

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

 **FACULTEIT
DIERGENEESKUNDE**
accredited by EAEVE

MAART - APRIL 2024
VOL. 93 - NR 2
VERSCHIJNT TWEEMAANDELIJKS
PUBLISHED BIMONTHLY
ISSN 0303 9021
[HTTPS://OJS.UGENT.BE/VDT/](https://OJS.UGENT.BE/VDT/)

GENT X

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


UNIVERSITEIT
GENT



- Antibioticumgebruik bij melkvee
- *Brucella canis*
- *Ophidiomyces ophidiicola* bij wilde ringslangen
- Beeldvorming van celcarcinoom bij een kat
- Screening van mitralisklepdegeneratie en fokprotocol bij de cavalier king charles spaniël
- Keizersnede bij het rund
- Ontwormen op basis van mestonderzoek

FUJIFILM

Value from Innovation

ARIETTA **Echografie** systemen (voorheen Aloka)

High End echografie systemen met geweldige beeldkwaliteit geleverd door ultramoderne verwerkingstechnologieën zoals eFocusing en Carving Imaging. Uitgebreid probe assortiment voor een breed scala aan therapeutische gebieden.



ARIETTA 750 VE



ARIETTA 650 DI



ARIETTA 65



ARIETTA 50

Bloedanalyse, echografie, röntgen, endoscopie, CT, MRI en C-bogen.

Nederland

Edisonstraat 1a
2811 EM Reeuwijk
+31 182 229 080

info-vet-nl@fujifilm.com

België

Westpoort 62
2070 Zwijndrecht
+32 3 375 60 40

info-vet-be@fujifilm.com



FVet
VETERINARY DIAGNOSTIC SYSTEMS by **FUJIFILM**



Innovating
in Animal's
Health

INHOUD

| | | | |
|---|--|--|--|
| Thema: antibioticumgebruik bij melkvee | | Theme: antibiotic use in dairy cows | |
| 59 | L. CREYTENS, S. PIEPERS, S. DE VliegHER, K. MERTENS Noodzakelijke stappen naar een daling van het antibioticumgebruik op de Vlaamse melkveebedrijven - Deel 3: sneltesten voor kiemdetectie | | L. CREYTENS, S. PIEPERS, S. DE VliegHER, K. MERTENS Necessary steps towards antibiotic reduction on Flemish dairy farms – Part 3: rapid tests for microbial identification |
| Overzichtsartikel | | Review | |
| 71 | J. TIMMERMANS, J. LANNOO, A. VAN SOOM Brucella canis: een opkomende ziekte in Vlaanderen of reeds endemisch? | | J. TIMMERMANS, J. LANNOO, A. VAN SOOM Brucella canis: an emerging disease in Flanders or already endemic? |
| Origineel artikel | | Original article | |
| 79 | T. STARK, W. BEUKEMA, M.J. GILBERT, E. GOVERSE, A. SPITZEN-VAN DER SLUIJS, R.P.J.H. STRUIJK, E. VERBRUGGHE, F. PASMANS, A. MARTEL Detectie van <i>Ophidiomyces ophidiicola</i> bij wilde ringslangen (<i>Natrix helvetica</i>) in Nederland | | T. STARK, W. BEUKEMA, M.J. GILBERT, E. GOVERSE, A. SPITZEN-VAN DER SLUIJS, R.P.J.H. STRUIJK, E. VERBRUGGHE, F. PASMANS, A. MARTEL Detection of <i>Ophidiomyces ophidiicola</i> in wild barred grass snakes (<i>Natrix helvetica</i>) in the Netherlands |
| Casuïstiek | | Case report | |
| 85 | M.M.W.M. DEKKERS, K. KROMHOUT, J.H. SAUNDERS, S. DAVID, G. VERCAUTEREN, E. STOCK Beeldvormingskarakteristieken van squameus celcarcinoom van de mandibula bij een kat | | M.M.W.M. DEKKERS, K. KROMHOUT, J.H. SAUNDERS, S. DAVID, G. VERCAUTEREN, E. STOCK Imaging features of mandibular squamous cell carcinoma in a cat |
| Voor en uit de praktijk | | In practice | |
| 91 | N. CELIS, V. LIEKENS, A. HELLEMANS, P. SMETS Screeningsmethoden voor mitralisklepdegeneratie en fokprotocol bij de cavalier king charles spaniël: een enquête bij fokkers en dierenartsen | | N. CELIS, V. LIEKENS, A. HELLEMANS, P. SMETS Screening methods for mitral valve degeneration and breeding protocol in the cavalier King Charles spaniel: a survey amongst breeders and veterinarians |
| 99 | M. VAN AERT Keizersnede bij het rund: complicerende factoren | | |
| Permanente vorming | | Continuing education | |
| 103 | E. CLAEREBOUT, P. GELDHOF Ontwormen op basis van mestonderzoek | | E. CLAEREBOUT, P. GELDHOF Effective deworming on the basis of fecal examination |
| Vraag en antwoord | | | |
| 107 | Afdwingbaarheid clausules in aankoopcontracten van rashonden | | |
| 106 | Uit de faculteit | | |
| 109 | Oproep | | |
| 110 | SAVAB-nieuws | | |
| 78, 98, 112 | Uit het verleden | | |

Foto cover: Frank Pasmans

Kenmerkend voor de inheemse, niet-giftige ringslang (*Natrix helvetica*) zijn de gele vlekken achter de kop. De dieren komen frequent voor in de buurt van water, waar ze in belangrijke mate leven van amfibieën. De vochtige omgeving kan de groei van micro-organismen bevorderen. Deze slangen zijn gevoelig voor infecties met *Ophidiomyces ophidiicola*, een schimmel die in Noord-Amerika vooral huidproblemen veroorzaakt bij wilde slangen, en nu voor het eerst werd aangetoond in de Lage Landen. Het is echter onduidelijk of deze infecties een significante impact hebben op de populaties ringslangen (cf. pg. 79).

Frank Pasmans

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/>

Noodzakelijke stappen naar een daling van het antibioticumgebruik op de Vlaamse melkveebedrijven - Deel 3: sneltesten voor kiemdetectie

Necessary steps towards antibiotic reduction on Flemish dairy farm - Part 3: rapid tests for microbial identification

L. Creytens, S. Piepers, S. De Vliegher, K. Mertens

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

Lien.Creytens@UGent.be

SAMENVATTING

De landbouwsector staat al enige tijd onder druk wat betreft het overvloedige gebruik van antibiotica. Daarom wordt in de melkveesector via het selectief droogzetten en het selectief behandelen van niet-ernstige klinische mastitis bijgedragen tot het noodzakelijk reduceren en het meer verantwoord gebruik van antibiotica. Sneltesten voor kiemdetectie in de melk, die – mits een gedegen opleiding, kwaliteitscontrole en een kleine investering – snel en gemakkelijk in te zetten zijn op dierenartsenpraktijken en melkveebedrijven, zijn hiervoor een handige tool aangezien ze als basis kunnen dienen voor het selectief droogzetten en selectief behandelen van niet-ernstige klinische mastitis. Verschillende soorten sneltesten zijn voorhanden, elk met hun eigen specifieke eigenschappen en testkarakteristieken. Sneltesten komen voor onder de vorm van specifieke agars, Petrifilms™, welletjes, microchips en zelfs PCR-testen. Sommige testen bezitten een inherent antibiogram en/of volautomatische aflezing via specifieke software. Er bestaan eenvoudige sneltesten waarbij het resultaat de kiemgroei kan classificeren als polybacterieel, geen groei, groei van een grampositieve kiem of groei van een gramnegatieve kiem. Deze testen volstaan om te beslissen of een koe met niet-ernstige mastitis of bij het droogzetten al dan niet met antibiotica kan behandeld worden. Andere, meer gesofisticeerde testen gaan verder in kiemdifferentiatie tot op genus- of zelfs speciesniveau, wat andere beslissingen met betrekking tot het behandelen en uiergezondheidsmanagement toelaat. Elke geïnteresseerde gebruiker dient na te gaan welke sneltest het beste aansluit bij zijn/haar noden.

ABSTRACT

The agricultural sector has been under pressure regarding the excessive use of antibiotics. In the dairy sector, selective dry cow therapy and selective treatment of non-severe clinical mastitis therefore contribute to the necessary reduction in and more responsible use of antibiotics. Rapid testing of milk samples for bacteriological culture, that – with proper training, quality control and a small investment – can be used quickly and easily at veterinary practices and dairy farms, is a useful tool in this respect as it can serve as a basis for selective dry cow treatment and selective treatment of non-severe clinical mastitis. Different types of rapid tests are available, each with its specific traits and test characteristics. Rapid tests are available as specific agars, Petrifilms™, wells, microchips and even as PCR tests. Some of them have an inherent antibiogram and/or fully automatic reading through specific software. Simple tests classify the sample growth as contaminated, no growth, growth of gram-positive or growth of gram-negative bacteria. These tests are sufficient to decide whether or not a cow should be treated with

antibiotics when suffering from non-severe clinical mastitis or at dry-off. Other more sophisticated tests allow for differentiation on genus or even species level, facilitating different decisions regarding treatment and udder health management. Every interested user has to determine which rapid test best suits his/her needs.

INLEIDING

Zowel voor het selectief droogzetten als voor het selectief behandelen van niet-ernstige klinische mastitis kunnen sneltesten voor kiemdetectie in melkstalen worden ingezet. Een sneltest is een test die mits een minimale uitrusting in de dierenartsenpraktijk of op het melkveebedrijf kan uitgevoerd worden en waarvan het resultaat in één oogopslag kan afgelezen worden.

Er zijn verschillende soorten sneltesten voor de identificatie van mastitisverwekkers voorhanden op de markt, elk met hun eigen karakteristieken. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van een aantal sneltesten en wordt ingegaan op de praktische bruikbaarheid ervan binnen de concepten selectief droogzetten en selectief behandelen. Door gebruik te maken van sneltesten bij selectief droogzetten, kan men - naast celgetalmetingen en/of het gebruik van de CMT (California Mastitis Test) en/of het gebruik van standaard bacteriologie - vlak voor het droogzetten nagaan of een koe/een kwartier geïnfecteerd is met een major pathogeen (Cameron et al., 2013; Swinkels et al., 2021). De sneltesten helpen bij het nemen van de beslissing om een koe al dan niet met antibiotica droog te zetten. Bij het selectief behandelen van niet-ernstige klinische mastitis worden sneltesten enerzijds gebruikt om te beslissen of een koe al (in geval van een grampositieve kiem of bij contaminatie van het staal) dan niet (in geval van een gramnegatieve kiem of geen groei op de sneltest) met antibiotica behandeld zal worden. Anderzijds kunnen de sneltesten ook helpen bij de keuze van het te gebruiken antibioticum (de Jong et al., 2023). Beide concepten werden reeds in de eerste twee delen van deze artikelreeks over antibioticumgebruik bij melkvee uitgebreid beschreven (Creytens et al., 2023; Creytens et al., 2024).

SNELTESTEN

Benodigheden

Voor het uitvoeren van sneltesten voor kiemdetectie is slechts een minimale investering nodig. Een propere ruimte waar werken in quasi-steriele omstandigheden mogelijk is, is een eerste vereiste. Daarnaast is het ook noodzakelijk om over een incubator te beschikken. De vereisten voor een incubator zijn dat deze een constante temperatuur van 37°C kan aanhouden, dat deze proper is en blijft en dat er enkele testen tegelijk in kunnen geplaatst worden. Dit kan gaan van een meer geavanceerde (duurdere) in-

cubator, een test-specifieke incubator (bijvoorbeeld voor de MastaTest®, zie infra) tot een eenvoudige (en goedkopere) eierbroedstoof. Gezien de melkstalen en de meeste sneltesten gekoeld bewaard moeten worden, is ook een koelkast noodzakelijk. Steriele platen en reeds geïncubeerde platen dienen hier van elkaar gescheiden bewaard te worden. Verder moet ook klein labomateriaal aangekocht worden: alcohol om het werkblad en de handen te ontsmetten, handschoenen, steriele melkbuisjes en entnaalden. Voor het uitvoeren van additionele testen (zie infra) zijn draagglasjes, gedemineraliseerd water, titerflesjes en de noodzakelijke testreagentia nodig. Tenslotte dient er ook rekening gehouden te worden met het correct verwerken van het afval. Melkstalen en gebruikt materiaal (sneltesten, entnaalden, draagglasjes) dienen (na eventuele onderdompeling in bleekwater) bij het risicohoudend medisch afval (RMA) gedeponneerd te worden in een daarvoor voorziene RMA-container aangezien deze viraal, bacteriologisch of mycotisch besmet kunnen zijn (Handleiding beheer medische afvalstoffen, OVAM 2014).

Soorten sneltesten

Er zijn tal van commerciële sneltesten voor kiemdetectie voorhanden. Deze testen kunnen zowel uit specifieke agars bestaan, als uit een Petrifilm™, welletjes, microchips of een PCR--test (Ganda et al., 2016; Kiku et al., 2021; Leimbach en Krömker, 2018a; Mansion-de Vries et al., 2014a; Royster et al., 2014). Bij sommige testen wordt zelfs terzelfder tijd de antimicrobiële gevoeligheid van de geïdentificeerde kiem bepaald, hetgeen kan helpen bij de keuze van de meest geschikte behandeling (Bates et al., 2020; Jones et al., 2019).

Identificatie van (de) kiem(en) gebeurt aan de hand van (NMC, 2017; Heuvelink en Lam, 2017):

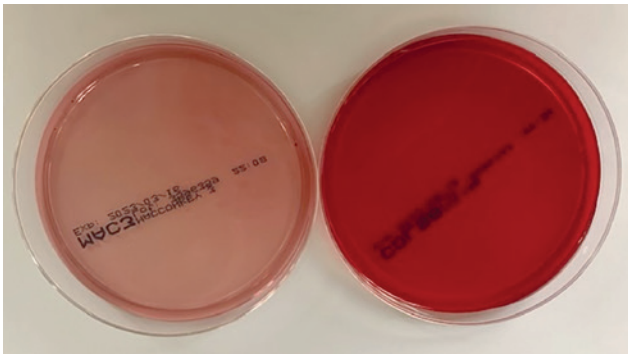
- (1) de aanwezigheid van groei al dan niet op een specifiek medium (agars, welletjes en Petrifilm™),
- (2) de morfologie van de kolonie (agars),
- (3) kleurverandering van de kolonies (chromogene agars),
- (4) colorimetrische analyse (welletjes),
- (5) hemolysepatroon,
- (6) additieve testen (agars) en/of
- (7) de aanwezigheid van bacterie-specifieke DNA-fragmenten (PCR).

De meeste sneltesten dienen gedurende 18 tot 24 uur geïncubeerd te worden bij een temperatuur van 37°C. Voor sommige traag groeiende bacteriën, zoals *Trueperella pyogenes*, *Corynebacterium* spp. en

Tabel 1. Opsomming van de beschikbare sneltesten, aan- of afwezigheid van een antibiogram en tot op welk niveau de kiemen op het eerste zicht gedifferentieerd kunnen worden.

| Test | Type | Antibiogram | Minimale Incubatietijd | Kiemen | Bron |
|---------------------------|----------------------|----------------|--|--|--|
| Minnesota Easy® bi-plate | Plaat met 2 agars | Nee | 18-24u | Gr-, Gr+, PB | Lago et al., 2011a; c; Royster et al., 2014 |
| Minnesota Easy® tri-plate | Plaat met 3 agars | Nee | 18-24u | Gr-, <i>S. agalactiae</i> , andere streptokokken, <i>S. aureus</i> , andere stafylokokken, PB | Royster et al., 2014; Jones et al., 2019 |
| VétoSlide® | Testbuis met 2 agars | Nee | 18-24u | Gr-, <i>E. coli</i> , Gr+, PB | Malcata et al., 2021 |
| VetoRapid® | Plaat met 3 agars | Nee | 18-24u | <i>E. coli</i> , andere Gr- en coliformen, <i>S. aureus</i> , NAS, <i>S. uberis</i> , enterokokken, <i>S. dysgalactiae</i> , <i>S. agalactiae</i> , PB | Viora et al., 2014 |
| MicroMast | Plaat met 3 agars | Nee | 18-24u | Gr-, streptokokken, <i>S. aureus</i> , NAS, gisten, PB | www.micromast.com Geen peer-reviewed wetenschappelijke publicatie beschikbaar |
| Accumast® | Plaat met 3 agars | Nee | 18-24u | <i>E. coli</i> , andere Gr- en coliformen, <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>S. uberis</i> , andere streptokokken, enterokokken, <i>Lactococcus lactis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. haemolyticus</i> , andere stafylokokken, PB | Ganda et al., 2016; Ferreira et al., 2018 |
| Check-Up® | Plaat met 4 agars | Nee | 18-24u | <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> , andere Gr-, <i>S. uberis</i> , <i>S. dysgalactiae</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. aureus</i> , NAS, andere Gr+, gisten en schimmels | McDougall et al., 2018 |
| AC-3M™-Petrifilm™ | Petrifilm | Nee | 18-24u | Aerobe kiemen | McCarron et al., 2009; Mansion-de Vries et al., 2014b |
| CC-3M™-Petrifilm™ | Petrifilm | Nee | 18-24u | Coliformen | McCarron et al., 2009; Mansion-de Vries et al., 2014a |
| MastDecide® | 2 welletjes | Nee | 14u | Gr- en Gr+ | Leimbach and Krömker, 2018a |
| Point of Cow® | Microchip | Nee | 16u | Gr- en Gr+ | www.pointofcow.dk Geen peer-reviewed wetenschappelijke publicatie beschikbaar |
| MastaTest® | 24 welletjes | Ja, beperkt | 24u | Coliformen, <i>Klebsiella spp.</i> , andere Gr-, <i>S. uberis</i> , <i>S. dysgalactiae</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>S. aureus</i> , NAS en andere Gr+ | Jones et al., 2019; Bates et al., 2020 |
| Speed Mam Color™ | 23 welletjes | Ja, uitgebreid | Antibiotica-gevoeligheid: 24u Kiemgroei: 48u Mycoplasma spp.: 7d | <i>E. coli</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>S. uberis</i> , streptokokken, enterokokken, stafylokokken, <i>Mycoplasma spp.</i> en <i>Listeria spp.</i> | www.virbac.com Geen peer-reviewed wetenschappelijke publicatie beschikbaar |
| Acumen® | PCR-test | Nee | 3u | <i>S. aureus</i> , <i>S. uberis</i> , <i>Mycoplasma bovis</i> , andere <i>Mycoplasma spp.</i> en <i>Prototheca spp.</i> | www.acumendetection.com Geen peer-reviewed wetenschappelijke publicatie beschikbaar |

PB: polybacterieel (3 of meer fenotypisch verschillende kolonies), Gr-: gramnegatieve bacteriën, Gr+: grampositieve bacteriën, *E. coli*: *Escherichia coli*, *S. uberis*: *Streptococcus uberis*, *S. agalactiae*: *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*: *Streptococcus dysgalactiae*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*, NAS: non-aureus stafylokokken, *S. haemolyticus*: *Staphylococcus haemolyticus*.



Figuur 1. Bloedagar (rechts) en MacConkey No.3 (links)



Figuur 2. Minnesota Easy® culture system. Links: bi-plaat, rechts: tri-plaat

Prototheca spp., is echter een langere incubatietijd (48 uur) nodig. Wanneer er een vermoeden is van een infectie met *Mycoplasma* spp. is het aangeraden om alsnog een melkstaal naar een gespecialiseerd labo op te sturen of de Acumen MYCOB™ (zie infra) te gebruiken aangezien *Mycoplasma* spp. kiemspecifieke kweekomstandigheden of een PCR-test vragen (NMC, 2017; Heuvelink en Lam, 2017).

In Tabel 1 wordt een korte samenvatting weergegeven van de meest gebruikte sneltesten en hun beschrijving.

Bloedagar en MacConkey-agar No.3

De combinatie van een bloedagarplaat met 5% schapebloed en een MacConkey agar No.3 is misschien wel de meest bekende test die in de praktijk gebruikt wordt (Figuur 1). De bloedagar (al of niet met esculine) is op zich ook voldoende om een diagnose te stellen aangezien dit een niet-selectieve groeibodem is, waar quasi alle micro-organismen op groeien. De combinatie met een MacConkey-agar (waar enkel gramnegatieve kiemen met uitzondering van de *Pasteurella* spp. op groeien) maakt het evenwel eenvoudiger om in één oogopslag te oordelen of het om een infectie met een grampositieve of een gramnegatieve kiem gaat. Bij groei op beide platen kan uit gegaan worden van de aanwezigheid van een gramnegatieve kiem, terwijl enkel groei op de bloedagar in de richting van een grampositieve kiem wijst. Daarnaast kunnen de kiemen op de bloedagar verder gedifferentieerd worden aan de hand van additieve testen. Het niet-selectieve karakter van de bloedplaat maakt het

daarenboven ook gemakkelijker om gecontamineerde stalen (= wanneer drie of meer fenotypisch verschillende kolonies zichtbaar zijn) te detecteren, dit in vergelijking met de meer selectieve agars.

