. In: Silverstein DC, Hopper K (editors): *Small Animal Critical Care Medicine*. St. Louis, Missouri, USA, Elsevier, Saunders, pp 820-824.
- Meloni T., Martino P.A., Grieco V., et al. (2014). A survey on bacterial involvement in neonatal mortality in dogs. *Veterinaria Italiana* 50(4), 293-299.
- Mila H., Feugier A., Grellet A., et al. (2014). Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Preventive Veterinary Medicine* 116 (1-2), 209-213.
- Mila H., Grellet A., Feugier A., et al. (2015). Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. *Journal of Animal Science* 93(9), 4436-4442.
- Mila H., Grellet A., Delebarre M., et al. (2017). Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Preventive Veterinary Medicine* 143, 11-20.
- Milani C., Corró M., Drigo M., et al. (2012). Antimicrobial resistance in bacteria from breeding dogs housed in kennels with differing neonatal mortality and use of antibiotics. *Theriogenology* 78(6), 1321-1328.
- Monson W.J. (1987). Orphan rearing of puppies and kittens. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 17(3), 567-576.
- Mugnier A., Mila H., Guiraud F., et al. (2019). Birth weight as a risk factor for neonatal mortality: Breed-specific approach to identify at-risk puppies. *Preventive Veterinary Medicine* 171, 104746.
- Mugnier A., Chastant-Maillard S., Mila H., et al. (2020). Low and very low birth weight in puppies: definitions, risk factors and survival in a large-scale population. *BMC Veterinary Research* 16(1), 354.
- Münnich A., Grüssel T., Leopold T. (1995). Experiences in diagnosis and therapy of puppy diseases in the first days of life. *Tierärztliche Praxis* 23(5), 497-501.
- Münnich A., Lübke-Becker A. (2004). *Escherichia coli* infections in newborn puppies--clinical and epidemiological investigations. *Theriogenology* 62(3-4), 562-575.
- Münnich A. (2008). The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. *Veterinary Research Communications* 32, 81-85.
- Münnich A., Küchenmeister U. (2014). Causes, diagnosis and therapy of common diseases in neonatal puppies in the first days of life: cornerstones of practical approach. *Reproduction in Domestic Animals* 49, 64-74.

- Nobre Pacifico Pereira K.H., Cruz Dos Santos Correia L.E., Ritir Oliveira E.L., et al. (2019). Incidence of congenital malformations and impact on the mortality of neonatal canines. *Theriogenology* 140, 52-57.
- Ogbu K.I., Ochai S.O., Danladi M.M.A., et al. (2016). A review of neonatal mortality in dogs. *International Journal Life Sciences* 4, 451-460.
- Peterson M.E., Kutzler M.A. (2011). The first 12 months of life. In: da Silverstein D.C., Hopper K. (editors). *Small Animal Pediatrics*. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier, Saunders, pp 11-27.
- Proctor-Brown L.A., Cheong S.H., Diel de Amorim M. (2019). Impact of decision to delivery time of fetal mortality in canine caesarean section in a referral population. *Veterinary Medicine and Science* 5, 336-344.
- Ronsse V., Verstegen J., Onclin K., et al. (2004). Risk factors and reproductive disorders associated with canine herpesvirus-1 (CHV-1). *Theriogenology* 61(4), 619-636.
- Ronsse V., Verstegen J., Thiry E., et al. (2005). Canine herpesvirus-1 (CHV-1): clinical, serological and virological patterns in breeding colonies. *Theriogenology* 64(1), 61-74.
- Rosset E., Rannou B., Casseleux G., et al. (2012). Age-related changes in biochemical and hematologic variables in Borzoi and Beagle puppies from birth to 8 weeks. *Veterinary Clinical Pathology* 41(2), 272-282.
- Rota A., Dogliero A., Biosa T., et al. (2020). Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in breeding dogs with or without vaccination in Northwest Italy. *Animals* 10(7), 1116. doi: 10.3390/ani10071116. PMID: 32610623; PMCID: PMC7401649
- Schäfer-Somi S., Spargser J., Breitenfellner J., et al. (2003). Bacteriological status of canine milk and septicaemia in neonatal puppies-a retrospective study. *Journal of Veterinary Medicine. B. Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 50(7), 343-346.
- Schrank M., Mollo A., Contiero B., et al. (2019). body-weight at birth and growth rate during the neonatal period in three canine breeds. *Animals* 10(1), 8. doi: 10.3390/ani10010008. PMID: 31861520; PMCID: PMC7022297.
- Simon L.V., Hashmi M.F., Bragg B.N. (2020). APGAR Score. Treasure Islands (FL): StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29262097>.
- Szatmári V., van Leeuwen M.W., Teske E. (2015). Innocent cardiac murmur in puppies: prevalence, correlation with hematocrit, and auscultation characteristics. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29(6), 1524-1528.
- Takizawa T., Hashimoto K., Minami T., et al. (1999). The comparative arthropathy of fluoroquinolones in dogs. *Human & Experimental Toxicology* 18(6), 392-399.
- Tønnessen R., Borge K.S., Nødtvedt A., et al. (2012). Canine perinatal mortality: a cohort study of 224 breeds. *Theriogenology* 77(9), 1788-1801.
- Vannucchi C.I., Silva L.C., Lúcio C.F., et al. (2012). Prenatal and neonatal adaptations with a focus on the respiratory system. *Reproduction in Domestic Animals* 47(6), 177-181.
- Vassalo F.G., Simões C.R., Sudano M.J., et al. (2015). Topics in the routine assessment of newborn puppy viability. *Topics in Companion Animal Medicine* 30(1), 16-21.
- Veronesi M.C., Panzani S., Faustini M., et al. (2009). An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology* 72(3), 401-407.
- Veronesi M.C., Castagnetti C., Taverne M.A.M. (2013). Neonatologia veterinaria. Napoli: EdiSES, pp. 93-144.
- Veronesi M.C. (2016). Assessment of canine neonatal viability-the Apgar score. *Reproduction in Domestic Animals* 51, 46-50.
- Verstegen J., Dhaliwal G., Verstegen-Onclin K. (2008). Canine and feline pregnancy loss due to viral and non-infectious causes: a review. *Theriogenology* 70(3), 304-319.



Ethernarcose: niet ongevaarlijk voor de dierenarts (1848)

Halverwege de negentiende eeuw beschikten ook dierenartsen over primitieve gasanesthesie met chloroform en ether. Dat die gassen niet ongevaarlijk waren voor de behandelende dierenarts spreekt vanzelf. Naast de toxische effecten van langdurige blootstelling, waren er ook te duchten acute effecten. Die zien we geïllustreerd in wat dierenarts F.H. van Dommelen (Baarn, Nederland) in 1848 overkwam bij een ‘aetherisatie’.