Minnesota Easy® culture system

Het zogenaamde “Minnesota Easy® culture system” (University of Minnesota, St.Paul, USA) is beschikbaar in een bi- of een tri-plaat en bestaat uit een petrischaal met respectievelijk twee en drie sectoren (Figuur 2). De bi-plaat bestaat uit een McConkey-agar (selectief voor groei van gramnegatieve bacteriën) en een factor-agar (selectief voor de groei van grampositieve bacteriën) (Lago et al., 2011b; Royster et al., 2014). De tri-plaat heeft naast de McConkey- en de factor-agar nog een gemodificeerde TKT (Edwards)-agar (MTKT), selectief voor de groei van katalasenegatieve kokken, waartoe streptokokken en streptokokachtigen, zoals enterokokken en lactokokken, behoren (Royster et al., 2014). Dit laat bij een grampositieve groei toe om een streptokok (groei op zowel de MTKT- als de factor-agar), een *Streptococcus agalactiae* (naast groei op zowel de MTKT- als de factor-agar, ook volledige hemolyse te zien), een stafylokok (enkel groei op de factor-agar) of een *Staphylococcus aureus* (enkel groei op de factor-agar, met dubbele hemolyse) te onderscheiden. Beide types agarplaten zijn betrouwbaar (Tabel 2) wat betreft het identificeren van geen groei, de groei van grampositieve kiemen, de groei van gramnegatieve kiemen of een polybacteriële groei (= gecontamineerd melkstaal). Voor verdere differentiatie op genus- (bijvoorbeeld stafylokokken) en speciesniveau (bijvoorbeeld *Staphylococcus aureus*) is de tri-plaat de betere keuze (Royster et al., 2014).

VetoSlide® en VetoRapid® (Vetoquinol)

Binnen het gamma van Vetoquinol zijn twee sneltesten voor kiemdetectie te verkrijgen. De VetoSlide®-test (Vetoquinol, Niel, België) bestaat uit een buisje met een draagglas waarop aan de ene zijde een groeimedium specifiek voor grampositieve kiemen (roze) aangebracht is en op de andere zijde een groeimedium specifiek voor gramnegatieve (groen) kiemen (Figuur 3). Identificatie tot op kiemniveau kan enkel voor *Escherichia coli* doordat deze kolonies een roze kleur hebben bij groei op het gramnegatieve medium. Diagnosestelling via de VetoSlide®-test is hierdoor vrij beperkt maar volstaat om een beslissing te nemen bij het selectief behandelen van niet-ernstige klinische mastitis (Malcata et al., 2021; Creytens et al., 2024).

De VetoRapid®-test (Vetoquinol, Niel, België) bestaat uit een petrischaal met drie verschillende sectoren: een op maat gemaakte agar (met galzouten en vancomycine) specifiek voor de groei van gramnegatieve kiemen, een gemodificeerde mannitol-zout-agar (MSA) selectief voor de groei van stafylokokken en een gemodificeerde Edwards-agar specifiek

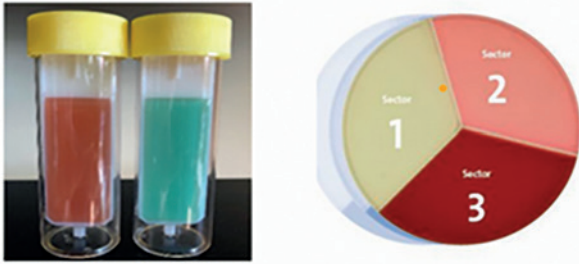
voor de groei van streptokokken (Viora et al., 2014) (Figuur 3). Deze drie selectieve agars maken van de VetoRapid®-test een vrij selectieve sneltest met de mogelijkheid tot verdere differentiatie van de aanwezige kiemen aan de hand van de aanwezigheid van kiemgroei op een specifieke agar, de kleurverandering van de agar na incubatie, de kleur van de kolonies na incubatie en de aan- of afwezigheid van hemolyse. Zo zullen (na 18-24 uur incubatie) op de gramnegatieve sector kolonies van *E. coli* blauw gekleurd zijn, kolonies van de niet-coliforme enterobacteriaceae (zoals

Klebsiella spp., *Serratia* spp., *Enterobacter* spp. en *Citrobacter* spp.) rood-paars gekleurd zijn en kolonies van niet-enterobacteriaceae (zoals *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Pasteurella* spp. en *Actinobacter* spp.) wit/geel gekleurd zijn. Onderscheid kan gemaakt worden tussen *S. aureus* en de andere stafylokokken (denon-*aureus*-stafylokokken of NAS) op basis van mannitolfermentatie. *Staphylococcus aureus* kan mannitol fermenteren, waardoor de MSA-agar geel verkleurt na 18-24 uur incubatie, terwijl de meeste NAS geen mannitol kunnen fermenteren en de agar

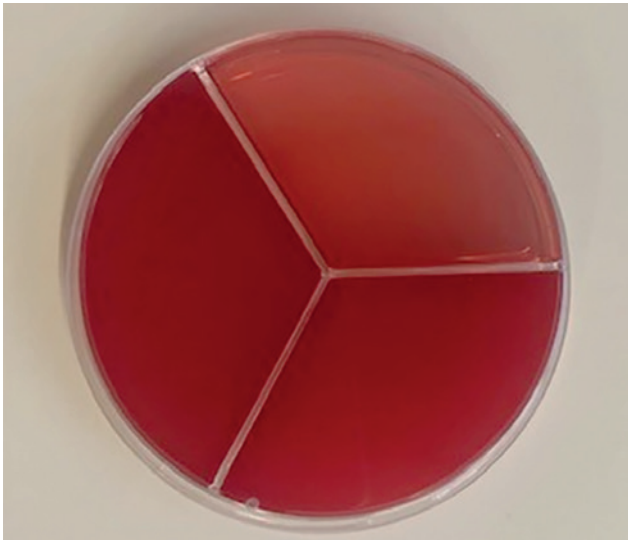
Tabel 2. Opsomming van de sneltesten met hun testkarakteristieken.

| Test | Kiem | Se | Sp | PVW | NVW | Bron |
|---------------------------|--|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|
| Minnesota Easy® bi-plate | | 0,78 0,80-0,85 | 0,83 0,79-0,87 | 0,74 0,92-0,95 | 0,86 0,64-0,85 | Lago et al., 2011a; c Royster et al., 2014 |
| Minnesota Easy® tri-plate | | 0,80-0,86 0,78 | 0,76-0,93 0,78 | 0,91-0,97 0,71 | 0,62-0,66 0,84 | Royster et al., 2014 Jones et al., 2019 |
| VetoSlide® | Gramnegatief <i>Escherichia coli</i> Grampositief | 0,83 0,84 0,82 | 0,94 0,97 0,77 | 0,93 0,96 0,76 | 0,87 0,91 0,83 | Malcata et al., 2021 Malcata et al., 2021 Malcata et al., 2021 |
| VetoRapid® | <i>Escherichia coli</i> Non- <i>aureus</i> Stafylokokken <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus uberis</i> Enterokokken | 0,58 0,28 0,65 0,84 0,17 | 0,98 0,93 0,94 0,92 0,93 | 0,72 0,37 0,52 0,48 0,11 | 0,96 0,90 0,96 0,99 0,96 | Viora et al., 2014 Viora et al., 2014 Viora et al., 2014 Viora et al., 2014 Viora et al., 2014 |
| MicroMast | | / | / | / | / | www.micromast.com Geen peer-reviewed wetenschappelijke publicatie beschikbaar |
| Accumast® | | 0,98 0,82 | 0,84 0,9 | 0,80 0,94 | 0,98 0,72 | Ferreira et al., 2018 Ganda et al., 2016 |
| Check-Up® | <i>Staphylococcus aureus</i> Andere Gram-positieve kiemen Gramnegatief Polybacterieel | 0,64 0,82 0,79 0,05 | 0,92 0,52 0,94 0,95 | 0,44 0,64 0,39 0,13 | 0,96 0,73 0,99 0,88 | McDougall et al., 2018 McDougall et al., 2018 McDougall et al., 2018 McDougall et al., 2018 |
| AC-3M™-Petrifilm™ | | 0,85 | 0,75 | 0,70 | 0,88 | Mansion-de Vries et al., 2014 |
| CC-3M™-Petrifilm™ | | 0,9 | 0,88 | 0,71 | 0,96 | Mansion-de Vries et al., 2014 |
| MastDecide® | | 0,81 | 0,71 | 0,81 | 0,71 | Leimbach en Krömker, 2018a |
| Point of Cow® | | / | / | / | / | www.pointofcow.dk Geen peer-reviewed wetenschappelijke publicatie beschikbaar |
| MastaTest® | Algemeen <i>Streptococcus uberis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,95 0,88 0,88 | 0,72 0,80 0,96 | / / / | / / / | Jones et al., 2019 |
| Speed Mam Color™ | | 0,92 | 0,96 | / | / | www.virbac.com Geen peer-reviewed wetenschappelijke publicatie beschikbaar |
| Acumen MYCOB™ | <i>Mycoplasma bovis</i> | 0,98 | 1 | / | / | www.acumendetection.com Geen peer-reviewed wetenschappelijke publicatie beschikbaar |

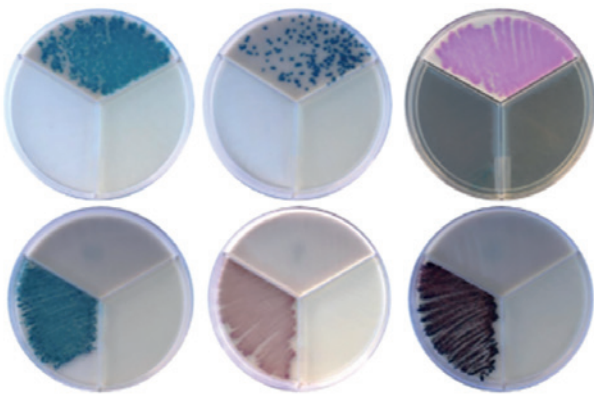
Se= sensitiviteit; Sp= specificiteit; PVW= positief voorspellende waarde, NVW= negatief voorspellende waarde.



Figuur 3. VetoSlide® (links) en VetoRapid® (rechts)



Figuur 4. MicroMast



Figuur 5. Accumast® -platen



Figuur 6. Check-up®

duis roze zal blijven na incubatie. Echter, sommige NAS-species zijn ook in staat om mannitol te fermenteren en sommige *S. aureus*-stammen kunnen juist geen mannitol fermenteren. Om deze reden is het aanbevolen om de kolonies op het stafylokokkendeleel aan een tweede test zoals de agglutinatie-test, te onderwerpen (Boerlin et al., 2003; De Visscher et al., 2013; Kateete et al., 2010). Differentiatie van de streptokokken kan gebeuren door (1) de aanwezigheid van groei op de gemodificeerde Edward-agar, (2) de morfologie van de kolonie, (3) de kleur van de agar onder UV-licht (esculine-hydrolyse) en (4) het type hemolyse. Zo kan onderscheid gemaakt worden tussen esculine-positieve kokken (*Streptococcus uberis* en enterokokken) en de esculinenegatieve kokken *S. dysgalactiae* en *Streptococcus agalactiae* (Viora et al., 2014). Het selectieve karakter van de drie sectoren maakt het evenwel moeilijker om gecontamineerde stalen te detecteren via deze test; dit in vergelijking met bijvoorbeeld de MicroMast-test (zie infra), die een niet-selectieve agar bevat waarop contaminatie snel en in één oogopslag kan gedetecteerd worden.

MicroMast

Een derde sneltest bestaande uit drie verschillende agars is het Tsjechische product MicroMast (MicroMast, Světlá nad Sázavou, Tsjechië) (Figuur 4). Deze sneltest bestaat uit een niet-selectieve bloedagar waarop alle mastitisverwekkers behalve *Mycoplasma* spp. kunnen groeien, een selectieve agar voor grampositieve kiemen en een McConkey-agar selectief voor de groei van gramnegatieve kiemen. Dankzij de niet-selectieve bloedagar is het mogelijk om gecontamineerde (drie of meer verschillende types kolonies te zien) melkstalen (bijvoorbeeld door onhygiënische staalname) gemakkelijk te detecteren. Ook gisten en schimmels groeien op deze agar. Verdere differentiatie bij de grampositieve kiemen kan door de aanwezigheid van (dubbele) hemolyse en door het uitvoeren van additionele testen (zoals de katalase- en agglutinatie-test). Zo kan er bij de groei op het grampositieve deel verder onderscheid gemaakt worden tussen streptokokken, NAS en *S. aureus*. Er kan ook gekozen worden voor de variant van de plaat waaraan esculine werd toegevoegd aan de sector voor grampositieve groei om verdere differentiatie tussen de streptokokken toe te laten.

Accumast®

Ook Accumast® (FERA Animal Health LCC, Itasca, USA) is een sneltest die uit drie verschillende selectieve media bestaat: een groeimedium voor stafylokokken, een groeimedium voor streptokokken en een groeimedium voor gramnegatieve kiemen (Figuur 5). Deze media zijn daarenboven chromogeen, wat wil zeggen dat bepaalde kiemen verschillende koloniekleuren zullen aannemen bij groei (Ganda et al., 2016). Deze kleurverandering maakt dat het stellen

van een diagnose tot op kiemniveau gemakkelijk in één oogopslag kan gebeuren (Ferreira et al., 2018). Zo zullen bijvoorbeeld *E. coli* een roze kleur, *Klebsiella* spp. een blauwe kleur en *Pseudomonas* spp. een witte kleur aannemen bij groei op de agar voor gram-negatieve kiemen. Op de stafylokokken-groeibodem zal *S. aureus* dan weer een roze kleur en andere stafylokokken dan *S. aureus* een andere kleur dan roze aannemen. Bij de streptokokken-groeibodem zullen streptokokken blauw en enterokokken roze aankleuren (Tabel 1).

Check-up®

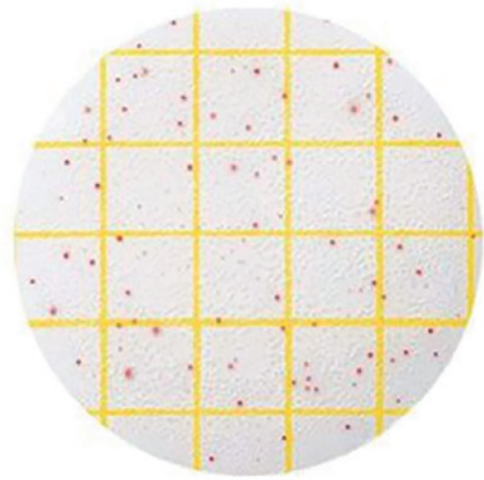
Deze selectieve sneltest wordt door Semex™ (Morrinsville, Nieuw-Zeeland) geproduceerd en heeft vier verschillende sectoren op één plaat: een chromogene agar selectief voor grampositieve groei, een chromogene agar selectief voor gramnegatieve groei, een agar voor gisten en schimmels en ten slotte een bloedagar met esculine (Figuur 6). Identificatie van de kiem gebeurt bij deze sneltest aan de hand van (1) de aan- of afwezigheid van groei op een bepaalde agar, (2) de kleur van de kolonie (3) de capaciteit tot esculine-hydrolyse en (4) de aan- of afwezigheid van (dubbele) hemolyse (Tabel 1).

3M™ Petrifilms™

Er bestaan verschillende soorten 3M™ Petrifilms™ (M Microbiology, St. Paul, USA) waarvan de Aerobic Count (AC) en de Coliform Count (CC) de belangrijkste zijn met het oog op het selectief behandelen (Figuur 7). Op de AC Petrifilm™ groeien alle aerobe kiemen, op de CC Petrifilm™ groeien enkel coliforme kiemen. Elke test heeft een indicatorvloeistof, waardoor het tellen van kolonies gemakkelijker gemaakt wordt doordat deze een kleur krijgen. Om een koe met klinische mastitis aan een behandelingsprotocol (al of niet met antibiotica behandelen) toe te kunnen wijzen, moet bij een melkstaal zowel de AC- als de CC-test uitgevoerd worden. Wanneer enkel de AC-test positief is, spreekt men van een grampositieve kiem en wanneer zowel de AC- als de CC-test positief zijn, is er sprake van de groei van gramnegatieve bacteriën. In een studie van McCarron et al. (2009) werd aangetoond dat de beste resultaten behaald worden wanneer een AC-test als positief beschouwd wordt vanaf vijf kolonies, een CC-test vanaf twintig kolonies en waarbij van het melkstaal een 1:10-verdunning gemaakt wordt met steriel water om debris op het testmedium te voorkomen (McCarron et al., 2009).

MastDecide®

Het Duitse MastDecide® (Quidee GmbH, Homburg, Duitsland) bestaat -in tegenstelling tot de vorige sneltesten- niet uit een agar, maar uit twee welletjes



Figuur 7. 3M™ Petrifilm™ AC



Figuur 8. MastDecide®

met daarin een testmedium dat roze kleurt bij kiemgroei na incubatie (Figuur 8). Wanneer beide tubes roze verkleuren dan is dit indicatief voor de groei van grampositieve kokken, roze verkleuring van slechts één tube wijst in de richting van coliformen. Wanneer geen van beide tubes roze verkleurt na incubatie, is dit suggestief voor de afwezigheid van bacteriegroei. Bacteriegroei kan echter niet volledig uitgesloten worden, aangezien *Prototheca* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp. en *Trueperella pyogenes* niet kunnen groeien in het medium (Leimbach en Krömker, 2018a). Ook gecontamineerde melkstalen worden via deze test niet gedetecteerd. Deze test is na een relatief korte incubatietijd af te lezen, volstaat om basisbeslissingen te nemen rond het al dan niet met antibiotica behandelen bij niet-ernstige klinische mastitis en is gemakkelijk op melkveebedrijven te gebruiken (Leimbach en Krömker, 2018a).



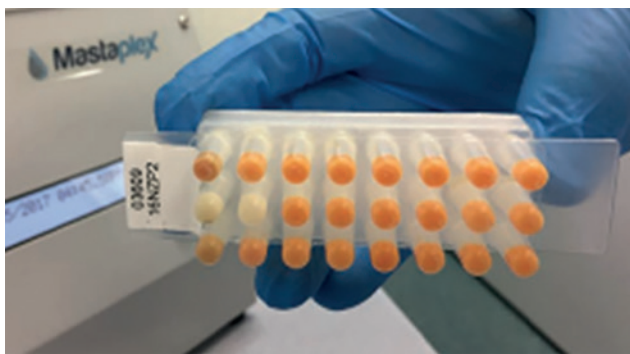
Figuur 9. Point of Cow®

Point Of Cow®

Point Of Cow® is een Deense sneltest (Point of Cow, Glostrup) die bestaat uit een wegwerpbaar microchip, waarop een melkdruppel moet aangebracht worden (Foto 9). De chip bevat een reagens waardoor bacteriën groeien. Na 16 uur incuberen in een daarvoor voorziene mini-incubator of een gewone incubator, geeft de chip een indicatie of er bacteriële groei is en of er sprake is van grampositieve of gramnegatieve bacteriën. Net als bij de MastDecide®, worden gecontamineerde melkstalen bij de Point Of Cow® niet gedetecteerd.

Mastatest®

De Nieuw-Zeelandse Mastatest® (Mastaplex Ltd, Dunedin, Nieuw-Zeeland) is een gemodificeerde ELISA-test en bestaat uit 24 welletjes met media die van kleur veranderen wanneer een specifieke bacterie aanwezig is (Figuur 10). Zes van de 24 welletjes geven bacteriegroei aan. Bij groei is detectie van *S. uberis*, *S. dysgalactiae*, andere *Streptococcus* spp., *S. aureus*, NAS, 'andere grampositieve bacteriën, *Klebsiella* spp. en coliformen/gramnegatieve kiemen mogelijk. Aan de hand van de andere 18 welletjes wordt de minimaal inhibitorische concentratie (MIC) voor benzylpenicilline, cloxacilline en tylosine bepaald, zodat in gevallen van een infectie met een grampositieve kiem ook de antibioticumkeuze mee kan gestuurd worden. Melk wordt via een patroon in de welletjes aangebracht waarna de welletjes gedurende 24 uur in een speciaal voorziene incubator (Lapbox™) gezet worden. Beelden van de kleurveranderingen in de welletjes worden via de incubator naar de bijhorende software verzonden die via een automatisch analytisch algoritme de test afleest en de resultaten per mail doorstuurt naar de veehouder en/of de dierenarts. De kans op misinterpretatie van de resultaten wordt op deze manier gereduceerd in vergelijking met sneltesten die met het blote oog afgelezen worden (Bates et al., 2020; Jones et al., 2019). Doordat de resultaten automatisch afgelezen worden (kleine kans op misinterpretatie) en doordat er geen eventuele additieve testen hoeven gedaan te worden met levende kiemen (elke manipulatie met levende kiemen houdt immers een risico in), is deze test zeer gemakkelijk en veiliger in te zetten op melkveebedrijven.