Voor een ingreep bij een merrie die leed aan sinusitis maxillaris werd ‘eene groote met aether sulphureus (ethylether, narcose-ether) gesatureerde spons met de hand zonder het (gebruikelijke) omhulsel (vermoedelijk een gedroogde varkensblaas) in het bovenliggende neusgat gehouden. Tijdens de operatie werd van Dommelen zo duizelig dat hij moest opstaan, het hoofd natmaken en over en weer lopen om weer beter te worden. Hij heeft de operatie (vermoedelijk trepanatie; Figuur 1) wel kunnen beëindigen, maar hij werd zo ziek dat hij ‘herhaalde malen moest worden adergelaten’. Eerst na tien dagen ‘konde hij gered genoemd worden’. Het gevolg was wel ‘dat hij niet licht weer tot aetherisatie van een dier zou overgaan; zeker niet bij operaties aan het hoofd’.

Naar een fragment uit: Moons, M.A. (1987). De praktijk in de jaren '60 van de vorige eeuw. *Diergeneeskundig Memorandum*, 34, 216-223. Oorspronkelijk door van Dommelen zelf gepubliceerd in *Het Repertorium. Tijdschrift voor Geneeskunde in al haren omvang* (1847-1854).

Luc Devriese
Met dank aan Paul Tavernier



Figuur 1. Trepanator, model Brogniez, collectie Museum Diergeneeskundig Verleden Merelbeke.

Rabiës aan het einde van de 19^{de} eeuw Korte beschrijving aan de hand van een verdacht geval in Kruishoutem (1889)

¹C. Van der Meeren, ²J. De Smet, ²L. Devriese

¹IJzerbergstraat 5, B 9770 Kruisem

²Museumcollectie Diergeneeskundig Verleden Merelbeke, Faculteit Diergeneeskunde,
Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B 9820 Merelbeke

Chris.vandermeeren@skynet.be

INLEIDING

In 2022 was het tweehonderd jaar geleden dat Louis Pasteur geboren werd (Dole, Franche-Comté) in het oosten van Frankrijk. Hij was een van de grondleggers van de bacteriologie en weerlegde definitief de theorie van de spontane generatie (leven ontstaat spontaan uit levenloze materie). Als eerste ontwikkelde hij efficiënte vaccins tegen vogelcholera (*Pasteurella multocida*), miltvuur (*Bacillus anthracis*) en vlekziekte (*Erysipelothrix rhusiopathiae*). Ook al wist Louis Pasteur niet dat razernij door een virus werd veroorzaakt, toch kon hij in 1885 een werkzaam rabiësvaccin produceren. Vooral dit vaccin tegen de gevreesde razernij (rabiës) maakte hem wereldberoemd (Figuur 1). Hij zou daardoor het leven redden van duizenden mensen die gebeten waren door honden met rabiës besmet.

Maar hoe ging men voordien te werk om deze verschrikking in te perken? Aan miraculeuze tussenkomsten door Sint-Hubertus hechtte men in de tweede helft van de negentiende eeuw alsminder geloof. Door de overheid opgelegde quarantaine nam de plaats in. Hieronder wordt beschreven welke maatregelen de Oost-Vlaamse gemeente Kruishoutem in 1873 nam bij een van rabiës verdachte hond, op voorschrift van de plaatselijke veearts. Het dier bleef gelukkig symptomeloos en de maatregelen werden na één maand opgeheven.

VACCINS GEBASEERD OP LEVENDE VERZWAKTE AGENTIA

Voor rabiës paste Pasteur een procedé toe gebaseerd op zijn ervaringen met bacteriën: afzwakken door overentingen (passages) in kweekomstandigheden of in diersoorten die ongeschikt waren om de virulente kiemen goed te laten vermenigvuldigen. Miltvuur, bijvoorbeeld, is een ziekte die bij runderen septicemie veroorzaakt met hyperacute sterfte, en die ook voor mensen uiterst gevaarlijk is. In 1876 al had de Duitse bacterioloog Robert Koch (1843-1910) de

verwekker als *Bacillus anthracis* geïdentificeerd. Pasteur kweekte deze bacterie uit het bloed van aangestaste dieren. De toediening aan runderen bleek dodelijk te zijn. In 1881 ontdekte hij dat de bacterie haar besmettelijkheid verliest wanneer ze gekweekt wordt bij 42°C. Zo kon hij een miltvuurvaccin ontwikkelen.

Op een gelijkaardige manier ontwikkelde Pasteur ook een vaccin tegen vlekziekte bij varkens. De ziekteverwekker *Erysipelothrix rhusiopathiae* werd afgezwakt door passage in duiven en konijnen. Zijn grootste bekendheid verwierf Pasteur echter met een vaccin tegen de dodelijke hondsdoelheid of rabiës. Hij kon het



Figuur 1. Standbeeld van Pasteur in Arbois. Op het zijpaneel zien we, onder meer, hoe kinderen gerust kunnen spelen met de hond, zonder vrees rabiës op te lopen (Foto 2022, Van der Meeren).

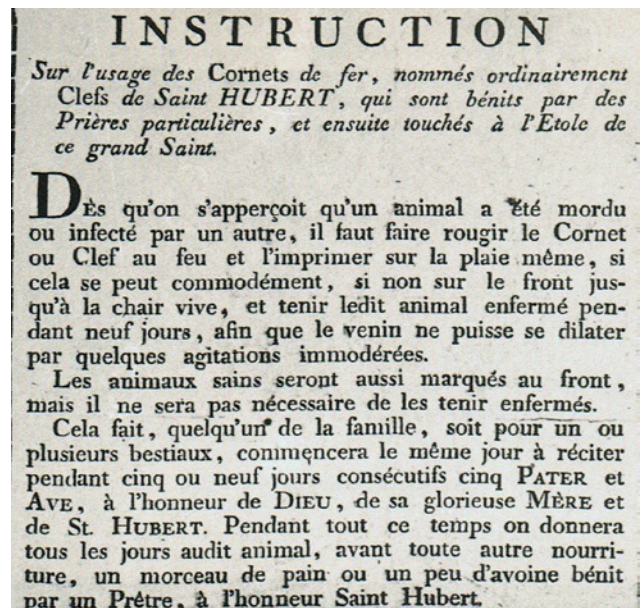
virus afzwakken door passage in konijnen en het drogen van het geïnfecteerd zenuwweefsel. Hij testte zijn vaccin uit op vijftig honden (later is gebleken dat het er maar elf waren) alvorens het in 1885 toe te passen op een mens, de negenjarige Joseph Meister die door een dolle hond gebeten was. Hierbij nam Pasteur een deontologisch risico, want hij was geen medicus. Hij inoculeerde de jongen dertien keer in elf dagen, waarbij hij telkens virusmateriaal gebruikte dat minder afgezwakt was dan het vorige. Joseph Meister overleefde en werd drie maanden later genezen verklaard.