Figuur 10. Mastatest®



Figuur 11. Speed Mam Color™

Speed Mam Color™ (Virbac)

Deze sneltest bestaat, net als de Mastatest®, uit welletjes waarin bacteriegroei en antibioticumgevoeligheid getest worden (Figuur 11). Speed Mam Color™ (Virbac, Carros, Frankrijk) is een arbeidsintensievere test. Melk wordt toegevoegd aan een flacon met kweekmedium waarna dit in elk van de 23 welletjes ingebracht wordt. Daarna voegt men het supplement voor stafylokokkenidentificatie en paraffineolie



Figuur 12. Acumen®

toe in de aangegeven welletjes. Na 24 uur incubatie kan ook de gevoeligheid voor 14 antibiotica en antibioticacombinaties afgelezen worden, na nog eens 24 uur incuberen, kan de groei van acht bacteriën geïdentificeerd worden. De identificatie van bacteriegroei is mogelijk voor stafylokokken, streptokokken, *S. uberis*, *E. coli*, *Enterobacteriaceae*, enterokokken, *Mycoplasma* spp. (na zeven dagen incuberen) en *Pseudomonas* spp.. Een welletje wordt als positief beschouwd als de rode kleur na incubatie omgeslagen is naar geel. Bacteriegroei kan pas na 48 uur afgelezen worden, waardoor deze test in mindere mate als een “sneltest” kan worden beschouwd. De interpretatie van de resultaten is bij deze test ook niet altijd eenduidig, aangezien de beoordeling van de kleurverandering onderhevig is aan subjectiviteit.

Acumen®

Acumen® (Acumen Detection, Syracuse, USA) is een real-time-PCR-test die binnen de drie uur bacterie-specifieke DNA-fragmenten (oligonucleotiden) in de melk detecteert (Figuur 12). De melk wordt voorbereid door deze in een welletje te doen en een lysaat toe te voegen. Daarna wordt het PCR-reagens toegevoerd en wordt het welletje in een daarvoor voorziene incubator geplaatst. Zo zijn er kits beschikbaar voor de detectie van stafylokokken (STAPH), streptokokken (STREP), *Mycoplasma bovis* (MYCOB™), *Mycoplasma* spp. gecombineerd met *Prototheca* spp. (MYPRO™) en voor de detectie van *S. aureus* gecombineerd met *S. uberis* (SASUB™). Acumen® is de enige beschikbare sneltest die een snelle detectie van *Mycoplasma bovis* toelaat.

Eigenschappen van sneltesten

Het grote voordeel van sneltesten voor kiemdetectie is dat het resultaat (zowel van de kiem als van een eventueel antibiogram) sneller kan geleverd worden aan de gebruiker dan het geval is bij uitgebreid onderzoek van melkstalen uitgevoerd door conventionele laboratoria. Waar het bij conventionele laboratoria vaak enkele dagen duurt voordat het resultaat bij de gebruiker terechtkomt (omdat het transporteren van het melkstaal van het melkveebedrijf tot aan het laboratorium enige tijd in beslag kan nemen), kan een sneltest meestal na 18 tot 24 uur incuberen reeds worden afgelezen en krijgt men een initiële indicatie van het type mastitisverwekker. De sneltesten zijn inzetbaar in de dierenartsenpraktijken en afhankelijk van het gebruiksgemak ook op melkveebedrijven. Hierdoor verliest men geen tijd voor lang transport naar regionale laboratoria. Dit maakt dat er sneller kan overgegaan worden tot het nemen van gerichte, goed onderbouwde (behandel-)beslissingen in verband met de uiergezondheid.

Naast het snel leveren van een resultaat, moet de sneltest gemakkelijk visueel af te lezen zijn. Door gebruik te maken van selectieve agars, chromogene

agars (agars die bij incubatie van kleur veranderen bij de groei van een bepaald type kiem) en soms zelfs volautomatische aflezing, wordt het interpreteren van de resultaten gemakkelijker gemaakt (Viora et al., 2014; Ganda et al., 2016; Jones et al., 2019). Om het selectief behandelen van niet-ernstige klinische mastitis toe te passen, volstaat het om te weten of de kiem grampositief dan wel gramnegatief is. In dit opzicht is het enten van melk op bijvoorbeeld een gewone bloedagar en een McConkey-agar voldoende. Wil men echter de kiemen verder differentiëren, dan zijn meer selectieve sneltesten aan de orde. Zo laat een agar die mannitol bevat (bijvoorbeeld in de Vetorapid®), de identificatie van *S. aureus* sneller toe doordat de groeibodem van roze naar geel verkleurt (Viora et al., 2014). Naast selectieve groeibodems kunnen ook additionele testen, zoals de agglutinatietest (onderscheid tussen NAS en *S. aureus*), de kaliumhydroxide-test (onderscheid tussen grampositief en gramnegatief) en de katalasetest (onderscheid tussen enerzijds streptokokken en streptokokachtigen zoals enterokokken en lactokokken, en anderzijds stafylokokken) meer informatie geven over de soort bacterie die groeit (Chauhan en Jindal, 2020). Wanneer twee (of drie bij sneltesten met een niet-selectieve plaat) of meer verschillende types kolonies geïdentificeerd kunnen worden, wordt het staal als polybacterieel of gecontamineerd beschouwd.

Testkarakteristieken

Elke sneltest heeft zijn eigen testkarakteristieken en voorspellende waarden. Indien de sneltesten enkel gebruikt worden om te beslissen of er al dan niet met antibiotica kan behandeld worden (niet-ernstige klinische mastitis), dan volstaat het om het resultaat te kunnen classificeren als polybacterieel, geen groei, groei van een grampositieve kiem (reincultuur) of groei van een gramnegatieve kiem (reincultuur). MastDecide®, Point of Cow®, VetoSlide® en Minnesota Easy® culture system bi-plaat zijn voorbeelden van sneltesten die volstaan voor het nemen van deze beslissingen.

Voor andere beslissingen zoals het afstemmen van het antibioticum op de meest voorkomende resistentiepatronen en het spectrum, de therapieduur, het al dan niet met antibiotica droogzetten van een koe of een kwartier en het optimaliseren van het uiergezondheidsmanagement (zoals het afzonderen en opruimen van dieren), is het aangeraden om gebruik te maken van een test waar verdere kiemdifferentiatie tot op genus- en zelfs speciesniveau mogelijk is zoals bij VetoRapid®, Accumast®, Check-up®, Mastatest®, Speed Mam Color™ en Acumen® (Lago en Godden, 2018).

In ideale omstandigheden wordt vooral naar de positief en negatief voorspellende waarden (PVW respectievelijk NVW) van de sneltesten gekeken. De PVW vertelt iets over de kans dat een koe/kwartier ook effectief geïnfecteerd is bij een positieve test, terwijl de NVW de kans weergeeft dat een koe/kwartier effectief niet geïnfecteerd is bij een negatieve test. Deze waarden zijn bij de sneltesten echter laag aan-

gezien ze sterk afhangen van de prevalentie en van de testkarakteristieken [sensitiviteit (Se) en specificiteit (Sp)]. Aangezien de prevalentie van mastitis verschilt van bedrijf tot bedrijf maar doorgaans niet zeer hoog is (Verbeke et al., 2014), is het beter vooral te focussen op de testkarakteristieken die niet afhangen van de prevalentie. Hoe hoger de Se, hoe hoger de kans dat wanneer een koe/kwartier geïnfecteerd is, de test ook effectief positief zal zijn en hoe lager de kans op een vals-negatief resultaat. Hoe hoger de Sp daarentegen, hoe hoger de kans dat wanneer een koe/kwartier niet geïnfecteerd is, de test ook effectief negatief zal zijn en hoe lager de kans op een vals-positief resultaat. In Tabel 2 wordt een overzicht gegeven van de snelsten met hun testkarakteristieken. Voor de uiergezondheid op een bedrijf is het van belang dat koegebonden pathogenen, zoals *S. aureus* en *S. agalactiae*, zeker gedetecteerd worden. Ook andere grampositieve major pathogenen, zoals *S. uberis* en *S. dysgalactiae*, worden het best herkend zodat de koe behandeld kan worden. In dit opzicht is een test die een hoge Se heeft voor grampositieve kiemen het meest geschikt, omdat er weinig vals-negatieve resultaten zijn en koeien die geïnfecteerd zijn met een grampositieve kiem een behandeling met antibiotica behoeven, bijgevolg ook zeker met antibiotica worden behandeld. Testen waarvan een hoge sensitiviteit voor grampositieve kiemen werd beschreven zijn onder andere Accumast® (algemene Se voor grampositieve kiemen van 98%), MastaTest® (algemene Se voor grampositieve kiemen van 95% en Se van 88% voor zowel *S. aureus* als *S. uberis*) en Speed Mam Color® (algemene Se voor grampositieve kiemen van 92%). Daarnaast mag Sp niet verwaarloosd worden om het hoofddoel van het selectief behandelen, namelijk het verminderen in antibioticumgebruik, niet te ondermijnen. Wanneer de Sp van een test laag is, wordt de kans groter dat koeien die niet-geïnfecteerd zijn met een grampositieve kiem, toch met antibiotica behandeld worden. Testen met elkaar vergelijken is niet eenvoudig. Voor de vergelijking van testen is het belangrijk om over een referentiemethode of gouden standaard te beschikken. Voor de identificatie van mastitisverwekkers wordt standaard bacteriologisch onderzoek nog steeds als de gouden standaard gezien, maar ook voor deze test zijn de sensitiviteit en specificiteit niet 100%. In een recente studie werd een vergelijking van de testkarakteristieken van MastaTest® en standaard bacteriologisch onderzoek gesimuleerd aan de hand van een gesofisticeerde statistische analyse (Jones et al., 2019). Er werden geen significante verschillen gevonden voor wat de detectie van *S. uberis*, *S. aureus* en coliformen betreft tussen beide testen. Verder onderzoek is nodig om het vermogen tot identificatie van de verschillende mastitisverwekkers van MastaTest® in het veld te evalueren. Om het doel van het selectief behandelen (namelijk gericht behandelen met antibiotica om zo tot een reductie in het gebruik en een tot een meer verantwoordelijk gebruik te komen) zo goed mogelijk na te streven, is een hoge algemene Sp van

de snelst nodig met betrekking tot het differentiëren van het grampositief of -negatief zijn van de infectie, met meer aandacht voor de gramnegatieve kiemen. VetoRapid® (98% Sp voor *E. coli*), Speed Mam Color™ (96% algemene Sp), VétSlide (94% Sp voor gramnegatieven en 97% voor *E. coli*) en Check-Up® (94% Sp voor gramnegatieven) scoren hierbij het beste. Voor de detectie van *Mycoplasma bovis* is Acumen MYCOB™ de aangewezen test met hoge (door de producent beschreven) waarden voor zowel Se (98%) als voor Sp (100%) (Tabel 2). Deze laatste test werd in de wetenschappelijke literatuur nog niet beschreven. Bijgevolg is voorzichtigheid aangewezen bij het hanteren van deze cijfers.

Elke gebruiker dient voor zichzelf na te gaan welke snelst het beste zijn/haar verwachtingen invult, rekening houdend met de testkarakteristieken maar daarnaast ook met de kostprijs, leveringsvoorwaarden en het gebruiksgemak.

TRACEERBAARHEID, DATAVERWERKING EN RAPPORTAGE AAN DE KLANT

Even belangrijk als het aseptisch nemen van het melkstaal en steriel uitvoeren van de snelst, is de correcte identificatie van de melkstalen en de snelsten. Minimale identificatie op elk melkstaal en op elke snelst houdt in: (1) datum van de staalname/enting van de snelst, (2) koe-identificatie, (3) identificatie veehouder, (4) kwartierpositie, (5) klinische mastitis of ter beslissing van selectief droogzetten en (6) eventueel een dossiernummer bij de snelst indien met labosoftware gewerkt wordt. Identificatie kan gebeuren aan de hand van een sticker of met een permanente markerstift. Bij agarplaten dient erop gelet te worden dat de identificatie gebeurt aan de onderzijde van de agar en niet op het dekseltje zodat er nadien bij het aflezen geen verwisseling tussen verschillende testen mogelijk is.

Het verzamelen en verwerken van de data kunnen gebeuren aan de hand van gespecialiseerde labosoftware [zoals MEX@LAB® (Mexcellence BV, België), inherente software zoals bij de MastaTest®] of softwareprogramma's die op de melkveebedrijven gebruikt worden (zoals Unifarm®) die toelaten om alle info te verzamelen, te analyseren en op te slaan. Ook het creëren en rapporteren van een advies aan de veehouder kunnen via dergelijke programma's gebeuren. Dit laat toe om het algemene overzicht te behouden, zeker wanneer er verschillende stalen van verschillende koeien en verschillende bedrijven tegelijk geanalyseerd moeten worden.

PRAKTISCH

1. Een propere werkruimte met incubator en klein labomateriaal met de nodige aandacht voor bioveiligheid voorzien.

2. Beslissing over het werkdoel van de resultaten:
 - a. Als dierenarts de veehouder ondersteunen bij het toepassen van selectief behandelen (brede diagnosestelling is hier voldoende: grampositief of gramnegatief) (Creytens et al., 2024)
 - b. De bedrijfsspecifieke preventieplannen met betrekking tot uiergezondheid aanpassen (verdere kiemdifferentiatie nodig)
 - c. De behandelprotocollen op de bedrijven aanpassen, rekening houdend met eventuele antimicrobiële resistentie (mee bepalen van de antibioticumgevoeligheid).
3. Se en Sp van de test nakijken om de betrouwbaarheid van de verkregen resultaten na te gaan
4. Een duidelijk advies voor de veehouder formuleren
5. De resultaten van de sneltesten (indien kiemdifferentiatie mogelijk is) samenbundelen met de resultaten van bacteriologisch onderzoek uit andere laboratoria om een beeld te vormen van de meest voorkomende mastitispathogenen op het bedrijf en om zo het mastitis preventieplan aan te passen.

CONCLUSIES

Er zijn verschillende soorten sneltesten voor kiemdetectie in melk op de markt, elk met hun eigen testkarakteristieken en eigenschappen. Om het principe van het selectief behandelen van klinische mastitis te kunnen uitvoeren, zijn eenvoudige testen die aangeven of het om een grampositieve of gramnegatieve bacterie gaat, voldoende. Voor een meer diepgaande diagnosestelling, wordt een meer specifieke en complexe sneltest aangeraden die verdere kiemdifferentiatie toelaat. Voor de meeste sneltesten is een minimale investering in een labo-omgeving (propere ruimte, incubator, koelkast en klein labomateriaal) voldoende. De meer uitgebreide testen vragen een iets grotere investering (zoals de specifieke incubator en software voor de MastaTest®). Het is ook aangewezen om geregeld een kwaliteitscontrole uit te voeren bij het gebruiken en interpreteren van de sneltesten. Dit kan bijvoorbeeld door middel van een ringtest (onafhankelijke controle op de analysekwaliteit). Persoonlijke voorkeur en noden zijn beslissend wie welke sneltest zal gebruiken. Het mag duidelijk zijn dat iedere dierenarts, mits een degelijke basisopleiding, in staat moet zijn om sneltesten te gebruiken op zijn/haar praktijk en deze in te passen in een innoverende service, waardoor hij/zij (opnieuw) meer betrokken wordt bij het managen van de uiergezondheid bij zijn/haar klanten. Daarnaast kunnen ook melkveehouders bacteriologisch onderzoek aan de hand van sneltesten zelf uitvoeren op hun bedrijf. Een degelijke opleiding en voldoende externe ondersteuning zijn hierbij onontbeerlijk. In beide omstandigheden (uitvoering op de dierenartsenpraktijk/op het melkveebedrijf) is een voldoende aantal casussen (voldoende groot cliënteel respectievelijk voldoende aantal lacterende dieren)

van belang om genoeg ervaring te kunnen opbouwen en vast te houden.

REFERENTIES

- Bates A., Laven R., Bork O., Hay M., McDowell J., Saldias B. (2020). Selective and deferred treatment of clinical mastitis in seven New Zealand dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 176, 104915.
- Boerlin P., Kuhnert P., Hüsey D., Schaeffli M. (2003). Methods for identification of *Staphylococcus aureus* isolates in cases of bovine mastitis. *Journal of Clinical Microbiology* 41(2), 767.
- Cameron M., Keefe G. P., Roy J. P., Dohoo I. R., MacDonald K. A., McKenna S. L. (2013). Evaluation of a 3M Petrifilm on-farm culture system for the detection of intramammary infection at the end of lactation. *Preventive Veterinary Medicine* 111(1-2), 1-9.
- Chauhan A., Jindal T. (2020). Biochemical and molecular methods for bacterial identification. *Microbiological Methods for Environment, Food and Pharmaceutical Analysis*, 425-468.
- de Jong E., Creyten L., De Vlieghe S., McCubbin K. D., Baptiste M., Leung A. A., Speksnijder D., Dufour S., Middleton J. R., Ruegg P. L., Lam T. J. G. M., Kelton D. F., McDougall S., Godden S. M., Lago A., Rajala-Schultz P. J., Orsel K., Krömker V., Kastelic J. P., Barkema H. W. (2023). Selective treatment of non-severe clinical mastitis does not adversely affect cure, somatic cell count, milk yield, recurrence, or culling: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 106(2), 1267-1286.
- De Visscher A., Haesebrouck F., Piepers S., Vanderhaeghen W., Supré K., Leroy F., Van Coillie E., De Vlieghe S. (2013). Assessment of the suitability of mannitol salt agar for growing bovine-associated coagulase-negative staphylococci and its use under field conditions. *Research in Veterinary Science* 95(2), 347-351.
- Ferreira J. C., Gomes M. S., Bonsaglia E. C. R., Canisso I. F., Garrett E. F., Stewart J. L., Zhou Z., Lima F. S. (2018). Comparative analysis of four commercial on-farm culture methods to identify bacteria associated with clinical mastitis in dairy cattle. *PLoS ONE*, 13(3).
- Ganda E. K., Bisinotto R. S., Dexter D. H., Bicalho R. C. (2016). Evaluation of an on-farm culture system (Accumast) for fast identification of milk pathogens associated with clinical mastitis in dairy cows. *PLoS ONE*, 11(5).
- Jones G., Bork O., Ferguson S. A., Bates, A. (2019). Comparison of an on-farm point-of-care diagnostic with conventional culture in analysing bovine mastitis samples. *Journal of Dairy Research* 86(2), 222-225.
- Kateete D. P., Kimani C. N., Katabazi F. A., Okeng A., Okee M. S., Nanteza A., Joloba M. L., Najjuka F. C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9-23.
- Kiku Y., Nagasawa Y., Sugawara K., Yabusaki T., Oono K., Fujii K., Maehana K., Hayashi T. (2021). Evaluation of a rapid coliform detection kit from clinical mastitis milk using colloidal gold nanoparticle-based immunochromatographic strips. *Journal of Veterinary Medical Science* 83(11), 1628-1633.

- Lago A., Godden S. M. (2018). Use of rapid culture systems to guide clinical mastitis treatment decisions. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 34(3), 389-412.
- Lago A., Godden S. M., Bey R., Ruegg P. L., Leslie K. (2011a). The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time, and short-term clinical and bacteriological outcomes. *Journal of Dairy Science* 94(9), 4441-4456.
- Lago A., Godden S. M., Bey R., Ruegg P. L., Leslie K. (2011b). The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: II. Effects on lactation performance, including clinical mastitis recurrence, somatic cell count, milk production, and cow survival. *Journal of Dairy Science* 94(9), 4457-4467.
- Leimbach S., Krömker V. (2018a). Laboratory evaluation of a novel rapid tube test system for differentiation of mastitis-causing pathogen groups. *Journal of Dairy Science* 101(7), 6357-6365.
- Malcata F., Zadoks R., Viora L. (2021). Laboratory-based evaluation of a simplified point-of-care test intended to support treatment decisions in non-severe bovine clinical mastitis. *Article in Journal of Dairy Research* 88, 170-175.
- Mansion-de Vries E. M., Knorr N., Paduch J. H., Zinke C., Hoedemaker M., Krömker V. (2014a). A field study evaluation of Petrifilm™ plates as a 24-h rapid diagnostic test for clinical mastitis on a dairy farm. *Preventive Veterinary Medicine* 113(4), 620-624.
- McCarron J. L., Keefe G. P., McKenna S. L. B., Dohoo I. R., Poole D. E. (2009). Laboratory evaluation of 3M petrifilms and University of Minnesota Bi-plates as potential on-farm tests for clinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 92(5), 2297-2305.
- McDougall S., Niethammer J., Graham E. M. (2018). Antimicrobial usage and risk of retreatment for mild to moderate clinical mastitis cases on dairy farms following on-farm bacterial culture and selective therapy. *New Zealand Veterinary Journal* 66(2), 98-107.
- Royster E., Godden S., Goulart D., Dahlke A., Rapnicki P., Timmerman J. (2014). Evaluation of the Minnesota Easy Culture System II Bi-Plate and Tri-Plate for identification of common mastitis pathogens in milk. *Journal of Dairy Science* 97(6), 3648-3659.
- Swinkels J. M., Leach K. A., Breen J. E., Payne B., White V., Green M. J., Bradley A. J. (2021). Randomized controlled field trial comparing quarter and cow level selective dry cow treatment using the California Mastitis Test. *Journal of Dairy Science* 104(8), 9063-9081.
- Van de Velde P., Baert J., Hermans D., Marjaux E., Ska B., Van Praet W. (2014). *Handleiding Beheer Medische Afvalstoffen*. OVAM, Mechelen.
- Verbeke J., Piepers S., Supré K., De Vlieghe, S. (2014). Pathogen-specific incidence rate of clinical mastitis in Flemish dairy herds, severity, and association with herd hygiene. *Journal of Dairy Science* 97, 6926-6934.
- Viora L., Graham E. M., Mellor D. J., Reynolds K., Simoes P. B. A., Geraghty T. E. (2014). Evaluation of a culture-based pathogen identification kit for bacterial causes of bovine mastitis. *Veterinary Record* 175(4), 89-89.