RABIËS IN DE 19DE EEUW

In de jaren tachtig van de 19^{de} eeuw kwam razernij in West-Europa nog vrij veel voor. Belgische kranten maakten toen geregeld gewag van afgemaakte razende honden of katten, al dan niet na bijtincidenten. Niet zelden werden sterfgevallen van mensen beschreven waarbij telkens de nadruk werd gelegd op hun helse doodsstrijd. Voordat Pasteur zijn vaccin ontwikkelde, was er slechts één remedie: zo snel mogelijk de bijtwonde(n) uitbranden met een gloeiend ijzer! Katholieken trokken daarna bijna altijd stante pede op bedevaart naar het stadje Saint-Hubert, waar een variëteit van dit uitbranden aanbevolen werd (Figuur 2). Vanaf 1886 zien we een kentering: de kranten beschrijven hoe de meeste gebeten personen per trein naar het instituut van Pasteur in Parijs vertrekken om zich te laten vaccineren, al dan niet voorafgegaan door een ‘uitbranding der wonde’. Toch bleven sommigen nog zweren bij een bedevaart naar de H. Hubertus.

VERDACHT GEVAL IN KRUISSHOUTEM

Het laatste menselijk sterfgeval door rabiës in Kruishoutem dateert van 1874. Op 26 november van dat jaar overleed de tienjarige Ferdinand Verween aan de ziekte. De meeste veeartsen werden in die tijd met razernij geconfronteerd. Zo ook Amand De Meestere in Kruishoutem. Een drietal meldingsbrieven naar de burgemeester laten ons toe een casus te reconstrueren. Op 7 juli 1889 wordt De Meester ontboden bij koetsier Vurcke wiens beide honden in de buurgemeente Bevere in contact kwamen met een rabide hond. De Meestere besluit één dier op te offeren (*sacrifier*) voor onderzoek en hij beveelt de andere stevig vast te maken in een afsluitbare loods gedurende zes à acht weken. Hij verwittigt meteen de burgemeester en adviseert dat deze regelmatig de champetter (*garde champêtre*, veldwachter) laat controleren of de hond wel degelijk opgesloten blijft. Bovendien moeten vanaf dan alle honden op de openbare weg gemuilband worden, behalve de ‘werkende jachthonden en schaaphonden’. Op 9 augustus onderzoekt De Meestere de hond opnieuw. Hij stelt geen enkele afwijking vast en laat de isolatie opheffen. Hij wijst er de eigenaar op bij de minste gedragsverandering de veearts te ont-



Figuur 2. Instructie voor het gebruik bij dieren van de ‘Hubertussleutel’ in de vorm van een posthoorn (*cornet de fer*). Dit instrument, met houten handvat, moet gloeiend op de bijtwonde of op het voorhoofd van het gebeten dier gedrukt worden, waarna een isolatieperiode van negen dagen (*novene*) volgt, waarin dagelijks door een familielid gebeden worden opgezegd. Gedeeltelijke kopie van een brochure zonder jaartal, destijds verkrijgbaar in de hoofdkerk van Saint-Hubert (collectie Diergeneeskundig Verleden Merelbeke).

bieden. De burgemeester wordt hiervan op de hoogte gebracht en het muilbandgebod wordt opgeheven.

SLOTBEMERKING

Gelukkig liep dit goed af. De plaatselijke overheden hadden geen problemen om de quarantaine degelijk te doen toepassen: de bevolking wist heel precies welke vreselijke ziekte rabiës was. De schrik zat er goed in. De opgelegde quarantaine duurde duidelijk langer dan de gebruikelijke negen dagen (*novene*: zie onderschrift Figuur 2).

Met dank aan Mark Adriaen voor inlichtingen over de Sint-Hubertussleutel

BRONNEN

Bevolkingsregister Kruishoutem, 1866–1880, overlidensoorzaak code 27: razernij.
Gemeentelijk Archief Kruisem, doos 467, landbouwtellingen 1811–1897.



© 2023 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/>).

RABIËSPREVENTIE EN -BEHANDELING IN 1908-1909

Koninklijk Besluit van 29 oktober 1908:

Elke hond die zich op de openbare weg bevindt moet een medaille dragen waarop de gemeente vermeld is en een volgnummer, zodat de eigenaar in de gemeenteregisters opgespoord kan worden. Honden van rondzwervers en foorkramers moeten gemuilband zijn en aan de ketting gehouden worden. Een hond die van razernij verdacht wordt moet door de eigenaar opgesloten worden. Er moet aangifte gedaan worden bij de burgemeester. De plaatselijke politie verwittigt een aangenomen veearts om de hond te onderzoeken. Wordt razernij vastgesteld, dan wordt de hond onmiddellijk gedood, en elk ander dier dat met de razende hond in aanraking kwam ondergaat hetzelfde lot. De burgemeester laat plakbrieven uithangen. Hij verwittigt ook de burgemeesters van de omliggende gemeenten, die op hun beurt de bevolking met plakaten inlichten. De provinciegouverneur wordt van de feiten op de hoogte gebracht. Vanaf dat ogenblik mag geen hond nog op straat aangetroffen worden zonder muilband, en dit gedurende drie maanden. Honden in overtreding worden gevangen en na drie dagen gedood als hun eigenaar niet komt opdagen. De eigenaar kan zijn hond terugkrijgen mits betaling van de kosten.

Ministerieel Besluit van 30 oktober 1908, aangevuld met de Ministeriële Besluiten van 8 januari, 30 april en 7 augustus 1909:

Het model van de medaille en de types van reglementaire muilbanden worden vastgesteld. Andere modellen mogen niet verkocht worden.

Ministeriële omzendbrief van 10 december 1908 aan de provinciegouverneurs:

Nauwlettend toezicht door de politie is noodzakelijk. Dit kan in de hand gewerkt worden met premies aan de agenten die het best het reglement doen naleven. Die premies worden teruggevorderd aan de eigenaars bij het ophalen van hun hond.

Volksonderrichting aangaande de razernij:

De kentekens van razernij worden opgesomd, waarin de drift tot bijten, de stemverandering en de gapende muil de belangrijkste zijn. Het karakter van de hond en zijn eetpatroon verandert, soms zijn er jeukverschijnselen en braken. Oriëntatiestoornissen treden op, ongevoeligheid (zelfs bij branden met een gloeiend ijzer) en verlamingsverschijnselen. Er wordt benadrukt dat er geen sprake is van watervrees, maar van onmacht om het water in te slikken, en er zijn geen krampen zoals bij vallende ziekte. De dood volgt na drie tot zes dagen. Er wordt een onderscheid gemaakt tussen 'woedende' en 'stille' dolheid. Ook katten zijn niet vrij van rabiës.

Aangezien bewezen is dat het speeksel van een razende hond 24 en soms 48 uur vóór het verschijnen van symptomen besmettelijk is, dus drie of vier dagen vóór het klaarblijkelijk bestaan van de ziekte, wordt elk dier dat binnen de vier voorafgaande dagen door een razende hond gebeten werd als besmet beschouwd. Het moet dus gedood worden.

In geval de hond onmiddellijk gedood wordt is niet alleen een lijkschouwing noodzakelijk, maar ook een microscopisch onderzoek van het zenuwstelsel en een proefinoculatie. Die bestaat in het inenten van konijnen met hersenmateriaal van het verdacht dier. Daartoe wordt de kop naar het Pasteur Instituut in Brussel gestuurd.

Bij personen die gebeten zijn is het noodzakelijk het virus te vernietigen vóór het opgeslorpt is. Dit gebeurt door wondbehandeling en door de gecombineerde toediening van vaccin en antistoffen (methode Pasteur). Behandeling van de wonde gebeurt met een gloeiend ijzer of een caustisch middel (salpeterzuur, zwavelzuur, zoutzuur of chloorantimonium). Als de wonde niet kan uitgebrand worden moet men de meest bijtende ontsmettingsmiddelen gebruiken (jodiumtinctuur, terpentijnolie, javelwater, citroensap, creoline, bijtend sublimaat ...). Ook als het enkel om verdachte gevallen gaat, moet men de gecombineerde vaccin-antistoftherapie volgens Pasteur toepassen. Die behandeling is onschadelijk.

Licht aangepaste versie van de brochure *Voorkoming der razernij* uitgegeven door het Ministerie van Binnenlandsche Zaken en Landbouw, Bestuur Gezondheidsdienst, Brussel, 1909.

Met dank aan Johan Vanmarcke (Lyon)
en aan René Piroird, archivaris van het Musée Mérieux
in Marcy l'Etoile (bij Lyon).

HOE ZINVOL ZIJN SEROLOGISCHE ALLERGIE-TESTEN BIJ EEN PAARD MET HUIDKLACHTEN?

VRAAG

Hoe zinvol zijn serologische allergietesten bij een paard met huidklachten?

ANTWOORD

Vooreerst is en blijft de diagnose van allergische dermatitis een klinische diagnose gebaseerd op anamnese, huidonderzoek en uitsluiting van andere jeukende huidaandoeningen. Bij paarden met jeuk moet na het uitsluiten van infecties, ectoparasitaire infestaties en andere niet-allergische jeukende aandoeningen, eveneens de rol van insectenbeten uitgesloten worden door middel van een grondige insectencontrole alvorens de diagnose van atopische dermatitis te stellen (Anthony Yu, 2006). Allergietesten vormen (helaas misschien) geen “short cut” om tot een snelle diagnose van allergie te komen.

Allergietesten (zowel serologietesten als huidtesten) worden bij voorkeur niet als een diagnostische test beschouwd, want valspositieve (irritatiereacties) en valsnegatieve resultaten zijn steeds mogelijk. In die zin wordt door de World Academy for Veterinary Dermatology (WAVD) in de richtlijnen voor de diagnose van equine allergische huidaandoeningen aangegeven dat een positieve allergietest een ondergeschikt criterium is in de diagnose van allergie aangezien ook gezonde paarden positieve reacties kunnen vertonen.

Eigenlijk moeten de allergietesten gezien worden als een hulpmiddel om allergenen te selecteren die bij een paard kunnen gebruikt worden in een poging tot desensibilisering. Aangezien het succespercentage van allergeen-specifieke immunotherapie bovendien erg beperkt is bij paarden met zomereczeem (Ginel et al., 2014), wordt deze therapie het beste voorbehouden voor paarden met atopische dermatitis. Het desensibiliseren van paarden met atopische dermatitis geeft gunstige resultaten. Afhankelijk van de studie werd een verbetering gezien bij 56% tot 93% van de paarden. Hierbij valt op dat het succespercentage verhoogde naarmate de allergeen-specifieke immunotherapie langer werd toegediend. In een studie uitgevoerd in UC Davis werd een verbetering gerapporteerd bij 76,5% van de paarden na één jaar en bij 82% van de paarden na twee jaar (Stepnik et al., 2011). In deze studie werd verder aangegeven dat er geen verschil was in het succespercentage van ASIT gebaseerd op serologie of huidtesten.

Inzake verschillen tussen serologische testen en

intradermale testen zijn er verschillende punten aan te halen.

Eerdere studies geven een slechte correlatie tussen serologie en IDT aan (Lorch et al., 2001). Dit kan te wijten zijn aan het feit dat de bloedtest de hoeveelheid circulerend IgE meet, terwijl de huidtest de rechtstreekse reactiviteit op bepaalde allergenen in de huid aangebracht, aantoonde. Als er bijvoorbeeld veel IgE-antistoffen aanwezig zijn in de huid -en niet in het bloed- kan het zijn dat er een valsnegatieve IgE-serologietest weergegeven wordt.