***Brucella canis*: een opkomende ziekte in Vlaanderen of reeds endemisch?**

Brucella canis: an emerging disease in Flanders or already endemic?

J. Timmermans, J. Lannoo, A. Van Soom

¹Vakgroep Interne Geneeskunde, Voortplanting en Populatiegeneeskunde,
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

timmermansjoliën@hotmail.com

SAMENVATTING

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van *Brucella canis*, de prevalentie ervan en hoe groot het risico is voor hondenfokkers, hondeneigenaren en dierenartsen in Vlaanderen. De laatste tijd nemen meldingen van het voorkomen van *B. canis* op het vasteland van Europa alsmaar toe. Bij honden veroorzaakt deze bacterie voornamelijk voortplantingsstoornissen, maar ook discospondylitis en oogaandoeningen kunnen voorkomen. Verder kunnen ook lymfadenitis en symptomen van algemeen ziek zijn aanwezig zijn. Andere symptomen zijn eerder zeldzaam. Hondenpopulaties die risico lopen zijn fokdieren, straathonden en honden geïmporteerd uit endemische gebieden (de Verenigde Staten, Centraal- en Zuid-Amerika en Azië) en honden die worden geïmporteerd uit risicogebieden, zoals het Middellandse Zeegebied en Oost-Europa. Serologie is het belangrijkste diagnostisch middel en de diagnose dient gesteld te worden door een erkend labo (Sciensano). Dit labo is er ook toe verplicht om positieve gevallen te melden aan het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV). Er wordt geadviseerd om een dier dat positief test, te euthanaseren, aangezien de behandeling over het algemeen niet succesvol is. Bovendien veroorzaakt *B. canis* niet alleen ziekte bij de hond maar betreft het hier een zoönose.

ABSTRACT

In this article, an overview is provided of *Brucella canis*, its prevalence and the significance of the threat posed by this pathogen to dog breeders, dog owners and veterinarians in Flanders. Recently, reports on the occurrence of *B. canis* on mainland Europe are on the increase. In dogs, this pathogen mainly causes reproductive disorders, but discospondylitis and eye pathologies can occur. Furthermore, lymphadenitis and symptoms of general illness may also be present. Other symptoms are rather rare. Dog populations at risk include breeding stock, stray dogs, dogs imported from areas endemic for *B. canis*, such as the United States, Central and South America and Asia, and dogs imported from regions at risk, such as the Mediterranean and Eastern Europe. Serology is the most important diagnostic tool and the diagnosis must be made by a recognized laboratory (Sciensano). This laboratory is also obliged to report positive cases to the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FAVV). Treatment is unsuccessful, so euthanasia is recommended. Furthermore, *B. canis* does not only cause disease in dogs, but is also a zoonotic disease.

INLEIDING

Brucella canis is een gramnegatieve, aërobe, intracellulaire bacterie waarvan honden en wilde canidae de enige reservoirdieren zijn (De Massis et al., 2021). In 1966 werd *Brucella canis* voor het eerst ge-

ïsoleerd als de oorzaak van abortus in een kennel van beagles in de VS (Hofer et al., 2012; Cosford, 2018; Olsen en Palmer, 2014). Honden kunnen besmet raken tijdens dekking, door oronasaal contact met vaginale uitvloeï of met geaborteerd materiaal (foetus, vruchtwater, placenta), en pups kunnen in utero

of congenitaal geïnfecteerd worden (Greene en Carmichael, 2006; Cosford, 2018). Ook urine en sperma zijn bronnen van infectie met *B. canis* aangezien reu- en drager kunnen zijn van deze bacterie in de prostaat en epididymis. Minder frequente transmissieroutes zijn overdracht via besmette voorwerpen, melk van geïnfecteerde teven en contact met feces en nasale en oculaire afscheidingen (Greene en Carmichael, 2006). *Brucella canis* is een zoönose en verspreiding van deze bacterie zou dus gevolgen kunnen hebben voor de volksgezondheid (De Massis et al., 2021). De relevantie van een humane *B. canis*-infectie voor de volksgezondheid is echter nog onduidelijk omdat veel van de bestaande kennis afkomstig is van casusbeschrijvingen (Kolwijck et al., 2022).

Klinische presentaties bij de hond

Brucella canis is typisch geassocieerd met ziekten van het voortplantingsstelsel maar kan daarnaast ook een breed scala aan andere aandoeningen veroorzaken (Cosford, 2018). Het is belangrijk om op te merken dat de meeste dieren er niet ernstig ziek uit zien, ondanks de gegeneraliseerde systemische infectie (Greene en Carmichael, 2006; Cosford, 2018). Sterfgevallen ten gevolge van *B. canis* zijn zeldzaam, behalve in utero, bij neonati of bij honden die ernstig ziek worden (Cosford, 2018).

TEEF

Wat de voortplantingsstoornissen betreft bij vrouwelijke geïnfecteerde dieren kunnen drachtige teven die venerisch geïnfecteerd werden, vroege embryonale sterfte vertonen twee tot drie weken na de dekking. Dit symptoom lijkt op falen van de bevruchting of op onvruchtbaarheid. Als de teef toch drachtig blijft, vindt er meestal een spontane abortus plaats tussen dag 45 en dag 55 van de dracht (zeven tot negen weken drachtig) (Cosford, 2018). Dit is het belangrijkste symptoom van *B. canis* (Greene en Carmichael, 2006). Minder frequent gebeurt het dat geïnfecteerde teven levende puppy's werpen die asymptomatisch geïnfecteerd zijn of een combinatie van dode en levende pups werpen (Wanke, 2004; Greene en Carmichael, 2006; Hollet, 2006; Dentinger et al., 2014; Cosford, 2018). Klinisch normale pups kunnen later ziek worden (Cosford, 2018), maar pups die levend geboren worden, sterven meestal binnen een paar uur tot dagen (Greene en Carmichael, 2006). Pups die overleven of die als neonati zijn geïnfecteerd, kunnen ook gegeneraliseerde perifere lymfadenomegalie vertonen tot ze geslachtsrijp zijn. Dergelijke puppy's hebben gewoonlijk ook een aanhoudende hyperglobulinemie en sommige kunnen voorbijgaande koorts, leukocytose of convulsies vertonen als systemische manifestatie van hun infectie (Greene en Carmichael, 2006). *Brucella canis* interfereert niet met de normale

oestrische cyclus. Een teef die geaborteerd heeft, kan later normale nesten hebben. Soms wordt intermitterend reproductief falen gezien (Greene en Carmichael, 2006). Verder komt er soms ook endometritis voor (Cosford, 2018). Niet-drachtige teven vertonen mogelijk geen klinische symptomen of kunnen eventueel regionale lymfadenopathie hebben (Davidson en Sykes, 2014).

REU

Wat de aantasting van het voortplantingsstelsel betreft bij reuen, vertonen venerisch geïnfecteerde reuen epididymitis en scrotumoedeem tijdens de acute fase van de infectie (Greene en Carmichael, 2006; Cosford, 2018). Microscopische epididymale ontsteking ontwikkelt zich meestal vanaf vijf weken na infectie met een geleidelijke progressie van de symptomen. Zwelling van de testikels is een gevolg van een vergroting van de cauda van de epididymis (Greene en Carmichael, 2006). Orchitis komt minder vaak voor (Greene en Carmichael, 2006; Cosford, 2018) en ook primaire testiculaire vergroting is zelden zichtbaar (Greene en Carmichael, 2006). Als gevolg van zelfgeïnduceerde irritatie door likken en een secundaire bacteriële infectie kan er ook scrotale dermatitis optreden. De ziekte kan evolueren naar een chronisch stadium gekenmerkt door unilaterale of bilaterale testiculaire atrofie, chronische epididymitis en onvruchtbaarheid (Davidson en Sykes, 2014; Cosford, 2018). Bij reuen waarbij zich deze chronische epididymitis ontwikkelt, is 90% van de spermacellen twintig weken na infectie abnormaal (Cosford, 2018). Meestal is er ook een verminderd ejaculaatvolume aanwezig. Acute pijn is meestal niet duidelijk bij palpatie van het scrotum of de testikels, maar ongemak kan worden waargenomen op het moment van ejaculatie (Greene en Carmichael, 2006). Bij sommige reuen ontwikkelen zich echter geen sperma-afwijkingen en onvruchtbaarheid, maar kan de bacterie zich nog steeds verspreiden, hoogstwaarschijnlijk via het prostaatvocht. Verder werden er ook reeds prostaataandoeningen zoals prostatitis waargenomen (Cosford, 2018). Er kan zich ook pyospermie ontwikkelen drie tot vier maanden na infectie (Davidson en Sykes, 2014).

AANDOENINGEN BUITEN HET GENITALE STELSEL

Naast de impact op het voortplantingsstelsel kan een *Brucella canis*-infectie ook niet-reproductieve problemen veroorzaken. Twee van deze ziektesymptomen zijn chronische uveïtis en endoftalmitis.

Ook kan *B. canis* discospondylitis veroorzaken (Greene en Carmichael, 2006; Davidson en Sykes, 2014; Cosford, 2018). Honden die hier aan lijden, kunnen aangeboden worden met stijfheid, rugpijn,

nekpijn, manken, inspanningsintolerantie, parese en mogelijk paralyse ten gevolge van spinale compressie (Davidson en Sykes, 2014).

Verder veroorzaakt *B. canis* mogelijk ook lymfadenitis (Cosford, 2018). Bij sommige honden met lymfadenomegalie kan er tevens splenomegalie aanwezig zijn (Greene en Carmichael, 2006). Andere manifestaties van *B. canis*, zoals pyogranulomateuze dermatitis, endocarditis, appendiculaire osteomyelitis zijn eerder zeldzaam (Cosford, 2018). Ook kan er soms meningo-encefalitis optreden; hiervan is de frequentie echter onbekend (Cosford, 2018). Volgens Greene en Carmichael (2006) zou neurobrucellose niet vaak voorkomen bij honden. Daarnaast zijn er ook verschillende niet-specifieke symptomen in verband gebracht met *B. canis*-infectie, waaronder koorts (zelden), lethargie/vermoeidheid, inspanningsintolerantie, verminderde eetlust, gewichtsverlies en gedragsafwijkingen zoals verlies van alertheid en slechte uitvoering van commando's (Cosford, 2018).

Verspreiding en risicofactoren

B. canis werd reeds gerapporteerd in verscheidene gebieden in de wereld (De Massis et al., 2021, Santos et al., 2021). Deze bacterie is endemisch in het zuiden van de Verenigde Staten, Centraal- en Zuid-Amerika (Wanke, 2004; Holst et al., 2012; Buhman et al., 2019; De Massis et al., 2021; van Dijk et al., 2021; Kolwijck et al., 2022). Ook Azië werd als endemisch gebied beschreven (Kolwijck et al., 2022). Verder werd *B. canis* ook gerapporteerd in Canada, Afrika en Europa (Holst et al., 2012; Buhmann et al., 2019; De Massis et al., 2021; van Dijk et al., 2021). Meldingen van het voorkomen van deze bacterie op het Europese vasteland nemen alsmat toe (Holst et al., 2012) en komen uit verschillende Europese landen waaronder ook België (Santos et al., 2021). Er zijn echter geen verplichte testen noch opvolging in Europa, waardoor de ware prevalentie van deze bacterie in dit gebied onbekend is (Kolwijck et al., 2022; Buhmann et al., 2019; van Dijk et al., 2021).

Hondenpopulaties die een risico vormen voor het verder verspreiden van *B. canis*, zijn straathonden, geïnfecteerde honden die geïmporteerd worden en fokdieren. Landen met een grote populatie straathonden hebben een hogere prevalentie van *Brucella canis*

(Carmichael, 1990; Buhmann et al., 2019; De Massis et al., 2021). Het feit dat straathonden vaak reproductief intact en seksueel actief zijn, draagt bij tot de verspreiding en het behoud van deze bacterie binnen dergelijke hondenpopulaties (De Massis et al., 2021; Santos et al., 2021). Vooral in Zuid- en Oost-Europese landen komen grote populaties zwerfhonden voor, wat een belangrijke risicofactor vormt (Buhmann et al., 2019). Straathonden in het Middellandse Zeegebied (Holst et al., 2012; Egloff et al., 2018) en in Oost-Europa zouden dan ook zeer waarschijnlijk kunnen fungeren als reservoir voor *B. canis* (Egloff et al., 2018).

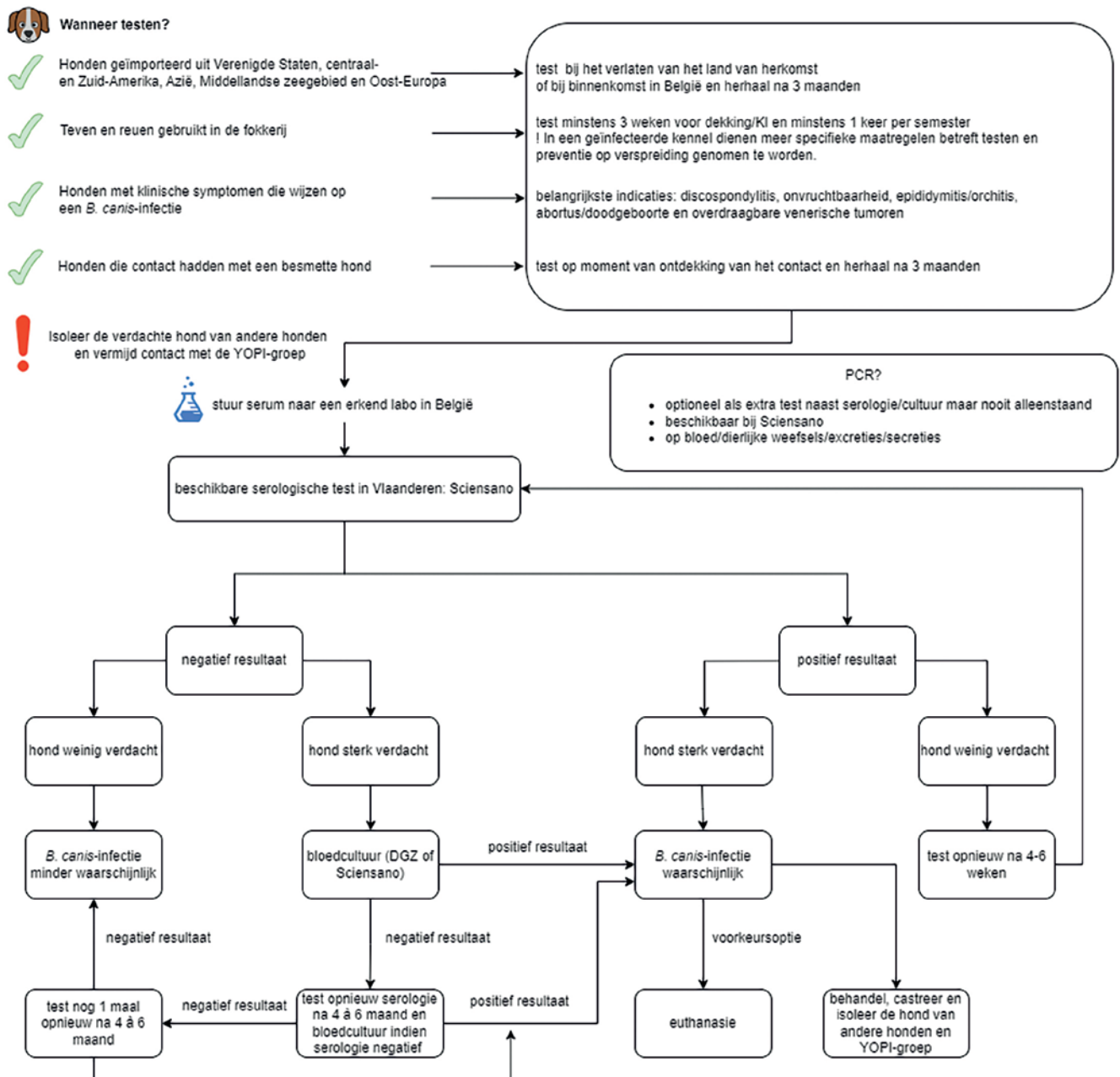
Verspreiding van *B. canis* naar niet-endemische landen in Europa is beschreven. Dit vindt voornamelijk plaats via import van geïnfecteerde honden (Egloff et al., 2018; Kolwijck et al., 2022; van Dijk et al., 2021). Dit werd bijvoorbeeld aangetoond in een studie naar het voorkomen van *B. canis* in Nederland tussen 2016 en 2018. Hierbij werden tien honden seropositief bevonden en na tracerings van deze honden werden er nog acht seropositieve nestgenoten gevonden. Al deze honden waren rescuehonden uit Oost-Europa (van Dijk et al., 2021).

Ook in België vormt import een grote risicofactor. Jaarlijks worden er 30.000 honden geregistreerd in België die niet beschikken over een Belgisch paspoort. In Tabel 1 wordt het aantal honden per land van herkomst (top 6) weergegeven die geregistreerd werden in het "Trade Control and Expert System" (TRACES) tussen 2017 en 2020. Van de 30.000 honden die jaarlijks geregistreerd worden, worden er 16.000 puppy's ingevoerd door kweker-handelaars. Hierbij gaat het vooral om import uit de landen Hongarije, Slovaakije en Tsjechië. Het andere deel betreft vooral asiel- en straathonden uit Roemenië en Spanje (Anonymous, 2022).

In kennels met honden waarmee gefokt wordt, is er een verhoogd risico op instandhouding van infectie (Buhmann et al., 2019). Overdracht via sperma en vaginale secretie en contact met geaborteerd materiaal vormen dan ook de voornaamste transmissieroutes (Lucero et al., 2002; Hollet, 2006; Egloff et al., 2018; van Dijk et al., 2021). Vaginale afscheiding van infectieuze secreties kan persisteren tot vier à zes weken na abortus. Dit maakt dat een aborterende teef een hoog risico vormt voor de verspreiding van *B. canis* in een kennel (Hollet, 2006). Daarnaast wordt, zoals reeds

Tabel 1. Aantal honden per land van herkomst (top 6) die geregistreerd werden in het TRACES tussen 2017 en 2020. (Uit: https://assets.vlaanderen.be/image/upload/v1671737886/Advieswijzer_VRvD_invoer_van_straat_en_asielhonden_29.09.22_vvbva0.pdf).

| Land van herkomst | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 |
|-------------------|-------|-------|------|------|
| Hongarije | 1818 | 1660 | 4126 | 8854 |
| Slovaakije | 12704 | 12167 | 8515 | 6244 |
| Roemenië | 1166 | 1748 | 2687 | 4667 |
| Tsjechië | 3960 | 3483 | 4437 | 3584 |
| Spanje | 1477 | 1562 | 1873 | 2263 |
| Italië | 26 | 34 | 18 | 71 |



Figuur 1. Voorstel betreffende de diagnostische aanpak in Vlaanderen (Uit: Timmermans, 2023).

aangegeven, deze bacterie ook vaak verticaal overgedragen van teef naar pups (Greene en Carmichael, 2006; Cosford, 2018; van Dijk et al., 2021).

AANPAK DOOR VLAAMSE DIERENARTSEN

In België is er nog geen bewakingsprogramma voor *Brucella canis* voorhanden. In Figuur 1 wordt daarom een voorstel gedaan hoe deze problematiek in Vlaanderen zou kunnen worden aangepakt.

De isolatie en identificatie van *Brucella* spp. of het anderszins bewijzen van de aanwezigheid ervan behoren tot de taken van de erkende laboratoria (Burgelman en De Vlieghe, 2021). Bloedproducten (serum)

mogen opgestuurd worden naar drie verschillende erkende laboratoria in België: DGZ, Sciensano en ARSIA. Dierlijke organen en weefsels (bijvoorbeeld geaborteerd materiaal) mogen enkel naar Sciensano worden gestuurd (Anonymous, 2023). Wanneer een test positief wordt bevonden voor *B. canis* dient dit gemeld te worden aan het FAVV. De verantwoordelijkheid hiervan ligt bij het betreffende laboratorium (Demotte, 2005). Brucellose bij honden is niet aangifteplichtig bij de World Organisation for Animal Health (OIE) of de Europese Unie in tegenstelling tot brucellose bij vee (Holst et al., 2012; Buhmann et al., 2019; van Dijk et al., 2021).