Recent werd aangetoond dat CCD-activiteit de accurate van serologische testen negatief beïnvloedt. CCD's zijn kruisreactieve koolhydraten determinanten – koolhydraatketens die aangetroffen worden in glycoproteïnen. CCD's zijn een onderdeel van de structuur van veel allergieverwekkende eiwitten, vooral plantaardige allergenen, zoals pollen. Tijdens een allergische reactie wordt IgE geproduceerd tegen zowel de koolhydraatketens als de eiwitten van allergenen. Er werd in enkele studies aangetoond dat dit bij 30% van de mensen, honden en katten het geval is (Willemsse, 2004). Ook bij paarden werd de aanwezigheid van CCD's reeds aangetoond. Uit ander onderzoek blijkt dat IgE tegen CCD's klinisch irrelevant is. De inhibitie van IgE tegenover deze CCD zorgde voor een daling van het aantal positieve reacties tegenover pollen en had geen effect op reacties tegenover mijten (Enck et al., 2021). Inmiddels is bekend dat het verwijderen van CCD-specifiek IgE ervoor zorgt dat in-vitrotesten beter correleren met de gevoeligheid en specificiteit van intradermale huidtesten. CCD's blokkeren betekent dat de accurate van serologische testen zal verhogen. Deze techniek wordt in commerciële labo's reeds toegepast.

Tot slot is er in de humane allergologie nu de trend om zowel bloedtesten als huidtesten te gaan bepalen bij allergische patiënten. Met andere woorden men stapt af van het principe van slechts één allergietest. Gezien beide testen pro's en contra's hebben, schetst een combinatie van beide testen een vollediger beeld, dat natuurlijk nog steeds moet gecorrigeerd worden met de aanwezige jeuk.

REFERENTIES

Casey T. Stepnik, Catherine A. Outerbridge, Stephen D. White, Philip H. Kass (2011). Equine atopic skin disease and response to allergen-specific immunotherapy: a retrospective study at the University of California, Davis

- (1991- 2008). *Journal of Veterinary Dermatology* 23 (1), 29-e7.
- Equine allergic skin diseases : [https://Consensus Guidelines - World Association for Veterinary Dermatology \(SG\) \(wavd.org\)](https://Consensus Guidelines - World Association for Veterinary Dermatology (SG) (wavd.org))
- Enck K. M., et al. (2021). Detection and inhibition of IgE antibodies reactive with cross-reactive carbohydrate determinants in an ELISA for allergen-specific IgE in horses. *Journal of Veterinary Dermatology* 31, 23.
- Ginel P. J., Hernandez E., Lucena R., Bianco B., Novales M., Mozos E. (2014). Allergen- specific immunotherapy in horses with insect bite hypersensitivity: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Journal of Veterinary Dermatology* 25, 29-e10.
- Lorch G., Hillier A., Kwochka K., Saville W., Kohn C., LeRoy B. (2001). Comparison of immediate intradermal test reactivity with serum IgE quantitation by use of a radioallergosorbent test and two ELISA in horses with and without atopy. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218, 1314-1322.
- Lorch G., Hillier A., Kwochka K.W., et al. (2001). Results of intradermal tests in horses without atopy and horses with atopic dermatitis or recurrent urticaria. *American Journal of Veterinary Research* 62, 1051-1059.
- Yu A. (2006). Atopy. In depth selected topics in dermatology. *AAEP proceedings* 52, 466-468.
- Willemsse T. (2004). Atopische dermatitis bij de hond: therapeutische mogelijkheden. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 129, 402-408.
- Dr. S. Vandenabeele, Vakgroep Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, UGent 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.



CHAIR POULTRY HEALTH SCIENCES



Aan de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent werd in 2019 **de leerstoel Poultry Health Sciences** opgericht. Deze leerstoel is een samenwerking tussen de vakgroep Pathobiologie, Farmacologie en Bijzondere dieren met professoren Filip Van Immerseel en Siska Croubels als promotoren van de leerstoel en de twee Vlaamse bedrijven Vetworks en Poulpharm. Deze leerstoel werd opgericht om de brug te vormen tussen academisch onderzoek, onderwijs en de pluimveepraktijk en om de wereldwijde leidende rol van Vlaanderen in dit domein nog meer te versterken. Professor Gunther Antonissen werd

aangesteld als leerstoelhouder.

Door de toenemende bevolking, stijgende inkomens en verstedelijking zal de wereldwijde vraag naar voedsel van dierlijke oorsprong naar verwachting verder toenemen. Pluimveevlees en eieren zijn twee van de meest duurzame dierlijke eiwitbronnen. In 1960 was de wereldwijde consumptie van pluimveeproducten minder dan tien miljoen ton en in 2021 was dit al gestegen tot 120 miljoen ton. Tegen 2050 verwacht men dat dit verder zal groeien tot 180 miljoen ton. In de Europese Unie zal de productiegroei met 5% tot 14-15 miljoen ton in 2025 minder sterk zijn dan in andere delen van de wereld. De grootste toename van de pluimveeproductie wordt verwacht in Azië en Latijns-Amerika. Bovendien wordt het Afrikaanse continent ook steeds belangrijker als producent, maar ook als afnemer van pluimveeproducten. De pluimveesector wordt wereldwijd gekarakteriseerd door uiterst efficiënte productiesystemen en geavanceerde technologieën, aangestuurd door vele succesvolle bedrijven. Dit komt wereldwijd tot uiting in de geïntegreerde structuur van zeer veel pluimveebedrijven en een grote vraag naar getraind personeel.

Aan de andere kant tonen consumentenonderzoeken in Europa een toenemende trend om minder vlees te eten omwille van gezondheid, dierenwelzijn, milieu-impact en prijs als grootste drijfveren. Het is dan ook van essentieel belang voor de verdere ontwikkeling van de pluimveesector om deze bezorgdheden van deze consumenten ernstig te nemen en ook te investeren in kennisopbouw van hun medewerkers in deze thema's. Een succesvolle pluimveeproductie vereist opleiding van experts met een diepgaande kennis van diverse disciplines, zoals management, huisvesting en klimaatcontrole, ziektebestrijding, voeding, duurzaamheid



en dierenwelzijn. Bovendien heeft de pluimveesector nood aan fundamenteel en toegepast onderzoek om oplossingen te vinden voor actuele uitdagingen, zoals infectieuze en niet-infectieuze ziekten, maar ook voedselveiligheid, duurzaamheid en dierenwelzijn.

Postgraduaat “Poultry Health Sciences”

De pluimvee-industrie levert wereldwijd miljoenen banen. In de komende 10 jaar zullen duizenden gekwalificeerde medewerkers nodig zijn in de pluimvee industrie. Desondanks de pluimveesector gekenmerkt wordt door talrijke diverse job opportuniteiten is het aantal studenten die afstuderen in opleidingsprogramma's gericht op pluimveegezondheid zeer beperkt. In de pluimveesector zijn er banen beschikbaar voor zeer diverse disciplines, zoals bijvoorbeeld diergeneeskundige wetenschappen, farmaceutische wetenschappen, diervoeding, kwaliteitscontrole, duurzaamheid, milieuvriendelijke productie, dierenwelzijn, digitalisering, ontwikkeling van pluimveeproducten. Werknemers in de pluimvee-industrie hebben dan ook vaak niet voldoende vooropleiding met betrekking tot pluimveegezondheidswetenschappen. Bijgevolg is er een duidelijke behoefte aan een diepgaand opleidingsprogramma om professionelen in de pluimveesector van morgen op te leiden.

Daarom werd in 2021 een nieuwe Universiteit Gent postgraduaatsopleiding “Postgraduate in Poultry Health Sciences” opgestart. Deze opleiding is speciaal ontworpen op maat van studenten die werken en studeren combineren. Deze postgraduaatsopleiding is bedoeld om studenten op te leiden met een diverse opleidingsachtergrond met interesse in de pluimveegezondheidswetenschappen, niet alleen dierenartsen. De opleiding wordt aangeboden als een onlinecursus die wordt aangevuld met in totaal vijf weken praktische oefeningen en twee weken stage. Online- en afstandsonderwijs bieden studenten de flexibiliteit om overal en altijd via internet te studeren. In deze nieuwe online-postgraduaatsopleiding wordt gebruik gemaakt van een innovatieve activerende onderwijsmethode, waarbij de mogelijkheid tot interactie tussen lesgever en student gewaarborgd blijft. Door deze online-opleiding te combineren met korte sessies van praktische oefeningen kunnen studenten zowel diepgaande theoretische als praktische kennis verwerven. Door deze cursus wereldwijd aan de bieden in verschillende regio's, zal de UGent intelligente, dynamische en ambitieuze studenten met interesse voor pluimvee over heel de wereld kunnen opleiden. Praktische oefeningen zullen lokaal worden georganiseerd in verschillende regio's in de wereld (Europa (België), Azië (Vietnam

en Filippijnen), Zuid-Amerika (Brazilië en Colombia)). Deze postgraduaatsopleiding wordt georganiseerd onder leiding van de leerstoelhouder van de leerstoel Poultry Health Sciences met de ondersteuning van tal van andere UGent-professoren, internationale experts en experts uit het veld.

Onderzoek

De onderzoeksgroep van prof. Antonissen richt zich zowel op het beter begrijpen van het ziekteverloop van infectieuze en niet-infectieuze aandoeningen, het verbeteren van de diagnostiek, het verbeteren van dierenwelzijn, alsook op het aantonen van de werkzaamheid en veiligheid van preventie en behandelingsstrategieën. Het huidige onderzoek is gerelateerd aan mycotoxinen (bijvoorbeeld invloed op diergezondheid, interactie met infectieziekten, werkzaamheid en veiligheid van mycotoxinebinders), darmgezondheid (bijvoorbeeld diagnostiek, invloed van vroege voeding en veevoeder additieven), gastheer-pathogeeninteractie, antibioticaresistentie en dierenwelzijn (bijvoorbeeld invloed van vroege voeding en het gebruik van verschillende types van sensors om het gedrag en de welzijnsstatus van vleeskuikens meer automatisch te voorspellen). Voor dit onderzoek werkt het team samen met verschillende andere nationale en internationale onderzoeksinstituten, maar ook met tal van bedrijven actief in de pluimvee industrie.

Vind de juiste werker voor je bedrijf

www.mediaservice.be

Plaats je
personeelsadvertentie in
Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift
en krijg 15% korting.



129418M100133 © SHUTTERSTOCK

Mediaservice 
gericht adverteren



De Ieperse Dierenartsen Kring

De Ieperse Dierenartsen Kring (IDK) werd vermoedelijk eind jaren 1970 opgericht door wijlen Gilbert Dequidt. De exacte datum is onbekend, gezien er geen notulen te vinden zijn. Het aantal leden groeide jaar na jaar tot ongeveer een tweehonderdtal. Dat maakt ons tot de derde grootste dierenartsenkring, na de Limburgse en de Brugse. Onze actieradius is de onderste helft van West-Vlaanderen; men kan ook bij meerdere kringen aansluiten.

In de periode eind 1980, halfweg 1990 bestond het bestuur uit een mix van jonge en oudere dierenartsen waarin wijsheid en enthousiasme gebundeld werden. De Code met minimumtarieven bestond toen nog en de tarieven lieten we zo. Wel slaagden we er, deels tot onze verbazing, in een regeltje aan de Code te laten toevoegen met als doel de ‘autostradedierenartsen’ aan te pakken. Eén weldoordacht, rechtsmatig correct regeltje dat deze praktijken liet verdwijnen. Maar twee maanden later waren we opnieuw verbaasd, want het regeltje was immers “verdwenen”. Wat “achter onze rug” gebeurd was, kon niet door de beugel. Uit onvrede met de gang van zaken deden we een oproep aan onze leden om het lidgeld voor De Orde te betalen op een apart, geblokkeerd rekeningnummer. De respons hierop was buiten alle verwachtingen. Het was op zich niet tegen de Orde gericht, maar we waren van mening dat de communicatie heel wat beter kon. Het was een soort beeldenstorm, maar met succes, want plots bleek communicatie wel mogelijk. Uiteindelijk viel alles in zijn plooi. Deze actie werd alleen door de IDK gevoerd, want toen was er nog geen sprake van interregionale werking.

Na dit voorval wilde de Ieperse kring iemand in de Orde krijgen. De oprichter, Gilbert Dequidt, was bereid zich kandidaat te stellen, op voorwaarde dat

er iets aan de gevraagde tarieven zou veranderen. Er was de ‘actie 3000’, toen nog in Belgische frank. Het ging over de minimumtarieven voor keizersneden bij runderen. Voor een keizersnede werd 2200 frank gevraagd, wij streefden naar 3000 frank; het minimum was 3300! De actie deinde uit naar heel West-Vlaanderen en een deel van Oost-Vlaanderen. We waren bijna 100 % geslaagd in ons opzet. Zelfs tegenstanders van het eerste uur draaiden bij.

De IDK liet een softwareprogramma ontwikkelen, waarvan ook een light versie bestaat, om alles omtrent bijscholingen en lidgeld te digitaliseren. Intussen gebruiken alle kringen dit met grote voldoening. Het neemt het bestuur heel wat werk uit handen. Daardoor konden we al voor de tweede keer verkiezingen digitaal organiseren. Al jaren versturen we geen briefmatige post meer, wat ons in dank afgenomen wordt.