Sciensano is het labo in Vlaanderen dat serologie aanbiedt. Hiervoor dient een serumstaal opgestuurd te

worden samen met het aanvraagformulier. Deze serologische test is een kwalitatieve test voor *Brucella canis*-antilichamen die onderhevig kan zijn aan analysefouten (Timmermans, 2023). Het resultaat van deze test zou volgens Barker en BSAVA Scientific Committee (2023) bevestigd moeten worden door een extra test zoals een combinatie van SAT, RSA, en iELISA. Dit is vooral nodig bij honden zonder symptomen die wijzen op *B. canis*. Deze testen zijn echter (nog) niet beschikbaar in België (Timmermans, 2023). Serologische testen voor andere *Brucella* spp. werken niet voor *B. canis*.

Andere testen die wel beschikbaar zijn in Vlaanderen zijn PCR en een bacteriologische cultuur (Timmermans, 2023). Deze testen zijn echter niet aan te raden als screeningstest of bevestigingstest van serologisch positieve resultaten. De gevoeligheid van deze testen is namelijk gering en positieve resultaten worden vaak alleen gezien bij vroege of acute klinische infectie. Een negatief resultaat via deze testen sluit infectie met *B. canis* dan ook niet uit. Een bloedcultuur kan wel waardevol zijn bij honden die sterk verdacht zijn van een *B. canis*-infectie en waarbij het serologische resultaat negatief is. Ook wanneer de hond nog maar recent een hoog risicocontact heeft gehad, kan men eventueel een bloedcultuur aanvragen, aangezien er vermoedelijk nog geen serologische conversie is opgetreden (Barker en BSAVA Scientific Committee, 2023). Voor een bloedcultuur kunnen Vlaamse dierenartsen terecht bij DGZ of bij Sciensano (Timmermans, 2023).

BEHANDELING

De behandeling van een *B. canis*-infectie bij de hond is vaak niet succesvol. De reden hiervoor is het feit dat de bacterie gedurende lange tijd intracellulair aanwezig is (Greene en Carmichael, 2006; Hollet, 2006; Davidson en Sykes, 2014; De Massis et al., 2022) en deze ook een intermitterende bacteriëmie kan veroorzaken (Hollet, 2006; Davidson en Sykes, 2014; De Massis et al., 2022). Honden met klinische symptomen hebben een immuunrespons doorgemaakt die heeft geleid tot een persisterende infectie (Cosford, 2018). Herval na behandeling komt dan ook vaak voor (Greene en Carmichael, 2006; Davidson en Sykes, 2014; Cosford, 2018; Buhmann et al., 2019; Santos et al., 2021; De Massis et al., 2022). Wegens het blijvend geïnfecteerd zijn ook na behandeling en omwille van het zoönotisch risico en het gevaar voor besmetting van andere honden wordt er algemeen aangeraden om geïnfecteerde dieren te euthanaseren (Makloski, 2011; Holst et al., 2012; Cosford, 2018).

ZOÖNOSE

B. canis kan ook ziekte veroorzaken bij de mens. Het zoönotisch potentieel van *B. canis* is eerder laag

en is vooral van belang voor de YOPI -groep (Young, Old, Pregnant, Immunosuppressed). Brucellose bij de mens wordt voornamelijk veroorzaakt door *B. melitensis*, maar ook *B. abortus* en *B. suis* zijn mogelijk (Kolwijck et al., 2022; Timmermans, 2023; Laine et al., 2023). Mensen worden besmet door contact met geïnfecteerde honden of via laboratoriumblootstelling (De Massis et al., 2021). Meestal vindt overdracht van *B. canis* plaats na contact met vaginale uitvloeit of geaborteerd materiaal/vocht van geïnfecteerde teven of door contact met urine of sperma van besmette reuen (Lucero et al., 2010; Davidson en Sykes, 2014). Ook contact met bloed van een geïnfecteerde hond kan een humane besmetting veroorzaken (Hensel et al. 2018; Santos et al, 2021). De mens is relatief resistent tegen een *B. canis*-infectie (Ledbetter et al., 2009; Davidson en Sykes, 2014; Hensel et al., 2018). Een infectie bij de mens wordt dan ook beschouwd als zelflimiterend (Santos et al., 2021) maar bij zwangere vrouwen, immuungecompromitteerde personen en kinderen is het risico om ziekte te ontwikkelen groter (Davidson en Sykes, 2014; Hensel et al., 2018; Santos et al., 2021). Humane besmettingen werden tot dusver bijna uitsluitend gemeld in Amerika en Azië. De reden hiervoor is waarschijnlijk het feit dat *B. canis* endemisch is in deze regio's. In mei 2021 werd de eerste humane infectie in Nederland beschreven (Kolwijck et al., 2022). Dit betrof een patiënt die besmet raakte na contact met geïnfecteerde honden in haar kennel. Zij vertoonde koorts, hoofdpijn, rillingen, algemeen ziek zijn en twee palpeerbare cervicale lymfeknopen. De patiënt werd behandeld met doxycycline per os gedurende zes weken en intraveneus gentamycine gedurende twee weken. Na vier dagen was de koorts en het algemeen ziek zijn opgelost. CRP en levertesten normaliseerden na drie weken antimicrobiële therapie. Na het stopzetten van de antibiotica en ook tijdens een laatste controle (zes maanden na de start van de ziekte) vertoonde ze geen tekenen van herval. Dit zou het eerste humane geval zijn in Europa sinds 35 jaar (Kolwijck et al., 2022). Besmettingen met *B. canis* bij de mens werden tot nog toe niet vaak beschreven (Hensel et al., 2018; Yagupsky et al., 2019; van Dijk et al., 2021). De diagnose kan gemist worden omwille van de niet-specifieke symptomen (Cosford, 2018; Hensel et al., 2018; Yagupsky et al., 2019; van Dijk et al., 2021; De Massis et al., 2022) en omdat de ziekte door artsen niet vaak meegenomen wordt in de differentiaaldiagnose (Hensel et al., 2018; Yagupsky et al., 2019; De Massis et al., 2022). Daarnaast zijn er geen accurate serologische testen voor antilichamen bij de mens beschikbaar (Lucero et al., 2005; Hensel et al., 2018; Yagupsky et al., 2019; van Dijk et al., 2021). Cultuur van bijvoorbeeld bloed is de enige diagnostische tool die beschikbaar is (Hensel et al., 2018; De Massis et al., 2022). Bevestiging van een *B. canis*-infectie door middel van cultuur is echter moeilijk aangezien de bacteriëmie intermitterend is en deze ook vaak mild is (Rumley en Chapman, 1986; Hensel et al., 2018; De Massis et al., 2022). Waarschijnlijk

wordt de prevalentie van deze ziekte bij de mens dan ook onderschat (Hensel et al., 2018; Yagupsky et al., 2019; van Dijk et al., 2021).

CONCLUSIE

Gezien de toename van het voorkomen van *B. canis* op het Europese vasteland, kan er geconcludeerd worden dat deze bacterie zeker een risico vormt in Europa. Zolang er geen verder onderzoek gebeurt naar de prevalentie ervan en er geen opvolging is, blijft het de vraag of *B. canis* reeds endemisch is of niet. Het grootste risico voor België is de import van geïnfecteerde honden. Er worden namelijk jaarlijks heel wat honden geïmporteerd uit de risicogebieden Oost-Europa en het Middellandse Zeegebied. Daarnaast zou er bij een teef met late abortus en bij een onvruchtbare reu zeker gedacht moeten worden aan een *B. canis*-infectie. De moeilijkheid van het traceren van honden is ook een belangrijke risicofactor. Het opstellen van een wettelijk kader omtrent de *B. canis*-problematiek zou kunnen bijdragen tot de opvolging en bestrijding van de ziekte.

REFERENTIES

- Anonymous. (2022). Advieswijzer 29/09/2022-Vlaamse Raad voor Dierenwelzijn. https://assets.vlaanderen.be/image/upload/v1671737886/Advieswijzer_VRvD_invoer_van_straat_en_asielhonden_29.09.22_vvbva0.pdf.
- Anonymous. (2023). Lijst van erkende laboratoria en de erkende analyses. <https://www.favv-afscab.be/laboratoria/erkendelaboratoria/algemeenheden/lijst.asp>.
- Barker, E., BSAVA Scientific Committee. (2023). *Brucella canis*. BSAVA Scientific Information Documents, doi: 10.22233/9781910443514.1.9.
- Buhmann, G., Paul, F., Herbst, W., Melzer, F., Wolf, G., Hartmann, K., Fischer, A. (2019). Canine brucellosis: insights into the epidemiologic situation in Europe. *Frontiers in Veterinary Science* 6, doi: 10.3389/fvets.2019.00151.
- Burgelman, L., De Vlieghe, S. (2021). Epidemiologisch toezicht diergezondheid en voedselveiligheid. In: *Veterinair Recht*. Dertiende editie, Lefebvre Sarrut Belgium NV, Brussel, België, pp. 91-261.
- Carmichael, L.E. (1990). *Brucella canis*. In: Nielsen K. and Duncan J.R. (editors). *Animal Brucellosis*, 1, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 335-350.
- Cosford, K.L. (2018). *Brucella canis*: An update on research and clinical management. *The Canadian Veterinary Journal* 59, 74-81.
- Davidson, A.P., Sykes, J.E. (2014). Canine brucellosis. In: Sykes J.E. (editor). *Canine and Feline Infectious Diseases*. W.B. Saunders, Saint Louis, Missouri, USA, pp. 512-519.
- De Massis, F., Sacchini, F., Averaimo, D., Garofolo, G., Lecchini, P., Ruocco, L., Lomolino, R., Santucci, U., Sgariglia, E., Crotti, S., Petrini, A., Migliorati, G., D'Alterio, N., Gavaudan, S., Tittarelli, M. (2021). First Isolation of *Brucella canis* from a breeding kennel in Italy. *Veterinaria Italiana* 57, 215-226.
- De Massis, F., Sacchini, F., Petrini, A., Bellucci, F., Perilli, M., Garofolo, G., Savini, G., Tittarelli, M. (2022). Canine brucellosis due to *Brucella canis*: description of the disease and control measures. *Veterinaria Italiana* 58, 5-23.
- Demotte, R. (2005). Koninklijk besluit houdende maatregelen voor de bewaking van en de bescherming tegen bepaalde zoönoses en zoönoseverwekkers. https://www.ejustice.jugov.be/cgi/article_body.pl?language=nl&caller=summary&pub_date=05-05-26&numac=2005022397.
- Dentinger, C.M., Jacob, K., Lee, L.V., Mendez, H.A., Chotikantis, K., McDonough, P.L., Chico, D.M., De, B.K., Tiller, R.V., Traxler, R.M., Campagnolo, E.R., Schmitt, D., Guerra, M.A., Slavinski, S.A. (2015). Human brucella canis infection and subsequent laboratory exposures associated with a puppy, New York City, 2012. *Zoonoses and Public Health* 62, 407-414.
- Egloff, S., Schneeberger, M., Gobeli Brawand, S., Krudewig, C., Schmitt, S., Reichler, I., Peterhans, S. (2018). *Brucella canis* infection in a young dog with epididymitis and orchitis. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 160, 743-748.
- Galarce, N., Escobar, B., Martínez, E., Alvarado, N., Peralta, G., Dettleff, P., Dorner, J., Martínez, V., Borie, C. (2020). Prevalence and genomic characterization of *Brucella canis* strains isolated from kennels, household, and stray dogs in Chile. *Animals* 10, 2073.
- Greene, C.E., Carmichael, L.E. (2006). Canine Brucellosis. In: Greene C.E. (editors). *Infectious Diseases of The Dog and Cat*. Second edition, Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, USA, pp. 398-411.
- Hensel, M. E., Negron, M., Arenas-Gamboa, A. M. (2018). Brucellosis in dogs and public health risk. *Emerging Infectious Diseases* 24, 1401-1406.
- Hofer, E., Bagó, Z., Revilla-Fernández, S., Melzer, F., Tomaso, H., López-Goñi, I., Fasching, G., Schmoll, F. (2012). First detection of *Brucella canis* infections in a breeding kennel in Austria. *New Microbiologica* 35, 507-510.
- Hollet, R.B. (2006). Canine brucellosis: outbreaks and compliance. *Theriogenology* 66, 575-587.
- Holst, B.S., Löfqvist, K., Ernholm, L., Eld, K., Cedersmyg, M., Hallgren, G. (2012). The first case of *Brucella canis* in Sweden: background, case report and recommendations from a northern European perspective. *Acta Veterinaria Scandinavica* 54, 1-9.
- Kolwijck, E., Lutgens, S.P.M., Visser, V.X.N., van Apeldoorn, M.J., Graham, H., Koets, A.P., Schrauwen, M.M.W.P., Reubsat, F.A.G., Broens, E.M., Kortbeek, L.M. (2022). First case of human *Brucella canis* infection in the Netherlands. *Clinical Infectious Diseases* 75, 2250-2252.
- Laine, C.G., Johnson V.E., Scott, H.M., Arenas-Gamboa, A.M. (2023). Global estimate of human brucellosis incidence. *Emerging Infectious Diseases* 29, 1789-1797.
- Ledbetter, E.C., Landry, M.P., Stokol, T., Kern, T.J., Messick, J.B. (2009). *Brucella canis* endophthalmitis in 3 dogs: clinical features, diagnosis and treatment. *Veterinary Ophthalmology* 12, 183-191.
- Lucero, N.E., Escobar, G.I. Ayala, S.M., Lopez, G. (2002). Sensitivity and specificity of an indirect enzyme-linked immunoassay for the diagnosis of *Brucella canis* infection in dogs. *Journal of Medical Microbiology* 51, 656-660.
- Lucero, N.E., Corazza, R., Almuzara, M.N., Reynes, E.,

- Escobar, G.I., Boeri, E., Ayala, S.M. (2010). Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. *Epidemiology & Infection* 138, 280-285.
- Makloski, C.L. (2011). Canine brucellosis management. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 41, 1209-1219.
- Olsen, S.C., Palmer, M.V. (2014). Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years. *Veterinary Pathology* 51, 1076-1089.
- Rumley, R. L., Chapman, S. (1986). *Brucella canis*: an infectious cause of prolonged fever of undetermined origin. *Southern Medical Journal* 79, 626-628.
- Santos, R.L., Souza, T.D., Mol, J.P.S., Eckstein, C., Paixão T.A. (2021). Canine Brucellosis: an update. *Frontiers in Veterinary Science* 8, doi.: 10.3389/fvets.2021.594291.
- Timmermans, J., Lannoo, J., Smets, P., Van Soom, A. (2023). *Brucella canis* bij de hond: een risicofactor in Europa of niet? https://libstore.ugent.be/fulltxt/RUG01/003/144/944/RUG01-003144944_2023_0001_AC.pdf.
- van Dijk, M.A.M., Engelsma, M.Y., Visser, V.X.N., Keur, I., Holtslag, M.E., Willems, N., Meij, B.P., Willemssen, P.T.J., Wagenaar, J.A., Roest, H.I.J., Broens, E.M. (2021). Transboundary spread of *Brucella canis* through import of infected dogs, the Netherlands, November 2016-December 2018. *Emerging Infectious Diseases* 27, 1783-1788.
- Wanke, M.M. (2004). Canine brucellosis. *Animal Reproduction Science* 82, 195-207.
- Yagupsky, P., Morata, P., Colmenero, J. D. (2019). Laboratory diagnosis of human brucellosis. *Clinical Microbiology Reviews* 33, e00073-19.



© 2024 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.

Middeleeuwse kippen doen aan zelfmedicatie

Aan het woord is Partelotje, het favoriete kippetje van de stoere haan Koekeloer. 'Zo mollig als een dons, zo gewillig als een rietjen. Die zat hij op één dag wel twintig maal op 't lijf'.

Een paar woordjes hoeven enige uitleg: jalap(pe)wortel is een laxermiddel. Rheum wordt nog steeds gebruikt in de homeopathie. Centorij is santorie (duizendguldenkruid, behorend tot de gentiaanfamilie). Donderbaard is daklook. Tertiaan is een malariakoorts en - mooiste van al -: potjeskraam is een apotheek.

Partelotje geeft uitvoerig, en op rijm, raad aan haar medekippen op het buitenbeloop.

Neem wat jalap (je moet er niet van huiveren)
 Of rheum in, om maag en bloed te zuiveren
 Of is hier allicht geen potjeskraam omtrent,
 De tuin brengt op, voor wie kruiden kent,
 Waarmee ge 't lijf van boven en van onderen,
 Ontlast: een stof! Ge zult er van verwonderen.
 Ik bid u doe 't! Ik ken uw naturel
 Dat zweer ik u, ik ken uw complexie wel.
 De jaartijd is bedenkelijk dezer dagen;
 en doet ge 't niet, ge zult 't u beklagen.
 Daar komt licht een boze tertiaan,
 Een zenuwkoorts of erger nog ter baan.
 Een dag of twee een digestief genomen
 Van wormkens baat; die kunt ge licht bekomen.
 Of anders eet wat frisse centorij
 Met donderbaard, en daar wat huislook bij.
 Hierna wat vlier- of wat kornoeljebessen.
 Die dat bezit, hoeft geen apothekersflessen.
 Hier staan ze fris te groeien; pluk ze vrij.
 En vrees geen droom, ik neem de zaak op mij.

Fragment uit 'Koekeloer of de verschalkte vrijer', vertaald en berijmd door Willem Bilderdijk (1756 – 1831) naar een van de Canterbury Tales van Geoffrey Chaucer (tweede helft veertiende eeuw). Geplukt uit een geschenkboekje van uitgeverij De Wereldbibliotheek, Amsterdam, uitgebracht ter herdenking van het tweehonderdste geboortejaar van (waarschijnlijk) Neerlands meest productieve dichter Bilderdijk.

Dit is een mooie illustratie van zowat de taaiste medische dwaling: dat er voor iedere ziekte een kruidje gewassen is. Nog steeds alive and kicking.

Detection of *Ophidiomyces ophidiicola* in wild barred grass snakes (*Natrix helvetica*) in the Netherlands

Detectie van Ophidiomyces ophidiicola bij wilde ringslangen (Natrix helvetica) in Nederland

¹T. Stark, ¹W. Beukema, ¹M.J. Gilbert, ¹E. Goverse, ¹A. Spitzen-van der Sluijs, ¹R.P.J.H. Struijk, ²E. Verbrugghe, ²F. Pasmans, ²A. Martel

¹Reptile, Amphibian, Fish Conservation Netherlands (RAVON), Toernooiveld 1, 6525 ED, the Netherlands

²Department of Pathology, Bacteriology and Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, B-9820 Merelbeke, Belgium

t.stark@ravon.nl

ABSTRACT

Ophidiomyces ophidiicola is the causative agent of ophidiomycosis (also called snake fungal disease) and has been associated with mycosis in individual snakes and population declines in several North American snake species. While cases of ophidiomycosis from North America have been numerous in the past two decades, reports from Europe remain sparse and are lacking from the Benelux. Between 2017 and 2023, sloughed skins, carcasses and swabs from 284 free-ranging, captive and introduced snakes belonging to 22 species were screened for the presence of *O. ophidiicola* in the Netherlands. Two free-ranging barred grass snakes' (*Natrix helvetica*) shed skin sloughs tested positive despite a lack of gross cutaneous signs of disease. These findings are presented in this article. To the authors' knowledge, this is the first report of the presence of *O. ophidiicola* in the Netherlands.

SAMENVATTING

De schimmel *Ophidiomyces ophidiicola* veroorzaakt ophidiomycose (ook wel "snake fungal disease") bij individuele slangen en wordt geassocieerd met dalende populaties van diverse Noord-Amerikaanse slangensoorten. Alhoewel gevallen van ophidiomycose de laatste twee decennia in Noord-Amerika talrijk zijn, werden er in Europa nog maar enkele meldingen gerapporteerd. *O. ophidiicola* werd in de Benelux tot nu toe niet gedetecteerd. Tussen 2017 en 2023 zijn vervellingen, karkassen en huidswabs van 284 wilde, geïntroduceerde en van in gevangenschap gehouden slangen, behorende tot 22 soorten, in Nederland getest op de aanwezigheid van *O. ophidiicola*. Twee vervellingen van wilde ringslangen (*Natrix helvetica*) testten positief op de aanwezigheid van de schimmel, alhoewel beide stalen geen zichtbare afwijkingen consistent met de ziekte vertoonden. Volgens de auteurs is dit de eerste beschrijving van *O. ophidiicola* in Nederland.

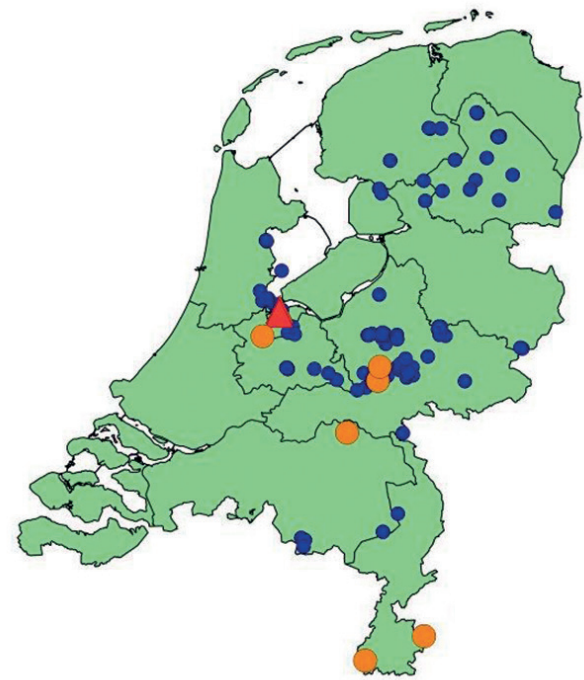
INTRODUCTION

The fungal pathogen *Ophidiomyces ophidiicola* is the causative agent of ophidiomycosis, also known as snake fungal disease (Lorch et al., 2016; Lorch et al., 2015; Davy et al., 2021). Individuals infected by *O. ophidiicola* may display mild signs of disease, such as small (visible) cutaneous lesions, crusts and ulcera-

tions to more deleterious signs such as severe difficulties with ecdysis, impairment of movement including a lack of righting reflex, which affects foraging- and thermoregulatory behavior but also impairs predator evasion (Allender et al., 2015a; McKenzie et al., 2021). This in turn may lead to a reduction in fitness, which may affect reproductive output and increases the risk of predation in individual ophidians (Lorch et

al., 2015a; Tetzlaff et al., 2017). Currently, *O. ophidiicola* has been detected on three continents in 62 wild ophidian species as well as in various captive collections and (wild) specimens in trade (Takami et al., 2020; Blanvillain et al., 2022; Ladner et al., 2022). Most past research has focused on North America due to earlier detection of the pathogen on this continent, and due to a high prevalence in certain taxa and population declines in several species in association with ophidiomycosis (Clark et al., 2011; Burbink et al., 2017; Allender et al., 2018). The pathogen is present in Europe, and clinically sick ophidians have been found on this continent (Franklinos et al., 2017; Allain et al., 2024). Ophidiomycosis-induced population declines in Europe have not been detected yet (Blanvillain et al., 2022; Allain et al., 2024). To date, three distinct *O. ophidiicola* clades have been described. Clade I has only been detected in free-ranging snakes in Europe. Clade II has been reported in free-ranging snakes in North America, Taiwan and captive populations worldwide. Clade III has thus far only been found in two wild ophidians in Taiwan and captive populations (Sun et al., 2021; Ladner et al., 2022). Recent studies reveal that clade I and II have been present in Switzerland since at least 1959 and have been present in other sites in Europe as well (Blanvillain et al., 2022; Origgi et al., 2022). Clade II might be more virulent than clade I due to higher growth rates (Franklinos et al., 2017). Molecular dating suggests that clade I and II diverged approximately 2000 years ago, and indicates that the presence of clade II in North America might be the result of several recent introductions, followed by subsequent geographical expansion (Ladner et al., 2022). Due to the presence of clade II in many captive collections, spillover to wild populations is a risk, which may have occurred in North America (Ladner et al., 2022).

Until recently, knowledge on *O. ophidiicola* presence and distribution in free-ranging European ophidians has been limited, with initial records dating back to 2010 (Franklinos et al., 2017). These first reports hailed from the United Kingdom and the Czech Republic, followed by Switzerland, Italy and Germany (Franklinos et al., 2017; Meier et al., 2018; Origgi et al., 2022; Marini et al., 2023; Schöler et al., 2024). In a recent study, in which an updated distribution overview of *Ophidiomyces ophidiicola* in continental Europe is presented, the known occurrence of *O. ophidiicola* has been significantly extended, and tentative hotspots (in order of prevalence) have been identified in Switzerland (and adjacent France and Italy) (26.7%), Germany (12.5%) and 12.1% in Ukraine (Blanvillain et al., 2022). *O. ophidiicola* has also been detected in Poland and in the Slovak Republic (Blanvillain et al., 2022; Přibyl, et al., 2023). High prevalences may be found in populations of semi-aquatic ophidians and species with a preference for moist habitats like *Natrix helvetica*, *Natrix natrix*, *Natrix tessellata*, and *Zamenis longissimus*. Both clade I and clade II



- ▲ *Ophidiomyces ophidiicola* detected (n=2)
- *Ophidiomyces ophidiicola* not detected (n=249)
- Cutaneous gross signs consistent with Ophidiomycosis (n=6)

Figure 1. Map of the Netherlands showing where samples were collected to assess presence of the fungal pathogen *Ophidiomyces ophidiicola* in free-ranging snakes. (Map: Tariq Stark).

have been detected in Europe. European *O. ophidiicola* hotspots, including host assemblages with more severe infections, could be explained by the presence of a certain clade(s), presence of highly susceptible host species or a combination of both (Blanvillain et al., 2022; Ladner et al., 2022). Records of *O. ophidiicola* in free-ranging snakes from continental Western Europe are sparse, despite the presence of susceptible host species like *N. helvetica* and *N. natrix* (Blanvillain et al., 2022). Even with syndromic surveillance in place and opportunistic sampling in the Netherlands since 2017, positive samples remain absent (Stark et al., 2023). To the authors' knowledge, this is the first report of *O. ophidiicola* via two qPCR positive samples derived from two free-ranging *N. helvetica* in the Netherlands.

METHODS

Samples were acquired via three routes. Firstly, volunteers of Reptile, Amphibian, Fish Conservation Netherlands (RAVON) were asked to report free-ranging snakes with suspected ophidiomycosis, but also to collect sloughed skin sheds and carcasses of both native and introduced (exotic) free-ranging snakes.

Secondly, a similar request was sent out to the general public, who were also asked to report snakes displaying signs of disease or collect skin sheds and carcasses of captive snakes (syndromic surveillance). The general public was targeted via (social) media campaigns, radio and TV. Finally, RAVON professionals collected samples haphazardly and also more targeted, when a ophidiomycosis suspected dead or diseased snake was reported. In this dataset, several introduced, free-ranging species were included. In the Netherlands, eastern grass snakes (*Natrix natrix*) but also native barred grass snakes (*Natrix helvetica*) have been illegally introduced in several areas (van Riemsdijk et al., 2020; Asztalos et al., 2021). Introduced, free-ranging *Pituophis* sp. in a non-disclosed location in the coastal dunes have also been screened (Struijk et al., 2018). Skin sheds were stored dry in paper envelopes and frozen at -23°C in paper until the time of analysis. Carcasses and skin swabs were also stored at -23°C.

In the present study, DNA was extracted from swabs, sheds and skin samples using Qiagen DNeasy Tissue kit (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA) according to the manufacturer's instructions with an added lyticase (300 U, 1 hour, 37°C) step. Sheds were ground to powder before DNA extraction using stainless steel grinding balls (20 mm) for 1 to 2 minutes at 30 Hz. A total of 50 mg of powdered skin shed was weighed and placed in 1.5 mL Eppendorf tubes for further DNA extraction. Details with regard to primers, targeting the ITS1 segment between the 18S and 5.8S RNA gene (OphioITS-F, OphioITS-R), probe (Probe-FAM) and cycling parameters (1 cycle at 50°C for 2 minutes followed by 95°C for 10 minutes, then 40 cycles at 95°C for 15 seconds and 60°C for 60 seconds, and a final cycle of 72°C for 10 minutes) of the qPCR assay to detect *O. ophidiicola* DNA (Allender et al., 2015b). The dynamic range of this assay is from 1.05×10^8 to 1.05×10^1 gene copies.

RESULTS

Between 2017-2023, a total of 301 samples from 241 free-ranging snakes, 33 captive individuals and 10 introduced snakes in the Netherlands (n=284 individuals) were screened for the presence of *O. ophidiicola* (Figure 1, Table 1). In total, they comprised 22 species, representing 17 genera. Free-ranging *N. helvetica* were well represented in the dataset (44.4%), followed by *Vipera berus* (22.5%) and *Coronella austriaca* (18.0%). The remainder can be assigned to captive individuals of various families (11.6%) and introduced *Natrix helvetica* (1%) and *Pituophis* sp. (2.5%). Of the 301 samples, 231 were skin sloughs (76.8%), 54 carcasses (17.9%) and 16 swabs (5.3%). Three free-ranging *N. helvetica*, one introduced *N. helvetica* and two free-ranging *C. austriaca*, showed gross signs consistent with ophidiomycosis infection (Figures 1 and 2, Table 1). *O. ophidiicola* was not detected

in these individuals.

O. ophidiicola was detected in two skin sheds of free-ranging *N. helvetica*. Both skin sheds were found in September 2019 (Table 1). One skin shed belonged to an adult and one to a subadult (respectively found on September 10th and September 18th, 2019). Both samples originated from the Naardermeer, a nature reserve in the west of the Netherlands (52.295759 -5.116825, WSG84). Gross signs of ophidiomycosis were not found in either of these samples. *O. ophidiicola* was not detected on two *N. helvetica* skin sheds found in the same area in June and July of that same year.

DISCUSSION

The detection of *O. ophidiicola* in Europe came rather late in comparison with North America. Targeted efforts to detect the pathogen thus started later than in North America (Franklinos et al., 2017). This lag in detection could be the result of several factors, including the still relatively limited awareness about ophidiomycosis among ecologists, nature volunteers, and the



Figure 2. Depictions of a grass snake (*Natrix helvetica*) with signs of suspected ophidiomycosis. The pathogen was not detected on individuals displaying such signs (Photographs: Richard Struijk and Tariq Stark).

Table 1. An overview of snakes screened for the presence of *Ophidiomyces ophidiicola* between 2017-2023. The positive samples are displayed in bold and refer to two *N. helvetica* sloughs both found in September 2019.

| Species | Individuals sampled | Number of samples | Slough: carcass: swab | Adult:subadult: juvenile | Symptomatic individuals | Wild: captive :introduced | Oo positive samples (qPCR) |
|---|---------------------|-------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|
| <i>Agkistrodon bilineatus</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Aspidelaps cowlesi</i> | 3 | 3 | 3:0:0 | 3:0:0 | 0 | 0:3:0 | 0 |
| <i>Aspidelaps lubricus</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Boa constrictor occidentalis</i> | 2 | 2 | 2:0:0 | 2:0:0 | 0 | 0:2:0 | 0 |
| <i>Coelognathus helena</i> | 2 | 2 | 2:0:0 | 2:0:0 | 0 | 0:2:0 | 0 |
| <i>Coronella austriaca</i> | 52 | 53 | 22:28:3 | 18:14:20 | 2 | 51:1:0 | 0 |
| <i>Daboia palaestinae</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Eryx colubrinus loveridgei</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Lampropeltis triangulum</i> | 2 | 7 | 7:0:0 | 2:0:0 | 0 | 0:2:0 | 0 |
| <i>Macrovipera lebetinus schweizeri</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Montivipera raddei kurdistanica</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Natrix helvetica</i> | 130 | 138 | 115:17:6 | 84:34:12 | 4 | 126:1:3 | 2 |
| <i>Natrix maura</i> | 5 | 7 | 2:5:0 | 0:5:0 | 0 | 0:5:0 | 0 |
| <i>Natrix natrix</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Naja haje</i> | 2 | 2 | 2:0:0 | 2:0:0 | 0 | 0:2:0 | 0 |
| <i>Naja nigricincta</i> | 2 | 2 | 2:0:0 | 2:0:0 | 0 | 0:2:0 | 0 |
| <i>Naja nubiae</i> | 2 | 2 | 2:0:0 | 0:2:0 | 0 | 0:2:0 | 0 |
| <i>Pantherophis guttatus</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Pituophis</i> sp. | 7 | 8 | 1:0:7 | 7:0:0 | 0 | 0:0:7 | 0 |
| <i>Pseudechis colletti</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 1:0:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Trimeresurus trigonocephalus</i> | 1 | 1 | 1:0:0 | 0:1:0 | 0 | 0:1:0 | 0 |
| <i>Vipera berus</i> | 65 | 65 | 61:4:0 | 58:7:0 | 0 | 64:1:0 | 0 |

general public. Hence, infections could go unnoticed, resulting in unclarity about the impact of ophidiomycosis in Europe (diNicola et al., 2022; Ladner et al., 2022; Allain et al., 2024). Since the first detection of *O. ophidiicola* in Europe, knowledge on the spatial and temporal presence of the fungus including strain (clade) types, but also host range has increased significantly. Uncertainty remains about the impact of the pathogen on European snakes (Blanvillain et al., 2022; Origgi et al., 2022). The outcome of the disease might be exacerbated by the type(s) of clades and host assemblages involved, in combination with environmental and anthropogenic factors (Allain et al., 2024; Joudrier et al., 2024). Cases of more severe infections are known from Switzerland and Italy, where clade I and II are present in host assemblages (*Natrix* sp.) whereas disease outcome may be less severe where only one clade (I) is involved (Allain et al., 2024; Joudrier et al., 2024). Susceptible hosts in the form of native *N. helvetica*, introduced *N. natrix*, and to a lesser extent *V. berus* populations, occur in the Netherlands (Franklinos et al., 2017). Individuals with signs consistent with ophidiomycosis were found in this study but despite the presence of cutaneous macro-

scopic lesions, *O. ophidiicola* was not detected on any of these ophidians (Figure 1). Carcasses, shed skin and dry skin swabs of such individuals, in one case all three sample types originating from one individual, have been screened without the detection of *O. ophidiicola* (Table 1). Other pathogens capable to cause skin disease in ophidians, like *Paranannizziopsis* spp., cannot be ruled out as causative agents for these ophidiomycosis-like signs (Dubey et al., 2022; Lorch et al., 2023). *N. helvetica* shed skin sloughs, which tested positive for the presence of *O. ophidiicola*, did not show signs of infection (Table 1). Based on the ophidiomycosis classification system by Baker et al. (2019) and Davy et al. (2021), these results are not abnormal. Based on the presence or absence of gross lesions and fungal hyphae, individual snakes can be assigned to one of the five ophidiomycosis categories: ophidiomycosis negative (no lesions and qPCR negative), ophidiomyces present (no lesions and qPCR positive), possible ophidiomycosis (lesions present and qPCR negative), apparent ophidiomycosis (lesions present and qPCR positive), and confirmed ophidiomycosis (histopathology showing arthroconidia and positive qPCR/culture). The lack of clear signs of

infection might be attributed to an early stage of infection in these particular hosts (diNicola et al., 2022; Ladner et al., 2022). Lesions might also be very small and are easy to miss on skin sloughs, as demonstrated in a study by Franklinos et al. (2017). The possible impact of disease outcome in relation to environmental factors, *O. ophidiicola* strain and a particular host species or species assemblages in Europe is largely unknown. The population where *O. ophidiicola* was detected in this study is part of the Dutch national reptile monitoring program, but no apparent population declines have been noted on this particular transect. At a national level, the population trend of *N. helvetica* shows a moderate decline in the Netherlands but it is unclear if the presence of *O. ophidiicola* plays any role in this decline (RAVON, 2023).

The involvement of citizens in this research in order to rapidly detect and limit the spread of deleterious pathogens can be highly effective (Lawson et al., 2015; Thomas et al., 2019). People can contribute to early detection both actively and passively via adhering to biosecurity measures, active monitoring, syndromic surveillance and passive surveillance (Lawson et al., 2015; Bird and Mazet, 2018). In this study, the involvement of citizen science proved crucial to collect samples in order to detect an apparently highly cryptic fungus and will be critical to gain a better understanding about the impact of ophidiomycosis in Europe in future research and conservation efforts.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was performed under permit FF/75A/2016/015 issued by Reptile, Amphibian and Fish Conservation Netherlands. Dutch land owner organizations that provided field permits are Natuurmonumenten (Society for Preservation of Nature Monuments in the Netherlands) and Staatsbosbeheer (State Forestry). All involved volunteers and citizen scientists are thanked for their indispensable contribution to this study. Peter Schilperoord and Richard de Jong are thanked for samples of captive snakes. RAVON colleagues, Arnold van Rijsewijk, Jesper Berndsen, Raymond Creemers, Jelger Herder, Jöran Janse and Ronald Laan are thanked for their contributions to the study. The Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality, the ‘Van der Hucht de Beukelaar Stichting’, the European Snake Society and Stichting Herpetofauna are thanked for their financial support of this study.

REFERENCES

Allain, S. J., Leech, D. I., Hopkins, K., Seilern-Moy, K., Rodriguez-Ramos Fernandez, J., Griffiths, R. A., Lawson, B. (2024). Characterisation, prevalence and severity of skin lesions caused by ophidiomycosis in a population of wild snakes. *Scientific Reports*, 14(1), 5162.

- Allender, M.C., Baker, S., Wylie, D., Loper, D., Dreslik, M.J., Phillips, C.A., Maddox, C., Driskell, E.A. (2015a). Development of snake fungal disease after experimental challenge with *Ophidiomyces ophidiicola* in cottonmouths (*Agkistrodon piscivorus*). *PLoS One* 10(10), 1-13.
- Allender, M.C., Bunick, D., Dzhaman, E., Burrus, L., Maddox, C. (2015b). Development and use of a real-time polymerase chain reaction assay for the detection of *Ophidiomyces ophidiicola* in snakes. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 27(2), 217-220.
- Allender, M.C., Baker, S., Britton, M., Kent, A.D. (2018). Snake fungal disease alters skin bacterial and fungal diversity in an endangered rattlesnake. *Scientific Reports* 8, 1-9.
- Asztalos, M., Wielstra, B., Struijk, R. P., Ayaz, D., Fritz, U. (2021). Aliens in the Netherlands: Local genetic pollution of barred grass snakes (Squamata: Serpentes: Natricidae). *Salamandra* 57(1), 1741-1779.
- Blanvillain, G., Lorch, J.M., Joudrier, N., Bury, S., Cuenot, T., Franzen, M., Martínez-Freiría, F., Guiller, G., Halpern, B., Kolanek, A., Kurek, K., Lourdais, O., Michon, A., Musilová, R., Schweiger, S., Szulc, B., Ursenbacher, S., Zinenko, O., Hoyt, J.R. (2022). Hotspots for snake fungal disease across Europe are maintained by host and pathogen identity. *BioRxiv* 11.
- Baker, S. J., Haynes, E., Gramhofer, M., Stanford, K., Bailey, S., Christman, M., Conley, K., Frasca, S., Ossiboff, R. J., Lobato, D., Allender, M. C. (2019). Case definition and diagnostic testing for snake fungal disease. *Herpetological Review* 50(2), 279-285.
- Bird, B.H., Mazet, J.A. (2018). Detection of emerging zoonotic pathogens: an integrated one health approach. *Annual Review of Animal Biosciences* 6, 121-139.
- Burbrink, F.T., Lorch, J.M., Lips, K.R. (2017). Host susceptibility to snake fungal disease is highly dispersed across phylogenetic and functional trait space. *Science Advances* 3(12), 1-9.
- Clark, R.W., Marchand, M.N., Clifford, B.J., Stechert, R., Stephens, S. (2011). Decline of an isolated timber rattlesnake (*Crotalus horridus*) population: interactions between climate change, disease, and loss of genetic diversity. *Biological Conservation* 144, 886-891.
- Davy, C.M., Shirosé, L., Campbell, D., Dillon, R., McKenzie, C., Nemeth, N., Braithwaite, T., Hugh, C., Degazio, T., Dobbie, T., Egan, S., Fotherby, H., Litzgus, J.D., Manorome, P., Marks, S., Paterson, J.E., Sigler, L., Slavik, D., Slavik, E., Urquhart, J., Jardine, C. (2021). Revisiting ophidiomycosis (snake fungal disease) after a decade of targeted research. *Frontiers in Veterinary Science* 8, 1-10.
- Di Nicola, M.R., Coppari, L., Notomista, T., Marini, D. (2022). *Ophidiomyces ophidiicola* detection and infection: a global review on a potential threat to the world's snake populations. *European Journal of Wildlife Research* 68(5), 64.
- Dubey, S., Pellaud, S., Gindro, K., Schuerch, J., Golay, J., Gloor, R., Ghali, K., Dubey, O. (2022). Fungal infection in free-ranging snakes caused by opportunistic species. *Emerging Animal Species* 3, 100001.
- Franklinos, L.H., Lorch, J.M., Bohuski, E., Rodriguez-Ramos Fernandez, J., Wright, O.N., Fitzpatrick, L., Petrovan, S., Durrant, C., Linton, C., Baláz, B., Cunningham, A.A., Lawson, B. (2017). Emerging fungal pathogen *Ophidiomyces ophidiicola* in wild European snakes. *Scientific Reports* 7(1), 1-7.