De verplichte bijscholingen gaven de regionale werkingen een duw in de rug. Er was telkens een massale opkomst. Jammer genoeg lukt dat momenteel minder dan voorheen. Covid-19 was ook hier spelbreker. Sinds we weer van start gingen, is er een opkomst van 60%, maar de eerste tekenen van ’23 wijzen op een, hopelijk, volledig herstel. Ook andere dierenartsenkringen zien/zagen dalende cijfers. Bijscholingen zijn verplicht, maar er zijn de dag van vandaag tal van alternatieven. Er worden bijvoorbeeld ook veel webinars aangeboden die dierenartsen al dan niet uitgesteld kunnen volgen. Ze kiezen het moment zelf en hoeven zich niet te verplaatsen, maar missen wel het direct contact met de collega’s. Napraten na een bijscholing gebeurt nog, maar eerder beperkt. Samen een Duvel drinken is nochtans beter dan elkaar den duvel willen aandoen.

Dierenartsenkringen bieden wel bijscholingen, maar het belangrijkste streefdoel is om mensen samen te brengen. Net als in andere kringen is het ook voor IDK moeilijker om voldoende deelnemers voor sociale activiteiten te vinden. Momenteel organiseren we er al enkele jaren geen meer, maar we zijn hoopvol om dit met succes opnieuw te lanceren dit jaar.

Door corona kon het natuurlijk niet, maar ook daarvoor stond het al op een lager pitje. Oorzaken zijn velerlei: jonge gezinnen, tweeverdieners, een druk sociaal leven, waardoor er minder ruimte is voor de IDK-werking. Het is een combinatie van factoren.

Een enquête werd verstuurd om te achterhalen wat de leden de beste aanpak vinden. Blij met het aantal antwoorden, minder blij of misschien toch met de uitkomst die luidde: doe zo verder!

In het najaar 2022 zijn er opnieuw verkiezingen geweest en met twee nieuwe vrouwelijke leden gaan we geleidelijk aan naar een evenwichtige man-vrouwverhouding binnen het bestuur.

Alle dierenartsen zouden dolgelukkig moeten zijn nu er eindelijk een vertegenwoordiging van hun beroep is na jaren van twist en tweedracht. Deze mensen die het voortouw nemen en hun schouders onder dit werk zetten, verdienen ons volste respect. Hopelijk groeit de naamsbekendheid verder door alsook het aantal leden. Je hoeft niet actief te zijn, liefst wel, maar je lidgeld is een financiële ondersteuning en blijk van appreciatie. Alleen zo hebben de dierenartsen meer zeggenschap bij onderhandelingen met onze beleidsmakers. Niet-leden beseffen blijkbaar nog niet dat er in Brussel maar één wet telt: het ledenaantal van de groep die je vertegenwoordigt. Dan pas kan je wegen op het beleid.

Vooruit met die geit!

Bernard Verhaeghe

Vice-voorzitter

Met dank aan Dierenarts-voorzitter Bert Vangheluwe voor het nalezen van de tekst



Sint Truidersteenweg 193
3700 Tongeren
info@savab.be

IPV: Heupdysplasie van pup tot senior hond

18/04/2023 13:30 – 17:00

Faculteit Diergeneeskunde (UGent), Auditorium D, Merelbeke (ingang 19)

Heupdysplasie is een gekend en veel voorkomend probleem bij de hond. De vragen omtrent heupdysplasie komen in eerste instantie naar voor bij de aanschaf van een pup. Zijn er rassen zonder heupdysplasie? Zijn de ouders aan de hand van beeldvorming getest voor heupdysplasie? Zijn de ouders of de pup genetisch getest (en hoe betrouwbaar is dit resultaat)? Eens een pup bij zijn nieuwe baasje terecht is gekomen, komt de volgende reeks vragen naar boven. Kan te veel beweging heupdysplasie veroorzaken? Mag mijn pup springen? Wat is het belang van voeding en een optimaal gewicht? En indien er dan toch een diagnose gesteld wordt van heupdysplasie zijn er uiteraard vragen over mogelijke behandelingen die kunnen variëren van bewegingsadvies, fysiotherapie, voedingssupplementen, medicatie tot chirurgie. Tijdens deze lezing zullen we proberen deze vragen te beantwoorden vanuit wetenschappelijk ondersteunde informatie en nieuwe inzichten omtrent behandelingen mee te geven.

Inschrijving: <https://acvetmed.ugent.be/programma/kleine-huisdieren>.

IPV: Agressie bij de kat naar bekende en onbekende personen

28/04/2023 – Faculteit Diergeneeskunde (UGent)

Door het sociale gedrag van katten te onderzoeken en na te gaan hoe dit de uitdrukking, de diagnose en de behandeling van katachtige agressie beïnvloedt, zullen we bespreken waarom sommige katten agressief zijn tegenover elkaar of tegenover mensen. We zullen de verschillende behandelingen bespreken die kunnen worden ingezet.

Inschrijving: <https://acvetmed.ugent.be/programma/kleine-huisdieren>

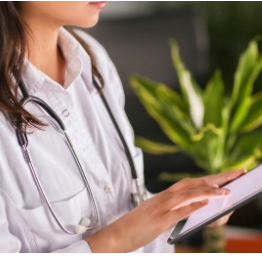
Komt een kip bij de dokter Praktijkgerichte workshop voor dierenartsen van hobbydieren

Torhout: 21 april 2023 - Nijlen: 5 mei 2023

Hobbykippen vergen een specifieke benadering en behandeling. Bovendien zijn ook de wettelijke bepalingen voor hobbyhouders anders dan die voor professionele houders. Krijg jij als dierenarts ook regelmatig vragen over hobbykippen en merk je dat jouw kennis als een ei zonder zout is? Geen nood: DGZ organiseert een workshop waarin we jou handvaten bieden waardoor je beter gewapend bent om deze diersoort te behandelen of de houders ervan te adviseren.

Meer info en inschrijving: <https://www.dgz.be/nieuws/workshop-hobbykip-dierenartsen>

Pharma.be - wat vindt de dierenarts van een bijsluiter?



Pharma.be wilt weten wat dierenartsen van bijsluiters vinden.

Deze vragenlijst heeft als doel in te schatten hoe vaak dierenartsen de bijsluiter van een diergeneesmiddel raadplegen en dient als basismeting over het gebruik van de bijsluiter voor een mogelijk proefproject rond het niet langer voorzien van papieren bijsluiters in verpakkingen van diergeneesmiddelen die uitsluitend door dierenartsen worden gebruikt en dus niet in het bezit komen van de verantwoordelijke van de dieren.