- Joudrier, N., Blanvillain, G., Meier, G., Hoyt, J., Chèvre, M., Dubey, S. Origgi, F.C., Ursenbacher, S. (2024). Unravelling the disease ecology of snake fungal disease: high genetic variability and ecological features of *Ophidiomyces ophiodiicola* in Switzerland. *Amphibia-Reptilia* 45(1), 85-98.
- Ladner, J.T., Palmer, J.M., Ettinger, C.L., Stajich, J.E., Farrell, T.M., Glorioso, B.M., Lawson, B., Price, S.J., Stengele, A.G., Grear, D.A., Lorch, J. M. (2022). The population genetics of the causative agent of snake fungal disease indicate recent introductions to the USA. *PLoS Biology* 20(6), 1-24.
- Lawson, B., Petrovan, S.O., Cunningham, A.A. (2015). Citizen science and wildlife disease surveillance. *Eco-Health* 12, 693-702.
- Lorch, J. M., Winzeler, M. E., Lankton, J. S., Raverty, S., Snyman, H. N., Schwantje, H., Thacker, C., Knowles, S., Cai, H.Y., Grear, D. A. (2023). *Paranannizziopsis* spp. associated with skin lesions in wild snakes in North America and development of a real-time PCR assay for rapid detection of the fungus in clinical samples. *bioRxiv*, 2023-07.
- Lorch, J. M., Knowles, S., Lankton, J. S., Michell, K., Edwards, J. L., Kapfer, J. M., Staffen, R.A., Wild, E.R., Schmidt, K. Z., Ballman, A.E., Blodget, D., Farrell, T.M., Glorioso, B.M., Last, L.A., Price, S.J., Schuler, K.L., Smith, C.E., Wellehan, J.F.X. Blehert, D.S. (2016). Snake fungal disease: an emerging threat to wild snakes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371(1709), 201504.
- Lorch, J.M., Lankton, J., Werner, K., Falendysz, E.A., McCurley, K., Blehert, D.S. (2015). Experimental infection of snakes with *Ophidiomyces ophiodiicola* causes pathological changes that typify snake fungal disease. *mBio* 6(6), e01534-15.
- Marini, D., Di Nicola, M.R., Crocchianti, V., Notomista, T., Iversen, D., Coppari, L., Di Criscio, M., Brouard, V., Dorne, J.C.M., Rüegg, J., Marenzoni, M.L. (2023). Pilot survey reveals ophidiomycosis in dice snakes *Natrix tessellata* from Lake Garda, Italy. *Veterinary Research Communications*, 1-13.
- McKenzie, J.M., Price, S.J., Connette, G.M., Bonner, S.J., Lorch, J. M. (2021). Effects of snake fungal disease on short-term survival, behavior, and movement in free-ranging snakes. *Ecological Applications* 31(2), e02251.
- Meier, G., Notomista, T., Marini, D., Ferri, V. (2018). First case of snake fungal disease affecting a free-ranging *Natrix natrix* (Linnaeus, 1758) in Ticino Canton, Switzerland. *Herpetology Notes* 11, 885-891.
- McKenzie, J.M., Price, S.J., Connette, G.M., Bonner, S.J., Lorch, J.M. (2021). Effects of snake fungal disease on short-term survival, behavior, and movement in free-ranging snakes. *Ecological Applications* 31(2), e02251.
- Origgi, F.C., Pisano, S.R., Glaizot, O., Hertwig, S.T., Schmitz, A., Ursenbacher, S. (2022). *Ophidiomyces ophiodiicola*, etiologic agent of snake fungal disease, in Europe since late 1950s. *Emerging Infectious Diseases* 28(10), 2064-2068.
- Příbyl, M., Kabelka, R., Hanzlík, P. M., Mikulíček, P., Folk, N., Piaček, V., Pikula, J., Baláz, V. (2023). *Ophidiomyces ophiodiicola* in free-ranging and captive snakes in the Czech and Slovak Republics. *Journal of Vertebrate Biology* 72, 23050-1.
- RAVON. <https://www.ravon.nl/Soorten/Soortinformatie/ringslang>. (2023). Accessed 22 November 2023.
- van Riemsdijk, I., Struijk, R. P. J. H., Pel, E., Janssen, I. A., Wielstra, B. (2020). Hybridisation complicates the conservation of *Natrix* snakes in the Netherlands. *Salamandra* 56(1), 78-82.
- Takami, Y., Une, Y., Mitsui, I., Hemmi, C., Takaki, Y., Hosoia, T., Nam, K. O. (2020). First report of emerging snake fungal disease caused by *Ophidiomyces ophiodiicola* from Asia in imported captive snakes in Japan. *BioRxiv*, 2020-09.
- Tetzlaff, S.J., Ravesi, M.J., Allender, M.C., Carter, E.T., DeGregorio, B.A., Josimovich, J.M., Kingsbury, B.A. (2017). Snake fungal disease affects behavior of free-ranging massasauga rattlesnakes (*Sistrurus catenatus*). *Herpetological Conservation and Biology* 12(3), 624-634.
- Thomas, V., Wang, Y., Van Rooij, P., Verbrugge, E., Baláz, V., Bosch, J., Cunningham, A.A., Fischer, M.C., Garner, T.W.J., Gilbert, M.J., Grasselli, E., Kinet, T., Laudelout, A., Lötters, S., Loyau, A., Miaud, C., Salvidio, S., Schmeller, D.S., Schmidt, B.R., Spitzen-van der Sluijs, A., Steinfartz, S., Veith, M., Vences, M., Wagner, N., Cagnessa, S., Martel, A., Pasmans, F. (2019). Mitigating *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. *Amphibia-Reptilia* 40(3), 265-290.
- Stark, T., Beukema, W., Gilbert, M. Onderzoek naar slangenschimmel in Nederland, waarnemingen gezocht! *Schubben en Slijm* 53 (2), 11.
- Sun, P. L., Yang, C. K., Li, W. T., Lai, W. Y., Fan, Y. C., Huang, H. C., Yu, P. H. (2022). Infection with *Nannizziopsis guarroi* and *Ophidiomyces ophiodiicola* in reptiles in Taiwan. *Transboundary and Emerging Diseases* 69(2), 764-775.
- Schüler, L., Lenz, S., Mittenzwei, F., Gletscher, I., Müller, E., Heckers, K., Marschang, R. E. (2024). Ophidiomycosis in wild dice snakes (*Natrix tessellata*) in Germany. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 34 (1), 11-15.
- Struijk, R.P.J.H., (2018). Feitenrelaas rondom *Pituophis*-waarnemingen uit de duinen tussen Scheveningen en Katwijk. Stichting RAVON, Nijmegen, 28 pp.



© 2024 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/>).

Imaging features of mandibular squamous cell carcinoma in a cat

Beeldvormingskarakteristieken van squameus celcarcinoom van de mandibula bij een kat

¹M.M.W.M. Dekkers, ¹K. Kromhout, ¹J.H. Saunders, ¹S. David, ²G.Vercauteren, ¹E. Stock.

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

²Zoolyx Veterinary Laboratory Services, Groeneweg 17, 9320 Aalst, Belgium

Moniek.Dekkers@UGent.be

ABSTRACT

A fourteen-year-old, neutered, male European Shorthair cat was referred with clinical signs of anorexia, weight loss and right sided mandibular swelling, which progressively increased in size. In addition, marked thickening and ulceration of the ipsilateral mandibular gingiva were both found. A computed tomography scan revealed marked amorphous periosteal reaction, extensive cortical disruption, moth-eaten to permeative osteolysis and moderate surrounding soft tissue swelling. The histopathological diagnosis was a grade 2 squamous cell carcinoma with infiltration in the bone and separation of bony trabeculae.

SAMENVATTING

Een veertienjarige, mannelijke, gecastreerde Europese korthaar werd doorverwezen met klinische klachten van anorexie, gewichtsverlies en een zwelling ter hoogte van de rechter mandibula die progressief toenam in grootte. Daarnaast vertoonden de mandibulaire gingiva een duidelijke verdikking en ulceratie. Een computertomografische scan toonde een uitgesproken amorfe periostale reactie, uitgebreide corticale onderbreking en 'door motten aangevreten' tot permeatieve osteolyse. De laesie was omgeven door een matige wekedelenzwelling. De histopathologische diagnose was een graad 2-plaveiselcelcarcinoom met infiltratie in het bot en onderbreking van de benige trabeculae.

INTRODUCTION

Approximately 10% of all feline tumors are intraoral neoplasms, most of which are malignant (Stebbins et al., 1989; Liptak et al., 2007). More than 50% of these malignant tumors are squamous cell carcinomas (SCC) (Stebbins et al., 1989; Harvey and Emily, 1993). Oral and sinonasal SCC originate from the stratified squamous epithelium of the mucosa and are classified as keratinocyte tumors (Murphy et al., 2020). Commonly, these tumors arise from oral mucosa such as the gingiva and intraoral mucosa (Bilgic et al., 2015). The presentation of a SCC varies among different intraoral regions, sectioned into mandibular, maxillary, and lingual/sublingual areas, as described

below. When located at the mandible, the SCC are commonly described as proliferative, expansile and firm masses, while a maxillary SCC commonly presents as an ulcerative lesion with marked osteolysis, especially when located in the caudal maxillary region (Bilgic et al., 2015). Crater-like destruction of the maxillary palatine process, the incisive bone and zygomatic arch is often detected with invasion into the nasal cavity and decreased retropulsion of the ipsilateral eye (Bilgic et al., 2015; Supsavhad et al., 2016). A second different imaging feature is seen when comparing periosteal reaction between mandibular and maxillary SCC. The mandible-associated SCC shows solid/lamellar, irregular and speculated features, while more severe, irregular periosteal reac-

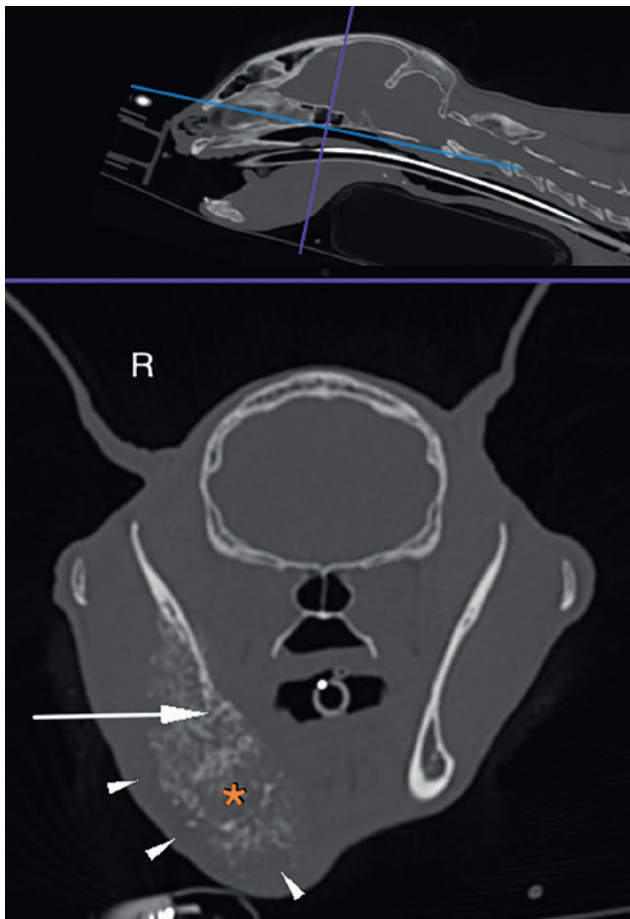


Figure 1. Transverse image, with reference slices on the upper sagittal image, in bone window showing an expansile bone lesion characterized by amorphous periosteal reaction (white arrowheads), extensive loss of cortical margin (white arrow) and moth-eaten osteolysis (orange asterisk).

tion has been detected in maxillary SCC (Strohmayr et al., 2020). A similar finding in both mandibular and maxillary SCC can be mobile or loss of teeth in the affected area, which has been reported to be more severe in case of ulcerative SCC (Bilgic et al., 2015). A lingual or sublingual SCC can have multiple presentations, namely ulcerative, necrotic, infiltrative or proliferative (Bilgic et al., 2015). Invasion of the tongue musculature is often present, causing diffuse and firm thickening of the tongue (Bilgic et al., 2015). In general, and regardless of the location, feline oral SCC are malignant neoplasms with an invasive character and poor margination (Bilgic et al., 2015; Strohmayr et al., 2020). General physical and oral examination cannot differentiate all these above-described characteristics, and differentiation between surrounding edema, inflammation, desmoplasia and tumor invasion cannot be made (Gendler et al., 2010). To effectively plan potential treatment approaches and assess the extent and invasiveness of the lesions, diagnostic imaging is imperative.

Radiographs reveal bone lysis, periosteal proliferation and soft tissue swelling in severe cases, but they have limitations in assessing extent and invasiveness (Pavlin et al., 2018). Thoracic radiographs are valuable for screening thoracic metastasis, with detectability limited to nodules of approximately 7 to 9 mm (Nemanic et al., 2006).

Ultrasound in the oral region faces challenges such as acoustic shadowing and reverberation artifacts. Its practical use includes assessing lymph nodes and determining the sentinel lymph node with contrast media, providing an option for surgical removal. Detection of intrapulmonary metastasis with ultrasound is viable only with peripheral nodules due to reverberation artifacts.

Magnetic resonance imaging (MRI) is preferred for soft tissue assessment, offering insights into invasion and tumor extension. However, its application in SCC is less documented, and it presents challenges compared to computed tomography (CT) in evaluating bone lysis and proliferation. MRI cannot assess intrapulmonary metastasis, and it is worth noting that thoracic MRI is not a standard procedure in veterinary medicine.

The imaging method of choice for oral SCC evaluation is contrast-enhanced CT with sentinel lymph node mapping. This combines bone and soft tissue assessment, contrast enhancement, detection of metastases and the sentinel lymph node(s). Contrast-enhanced CT can detect intrapulmonary metastasis with nodules as small as 2-3 mm, emphasizing its importance in thoracic evaluation. Additionally, it uniquely identifies oral SCC without a mass effect (Gendler et al., 2010). Precontrast CT features of oral SCC include an isoattenuating mass with associated osteolysis in 50% of the cases (Gendler et al., 2010). In 50 to 100% of the cases, mandibular SCC in cats is polyostotic (Gendler et al., 2010; Strohmayr et al., 2020). In postcontrast CT images, a SCC shows marked contrast enhancement in all cases with heterogeneous contrast enhancement as a predominant enhancement pattern (Gendler et al., 2010). Marked contrast enhancement is due to the highly vascular nature of SCC, which is a consistent finding in tumors that originate in the oral cavity in cats (Stebbins et al., 1989). The heterogeneous contrast enhancement pattern on CT images of SCC in cats has been suggested to represent tumor necrosis, desmoplasia or both (Sigal et al., 1996; Gendler et al., 2010).

The imaging features in this case exhibit similarities with those described in a case report of a benign hamartoma in a cat (Takagi et al., 2018). Vascular hamartoma, a benign congenital lesion, originating from disorganized mature vascular cells (Smith et al., 2010). The primary aim of this case report was to highlight the imaging characteristics of SCC in felines and to compare them with those of a benign hamartoma showing similar imaging features (Takagi et al., 2018).

CASE DESCRIPTION

History

A fourteen-year-old, neutered, male European Shorthair cat was referred with clinical signs of a two/three-week period of gradual hyporexia progressing to a one-day episode of total anorexia, weight loss, and right-sided mandibular swelling, progressively increasing in size. The latter had been diagnosed by the referring veterinarians two weeks earlier. Furthermore, the cat was known with hyperthyroidism which had been diagnosed ten months earlier and was well-controlled with oral drugs (Levamisole 1.25 mg twice a day).

General physical and oral examination

The general physical examination revealed a non-displaceable mass on the right mandible which extended from the level of the canine tooth to the caudal aspect of the right mandibular ramus and crossed the midline towards the left side. Furthermore, a mass-effect was visible displacing the tongue towards the left side. Finally, a systolic cardiac murmur 3/6 with punctum maximum at the left apex was also noted.

Medical imaging

Given the systolic heart murmur, an echocardiogram was performed which revealed severe hypertrophy of the left ventricle wall and mitral valve insufficiency due to dynamic left ventricular outflow tract obstruction with systolic anterior motion of the mitral valve. The left atrium was considered normal in size.

After the echocardiogram, the cat was premedicated intravenously using butorphanol (0.3mg/kg) and midazolam (0.2mg/kg) and general anesthesia was induced using propofol to effect (total dose of 3.5mg/kg). A CT (Toshiba Aquillon ONE TSX-301C) study of the head, neck, thorax, including part of the cranial abdomen, was performed. This revealed an expansile bone lesion affecting a large portion of the right mandible, extending from the apical aspect of the tooth root of Triadan 404 till the ventral aspect of the coronoid process at the mandibular ramus. Caudally, the lesion included the right angular and the right condylar process, till the level of the right temporomandibular joint. Marked amorphous periosteal reaction, extensive cortical disruption and moth-eaten to permeative osteolysis were identified (Figures 1, 2 and 3). There was almost complete lysis of the lingual and buccal cortical surfaces of the right mandible, as well as the lamina dura of Triadan 405 through 411, resulting in mobility of the teeth. Notably, the right mandibular teeth showed no displacement when compared to the opposite side.

Postcontrast CT images showed heterogeneous contrast enhancement of the right masseter muscle, the right lateral and medial pterygoid muscles and

the subcutaneous soft tissues lateral and medial to the right mandible (Figure 4). The regional lymph nodes were within normal limits and there was no evidence of intrathoracic metastatic disease.

Imaging findings identified a monostotic, expansile, aggressive mixed osteolytic and osteoproliferative bone lesion involving the right mandible without evidence of metastasis. Possible differentials were primary bone tumor (i.e. osteosarcoma, chondrosarcoma, multilobular osteochondrosarcoma) or soft tissue neoplasia (i.e. SCC, fibrosarcoma) with secondary bone involvement. Non-neoplastic diseases such as vascular hamartoma or chronic osteomyelitis were deemed less likely.

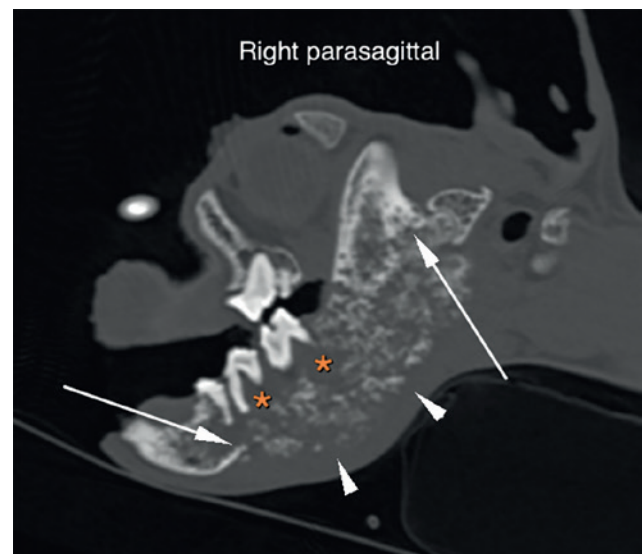


Figure 2. Parasagittal reconstruction (right) centered on the right mandible in bone window showing an expansile bone lesion characterized by amorphous periosteal reaction (white arrowheads), extensive loss of cortical margin (white arrows) and moth-eaten osteolysis (orange asterisks). Rostral is located to the left on the parasagittal image.



Figure 3. Three-dimensional surface rendering model of the right side of the skull.

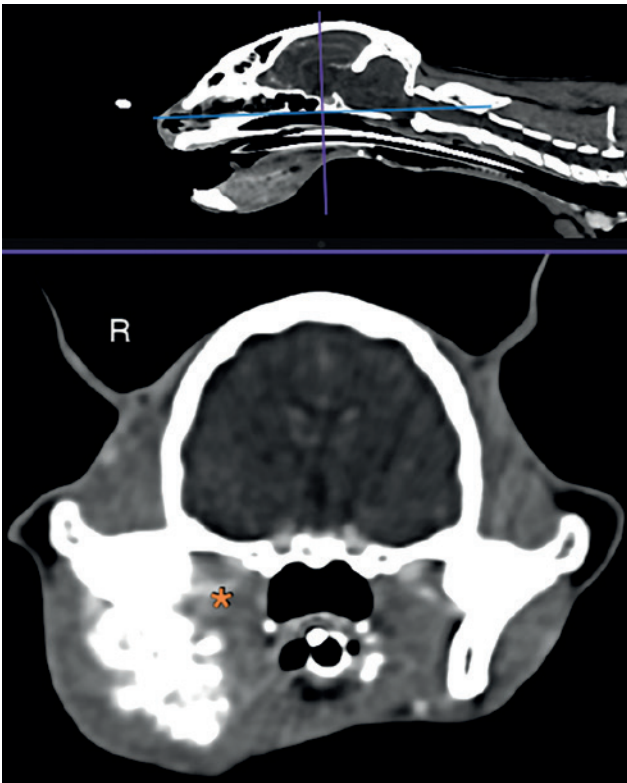


Figure 4. Transverse postcontrast reconstruction, with reference slices on the upper sagittal image, in soft tissue window with mild heterogeneous contrast enhancement at the level of the right pterygoid muscle (orange asterisk).