Laat dus weten hoe jij bijsluiters gebruikt, zodat de keuze die gemaakt wordt ook in jouw belang gemaakt wordt.

Ga naar enquête: <https://www.surveymonkey.com/r/GK5BXJ3>



European Veterinary Dental Forum Krakow

Thursday 27 to Saturday 29 of April 2023

A Premium Veterinary Dental Event

More info and registration: <https://evdf.org/>



ISFM Feline Congress, Dublin

29/06/2023

Everything vet professionals need to know about urolithiasis and acute kidney injury in cats.

Get ready to 'rock out' with ISFM in lively and historic Dublin, as an all-star line-up of international veterinary experts explore urolithiasis and urinary tract disease like you've never seen before! Combining practical and cutting-edge lectures in an engaging format, including interactive discussion panels and case-based teaching, the extensive scientific programme gives you access all areas from internal medicine and emergency & critical care to surgery and interventional radiology.

#ISFMRocksDublin

More information and registration: <https://icatcare.org/congress-2023-dublin/>

‘Als het niet leuk is, ben ik razendsnel terug!’



‘Het is echt een roeping,’ zegt Kim Koman, senior inspecteur bij de Nederlandse Voedsel – en Warenautoriteit (NVWA). ‘Al vanaf dat ik kon praten wilde ik dierenarts worden. Dat is trouwens voor de meeste dierenartsen zo. Die enorme liefde voor dieren zit er gewoon in. Ik was verslaafd aan Discovery Channel en National Geographic. Als er

iets van wild life op de tv was, zat ik ervoor te kwijlen.’

Een onbeschrijflijke teleurstelling was het dan ook toen Kim Koman na twee jaar als dierenarts bij de huisdierenpraktijk waar ze werkte, moest toegeven dat dat het niet was voor haar. ‘Ik viel nog net niet in een gat, maar het werd wel een grote worsteling: Als dit het niet is, wat dan wel?, vroeg ik me af. Ik had immers altijd al het beeld van mij in een huisdierenpraktijk. Altijd met dieren bezig, zo stelde ik me mijn leven als kind, jongere en student jarenlang voor. Maar het was zo’n solistische functie. En ik moest zoveel over geld praten met eigenaren, dat was niks voor mij. Ik werk graag samen met anderen aan dierenwelzijn en geld interesseert me niet.

Zoektocht

Samen met een coach zocht Kim uit waar ze dan wel op haar plek zou zijn. Als snel kwam ze erachter dat ze de diergeneeskunde absoluut niet de rug toe wilde keren. ‘Ik wilde koste wat het kost in het diergeneeskundewereldje werken. Daar voelde ik me thuis, dat zijn de mensen met wie ik wil werken!’ Dus volgde een zoektocht naar mogelijkheden.

En toen was daar ineens die passende vacature bij de Koninklijke Nederlandse Maatschappij voor Diergeneeskunde (KNMvD), de beroepsvereniging voor dierenartsen. ‘Ik kon er uiteindelijk als beleidsmedewerker aan de slag. We vertaalden bestaande wet- en regelgeving voor dierenartsen in de praktijk, zodat ze er praktisch mee aan de slag konden. Het ging er om dat dierenartsen hun hoofd niet hoefden te breken over hoe ze regelgeving moesten interpreteren. Met onze informatieproducten, zoals de kennisbank, konden ze zich volledig richten op het beter maken van dieren. Het ging bijvoorbeeld over hoe om te gaan met het coronavirus in de praktijken. Maar ook: hoe ga je om met hondenpaspoorten. Heel nuttig en praktisch allemaal.’

Dierenwelzijn

Maar na vier jaar ging er weer iets knagen bij Kim. ‘Ik miste de focus op dierenwelzijn in mijn werk. Het ging

alsmaar over de dierenarts en de diergeneeskunde, maar ik wilde me graag breder bezighouden met dierenwelzijn. Echt weer de focus op het dier. Ik interesseerde me daarbij voor het dierenwelzijn van de productiedieren. We doen het in Nederland best goed, maar ik zag daar nog ruimte voor verbetering en ik wilde graag mijn steentje bijdragen aan die verbetering.’

‘Natuurlijk moeten we daarbij ook nadenken over hoe ondernemers verder kunnen met hun bedrijf in een redelijk tijdpad, maar het gaat mij om de stip op de horizon. Binnen alles wat er nu gaande is binnen de landbouw (zoals bijvoorbeeld de stikstofdiscussie), lijkt dierenwelzijn wellicht een klein onderwerp. Maar ik denk dat het belangrijk is aandacht te hebben en te houden voor dierenwelzijn en te blijven werken aan het verbeteren ervan. Dat is goed voor de dieren en voor onze samenleving.

‘Gelukkig hoor ik het argument dierenwelzijn steeds vaker. Veel mensen vinden dat dieren op een goede manier behandeld moeten worden en dat ze veilig en zo goed mogelijk vervoerd en geslacht moeten worden. Dat is wat mij betreft een goede ontwikkeling.’

Brede oriëntatie

Kim kon haar passie voor dierenwelzijn kwijt in de vacante functie van senior inspecteur bij de NVWA bij de directie Keuren, afdeling O&O (Onderzoek en Ontwikkeling). Daar hield ze zich de afgelopen anderhalf jaar bezig met wet- en regelgeving rond dierenwelzijn en Transport. Het ging om bestaande wet- en regelgeving te vertalen naar de NVWA- praktijk. ‘En tot mijn verbazing en grote vreugde kreeg ik na anderhalf jaar al de kans om bij het ministerie Landbouw Natuur en Voedselkwaliteit (LNV) te komen werken als beleidsmedewerker Transport. Ik ga daar aan hetzelfde onderwerp werken maar in een andere rol en met een bredere oriëntatie. Het aantal onderwerpen is groter en het aantal stakeholders is groter met wie ik ga samenwerken. En bij het ministerie ben ik natuurlijk bezig met het ontwikkelen van beleid en de voorbereiding van wet- en regelgeving en niet meer alleen de toepassing.’

Razendsnel terug

Kim wil graag nog even kwijt dat als ze het tegen haar verwachting in niet leuk vindt bij LNV, ze razendsnel terug is bij de NVWA. ‘Ik word eerst een jaar gedetacheerd. Ik ben helemaal verbaasd hoe snel mijn loopbaan zich ontwikkelt. En dat heeft allemaal te maken met hoezeer ik bij de NVWA ben gestimuleerd, geholpen en ondersteund om verder te groeien. Ik ben niet gelovig, maar ik ben wel gezegend!’