Histopathology

Due to the severity and extent of the lesion and poor prognosis of hemimandibulectomy in cats, the owners elected euthanasia. Postmortem histopathology (Zoolyx Veterinary Laboratory Services) of the mass revealed a disorganized infiltration of nests and trabeculae of the large polygonal cells with abundant eosinophilic cytoplasm, round nucleus with coarsely granular to vesicular chromatin and single prominent nucleolus embedded in ample highly cellular collagenous stroma. Anisocytosis and anisokaryosis were marked; several multinucleated cells were identified and mitoses, including a few atypical mitotic figures, were present: 6 per HPF (0.237 mm²). There was frequent central keratinization often associated with neutrophilic infiltration. On immunohistochemistry, neoplastic cells strongly expressed pancytokeratin (Anti-Pan Keratin AE1/AE3; an epithelium-specific-antibody). An epithelial tumor with squamous differentiation, desmoplastic response and bone invasion, compatible with a SCC was diagnosed (grade 2 based on invasive front grading system). There were both ulcerated and intact mucosal surfaces present. In the ulcerated areas the neoplastic cells reached the ulcerated mucosal surface. Under the intact mucosal surfaces, the neoplasm was located between the striated muscle fibers. Nests of tumoral cells were also found

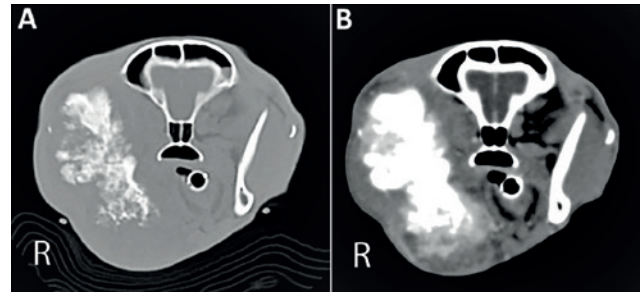


Figure 5. A. Computed tomography findings at bone window and B. Postcontrast soft tissue window of a mandibular vascular hamartoma. A substantial section of the central portion of the right mandibular bone was involved. In the postcontrast image, marked heterogeneous contrast enhancement can be appreciated (Takagi et al., 2018).

to infiltrate areas of well-differentiated (preexisting) bone with separation of bony trabeculae and with multifocal areas of osteonecrosis (osteolysis).

DISCUSSION

The presentation of SCC varies between intraoral regions. In the present mandibular-origin case, contrary to typical presentations, ulcerative lesions were present, and neoplastic cells reached the ulcerated mucosal surface. The periosteal reaction was severe, irregular and amorphous, deviating from the solid or lamellar pattern. A possible explanation for ulcerations in this case involves substantial mass expansion and infiltration into adjacent tissues, likely stemming from a delayed diagnosis of the SCC. A second explanation can be tumor type. The histopathologic grade of 2 indicates accelerated growth and increased infiltration compared to grade 1 tumors (Dissanayake, 2017) (Table 1).

The case exhibits imaging similarities with a benign hamartoma (Takagi et al., 2018). In Figure 5, an instance of a mandibular vascular hamartoma showing striking similarities to the present case is illustrated. Vascular hamartoma, likely originating from disorganized vascular cells, forms a tumor-like mass with severe bone proliferation, bone resorption and intense soft tissue contrast enhancement. The intense contrast enhancement could serve as a potential distinguishing imaging characteristic between a hamartoma and a SCC. However, it is essential to note that this conclusion is derived from a single case report. In addition to the potential contrast enhancement differences, the clinical presentation between these two entities may also differ. In the case of vascular hamartoma, the cat presented with hypersalivation and oral bleeding. Anorexia manifested only during episodes of oral bleeding but the cat recovered in between (Takagi et al., 2018). Due to these minor differences between the two types of lesions, biopsy is required to accurately

Table 1. Histopathologic grading based on the invasive front grading system for squamous cell carcinomas (Dissanayake, 2017).

| Morphologic parameters | Scores | | | |
|--------------------------------|-----------------|-------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Degree of keratinization | Highly (>50%) | Moderately (20-50%) | Minimal (5-20%) | No (0-5%) |
| Nuclear pleomorphism | Little | Moderately | Abundant | Extreme |
| Number of mitoses ^a | 0-1 | 2-3 | 4-5 | >5 |
| POI | Pushing borders | Infiltrating cords/bands or strands | Small cell groups (n > 15) | Single cells/tiny groups (n < 15) |
| Lymphocytic infiltration | Marked | Moderate | Slight | None |

^a per high power field

^b POI: pattern of invasion

distinguish between a benign hamartoma and a SCC.

The metastasis rates for feline SCC vary (0% to 36%), with regional lymph nodes being common sites (Hutson et al., 1992; Gendler et al., 2010). No lymph node enlargement was noted in this case, but metastatic disease cannot be excluded based on this alone. Sentinel lymph node mapping aids in exclusion, in which CT, ultrasound, fluoroscopy or lymphoscintigraphy can be used as diagnostic tools. When using CT, ultrasound, or lymphoscintigraphy, the lymph node mapping is performed before surgical excision, while fluoroscopy can be performed intraoperatively. The primary lymph node where uptake is seen, is designated as the sentinel lymph node, and should be excised or subjected to biopsy, followed by histopathological examination. Another possibility are fine-needle aspirations of the sentinel lymph node, although histopathology is considered the gold standard, while cytological examination can still yield a significant rate of false negative results (Herring et al., 2002).

CT imaging provides crucial information about oral masses, including size, margin, characteristics, contrast enhancement and aiding in metastatic spread evaluation. Despite lacking specificity, CT remains vital in the diagnostic process.

In conclusion, given the challenges in definitively distinguishing benign lesions from SCC based on imaging alone, histopathological diagnosis remains essential. A comprehensive approach combining clinical, radiological and histopathological assessments is crucial for the accurate management of cats with oral lesions.

LITERATURE

Bilgic O., Duda L., Sanchez M.D., Lewis J.R. (2015). Feline oral squamous cell carcinoma: Clinical manifestations and literature overview. *Journal of Veterinary Dentistry* 32, 30-40.

- Dissanayake U. (2017). Malignancy grading of invasive fronts of oral squamous cell carcinomas; Correlation with overall survival. *Translational Research in Oral Oncology*. Volume 2. <https://doi.org/10.1177/2057178X17708>
- Herring E.S., Smith M.M., Robertson J.L. (2002). Lymph node staging of oral and maxillofacial neoplasms in 31 dogs and cats. *Journal of Veterinary Dentistry* 19(3), 122-174.
- Gendler A., Lewis J.R., Reetz J.A., Schwarz T. (2010). Computed tomographic features of oral squamous cell carcinoma in cats: 18 cases (2002-2008). *Journal of American Veterinary Medical Association* 236, 319-325.
- Harvey C.E., Emily P. (1993). Oral neoplasms. In: Harvey C.E. and Emily P. (editors). *Small Animal Dentistry*. St. Louis, Mosby, pp. 306.
- Hayes A.M., Adams V.J., Scase T.J., Murphy S. (2007). Survival of 54 cats with oral squamous cell carcinoma in United Kingdom general practice. *Journal of Small Animal Practice* 48, 394-399.
- Hutson C.A., Willauer C.C., Walder E.J., Stone J.L., Klein M.K. (1992). Treatment of mandibular squamous cell carcinoma in cats by use of mandibulectomy and radiotherapy: seven cases (1987-1989). *Journal of American Veterinary Medical Association* 201, 777-781.
- Král D., Pink R., Šašková L., Michálek J., Tvrdý P. (2021). Bone invasion by oral squamous cell carcinoma. *Journal of Plastic Surgery (Acta Chirurgiae Plasticae)* 63(3), 139-144.
- Liptak J.M., Withrow S.J. (2007). Oral tumors. In: *Small Animal Clinical Oncology*. Liptak J.M. and Withrow S.J. (editors). Fourth edition, St Louis, Saunders Elsevier, 455-478.
- Martin-Vaquero P., Moore S.A., Wolk K.E., Oglesbee M.J. (2011). Cerebral vascular hamartoma in a geriatric cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 13, 286-290.
- Murphy B.G., Bell C.M., Soukup J. (2020). Oral squamous cell carcinoma. In: Murphy B.G., Bell C.M. and Soukup J. (editors). *Veterinary Oral and Maxillofacial Pathology*. First edition, Hoboken, NJ, Wiley & Sons, pp. 139-148.
- Nemanic S., London C.A., Wisner E.R. (2006). Comparison of thoracic radiographs and single breath-hold helical CT for detection of pulmonary nodules in dogs with metastatic neoplasia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21(1), 27-31.

- Padgett S.L., Tillson D.M., Henry C.J., Buss M.S. (1997). Gingival vascular hamartoma with associated paraneoplastic hyperglycemia in a kitten. *Journal of American Veterinary Medical Association* 210, 914-915.
- Panarese I., Aquino G., Ronchi A., Longo F., Montella M., Cozzolino I., Rocuzzo G., Colella G., Caraglia M., Franco R. (2019). Oral and Oropharyngeal squamous cell carcinoma: prognostic and predictive parameters in the etiopathogenetic route. *Expert Review of Anticancer Therapy* 19(2), 105-119.
- Pavlin D., Dolenssek T., Švara T., Nemeč A. (2018). Solid type primary intraosseous squamous cell carcinoma in a cat. *BMC Veterinary Research* 14(1), 23.
- Postorino Reeves N.C., Turrel J.M., Withrow S.J. (1993). Oral squamous cell carcinoma in the cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 29, 438-441.
- Sigal R., Zagdanski A.M., Schwaab G., Bosq J., Auperin A., Laplanche A., Francke J.P., Eschwège F., Luboinski B., Vanel D. (1996). CT and MR imaging of squamous cell carcinoma of the tongue and floor of the mouth. *Radiographics* 16, 787-810.
- Smith T.J., Baltzer W.I., Ruaux C.G., Heidel J.R., Carney P. (2010). Gastric smooth muscle hamartoma in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 12, 334-337.
- Soltero-Rivera M.M., Krick E.L., Reiter A.M., Brown D.C., Lewis J.R. (2014). Prevalence of regional and distant metastasis in cats with advanced oral squamous cell carcinoma: 49 cases (2005-2011). *Journal of Feline Medicine and Surgery* 16(2), 164-169.
- Stebbins K.E., Morse C.C., Goldschmidt M.H. (1989). Feline oral neoplasia: a ten-year survey. *Veterinary Pathology* 26, 121-128.
- Strohmayr C., Klang A., Kneissi S. (2010). Computed tomographic and histopathological characteristics of 13 equine and 10 feline oral and sinonasal squamous cell carcinomas. *Frontiers Veterinary Science* 7, 591437.
- Subsavhad W., Dirksen W.P., Martin C.K., Rosol T.J. (2016). Animal models of head and neck squamous cell carcinoma. *The Veterinary Journal* 210, 7-16.
- Takagi S., Kagawa Y., Hanazono K., Murakami S., Deguchi T., Izumi Y., Hosoya K., Kim S., Okumura M. (2018). Mandibular vascular hamartoma in a cat. *Journal of Veterinary Medicine and Science* 80(9), 1456-1458.
- Tsuka T., Okamoto Y., Yamamoto N., Hayashi K., Morita T., Sunden Y., Murahata Y., Azuma K., Osaki T., Ito N., Imagawa T. (2018). Unilateral rostral mandibulectomy for gingival vascular hamartoma in two calves. *Journal of Veterinary Science* 19, 582-584.



© 2024 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/>).

Screeningsmethoden voor mitralisklepdegeneratie en fokprotocol bij de cavalier king charles spaniël: een enquête bij fokkers en dierenartsen

Screening methods for mitral valve degeneration and breeding protocol in the cavalier King Charles spaniel: a survey amongst breeders and veterinarians

N. Celis, V. Liekens, A. Hellemans, P. Smets

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

celisnathalie@hotmail.com

SAMENVATTING

Myxomateuze mitralisklepdegeneratie (MKD) komt frequenter voor bij de cavalier king charles spaniël (CKCS) dan bij andere rassen. Het primaire doel van dit onderzoek was om na te gaan welk protocol fokkers gebruiken en wat volgens de dierenartsen belangrijk is om te implementeren in een fokprotocol. Het tweede doel van deze studie was om eventuele verbeterpunten van het huidige fokprotocol te identificeren en uit te werken op basis van een literatuurstudie. Dit onderzoek werd uitgevoerd aan de hand van enquêtes verdeeld onder dierenartsen voor gezelschapsdieren en fokkers in België. Uit de resultaten blijkt dat 44/60 dierenartsen hartauscultatie gebruiken als eerste stap om MKD vast te stellen en dat 51/60 dierenartsen ook echocardiografie aanraden. Radiografie van de thorax wordt slechts door 25/60 van de dierenartsen uitgevoerd. De bevroegde dierenartsen bevestigen grotendeels de bekende epidemiologie van MKD bij de CKCS. Volgens 53/60 dierenartsen zijn CKCS jonger dan andere rassen bij het vaststellen van een hartruis. Deze resultaten suggereren dat de combinatie van hartauscultatie en echocardiografie een belangrijke rol speelt in het fokprotocol. Volgens elf van de vijftien bevroegde fokkers is MKD de meest voorkomende aandoening bij CKCS en ze zijn dan ook bereid een fokprotocol te volgen.

ABSTRACT

Myxomatous mitral valve disease (MVD) is more frequent in the cavalier King Charles spaniel (CKCS) than in other breeds. The primary goal of this study was to gather information on contemporary breeding programs that breeders use and what veterinarians deem important to include in a breeding program. The second goal of this study was to identify points of improvement in the current breeding protocol and to propose possible adaptations based on a literature study. This study was performed by the distribution of surveys to companion animal veterinarians and breeders from Belgium. The results show that 44/60 veterinarians use cardiac auscultation as the first step to diagnose MVD and 51/60 also recommend echocardiography. Radiography of the thorax is used by 25/60 veterinarians. Surveyed veterinarians mainly confirm the known epidemiology of MVD in the CKCS. According to 53/60 veterinarians, CKCS are younger than other breeds when a heart murmur is diagnosed. These results suggest that the combination of cardiac auscultation and echocardiography plays an important role in the breeding protocol. According to eleven of the fifteen questioned breeders, MVD is the most common disorder in CKCS seen in their practice, and therefore, they are willing to follow a breeding protocol.

INLEIDING

Myxomateuze mitralisklepdegeneratie (MKD) is de meest voorkomende hartaandoening bij de cavalier king charles spaniël (CKCS) (Pedersen et al., 1999). Het is een erfelijke en progressieve degeneratieve aandoening van de mitralisklep, waarbij er een toename is van extracellulaire matrix (vooral proteoglycanen) in de spongiosaalag en een afbraak van collageen en elastine in de fibrosalaag. Dit gaat gepaard met een nodulaire verdikking van het endotheel (Fox, 2012). Hierdoor verandert de vorm van de mitralisklep, waardoor deze niet goed meer sluit, wat leidt tot regurgitatie van de mitralisklep (Fox, 2012; Keene et al., 2019). Dit is hoorbaar op hartauscultatie in de vorm van een systolische hartruis.

Bij de CKCS komt MKD reeds op jonge leeftijd frequent voor, vaker dan bij andere hondenrassen (Bionda et al., 2020). Bij ongeveer de helft van de CKCS heeft zich op vijfjarige leeftijd reeds MKD ontwikkeld, terwijl dit bij andere rassen pas op tien tot vijftien jaar ontstaat (Russel, 2015). Op de leeftijd van zes à zeven jaar heeft de helft van de CKS een hartruis (Hägström et al., 1992). Op elfjarige leeftijd is deze prevalentie nagenoeg 100% (Lundin en Kvar, 2010). Eveneens wordt er bij de CKCS een snellere progressie van de ziekte waargenomen (Bagardi et al., 2020). Bij CKCS duurt het gemiddeld één tot drie jaar voor congestief hartfalen ontstaat, terwijl dit bij andere rassen gemiddeld drie tot vijf jaar is (Russel, 2015). Gezien het feit dat de genetische achtergrond van het dier een grote bijdrage levert tot de ontwikkeling van MKD, zou genetische selectie tegen MKD een mogelijke oplossing kunnen zijn om de prevalentie van deze hartaandoening bij de CKCS te verminderen (Lewis et al., 2011; O'Brien et al., 2021). In verscheidene studies werd reeds getracht deze onderliggende genetische oorzaken in kaart te brengen (Hägström et al., 1992; Lewis et al., 2011; Madsen et al., 2011; French et al., 2012; Bionda et al., 2020; Markby et al., 2020) maar op dit moment bestaat er nog geen genetische test voor de detectie van mutaties geassocieerd met MKD bij de hond. Aangezien MKD ook een polygene/multifactoriële overerving heeft, is een DNA-test ook minder effectief dan bij monogene overerving.

Het opstellen van een efficiënt fokprotocol vereist onderzoek naar screeningsmethoden die cruciaal zijn om de ziekte accuraat en vroegtijdig op te sporen. Daarnaast is het ook belangrijk om de dierenartsen en de fokkers van CKCS te betrekken bij deze problematiek om de haalbaarheid en noden in de praktijk te achterhalen.

Het doel van deze studie was om de praktijksituatie met betrekking tot screening voor MKD te schetsen in kleinehuisdierenpraktijken en bij fokkers, en mogelijke wijzigingen aan het huidige fokprotocol voor te stellen dat opgesteld werd door de Vlaamse Fokkerijcommissie (https://www.vfc.vlaanderen/d_

gezondheid/). Er werd in de enquête bij de dierenartsen nagevraagd welke diagnosemethoden voor MKD ze momenteel het vaakst gebruiken. Verder werd ook de mening van de dierenartsen en fokkers gevraagd over een protocolvoorstel en werd gepolst naar hun motivatie om dit protocol te volgen. Dit is belangrijke informatie, omdat dierenartsen en fokkers dit fokprotocol moeten ondersteunen in de praktijk.

MATERIAAL EN METHODEN

Respondenten

Via Google Formulieren werden er twee enquêtes opgesteld. De eerste vragenlijst was voor Vlaamse en Waalse dierenartsen en werd verspreid via de nieuwsbrief van de Orde der dierenartsen, via het magazine Dierenartsenwereld, via de website van SAVAB Flanders en via email naar leden van een cardiologiewerkgroep (samengebracht door Boehringer-Ingelheim Animal Health). De vragenlijst was beschikbaar gedurende twee maanden. De andere vragenlijst was voor de Vlaamse en Waalse fokkers van CKCS. Deze werd verstuurd naar de leden van de Belgische Cavalierclub (24 fokkers) via de nieuwsbrief en werd opengesteld gedurende negen maanden. Voor fokkers die geen lid zijn van de Belgische Cavalierclub (23 fokkers) was de enquête beschikbaar gedurende vijf maanden nadat ze via email werden aangeschreven. Alle enquêtes werden volstrikt anoniem behandeld volgens de regels van de Algemene Verordening Gegevensbescherming.

Enquête

De enquête werd opgedeeld in vier verschillende onderdelen. In het eerste onderdeel werden demografische gegevens van de dierenartsen en fokkers gevraagd om de provincie waar ze werken en hun ervaring te kunnen vergelijken. In het tweede deel werden bij de dierenartsen vragen gesteld over het voorkomen, de diagnose en behandeling van MKD bij de CKCS en bij andere hondenrassen. Bij de fokkers werden hier vragen gesteld over het voorkomen van MKD bij hun CKCS. In het derde deel werd aan de dierenartsen gevraagd wat zij belangrijk vinden in een fokprotocol en aan de fokkers werd gevraagd welk fokprotocol ze momenteel gebruiken. Het laatste deel bevatte het voorgestelde fokprotocol waarover de mening van de dierenartsen en de fokkers gevraagd werd. In dit protocolvoorstel, gebaseerd op het fokprotocol "The Kennel Club Heart Scheme" van de Britse Kennelclub werd de hartruis geclassificeerd van één tot zes en werd de prolaps van de mitralisklep geclassificeerd van nul tot drie via echocardiografie. Deze twee graderingen werden tegenover elkaar uitgezet in een tabel op basis van de leeftijd van de hond waarna duidelijk werd of deze hond nog kan gebruikt worden in

de fok aan de hand van kleurcodes. Idealiter worden honden gebruikt voor de fok die ouder zijn dan vijf jaar, een ‘groen’ resultaat krijgen na hartauscultatie en echocardiografie zonder andere hartafwijkingen, en in goede algemene gezondheid verkeren. Honden vanaf tweeënhalf jaar mogen ook gebruikt worden, maar dan moeten beide ouders vrij geweest zijn van hartruis op de leeftijd van vijf jaar. In Tabel 1 wordt een vergelijking gemaakt tussen het fokprotocol van de Vlaamse overheid en het door de auteurs voorgestelde fokprotocol. Er werden meerkeuzevragen gesteld waarbij een Likertschaal gebruikt werd naast vragen waarbij percentages konden gekozen worden. Dit werd gecombineerd met open vragen.

Data-analyse

De resultaten van de enquêtes werden opgenomen in het Microsoft-programma Excel waarna ze verwerkt werden in het statistische programma SPSS Statistics 27. Er werd een descriptieve analyse gemaakt van de frequenties waarin de verschillende antwoorden gegeven werden om deze met elkaar te kunnen vergelijken. Bij vragen waarop meerdere antwoorden gegeven konden worden, werd de ‘multiple

response’-functie gebruikt om de frequenties te bepalen.

RESULTATEN

In totaal vulden zestig dierenartsen, twaalf leden en drie niet-leden van de Cavalierclub de desbetreffende enquête correct in. De demografische gegevens worden weergegeven in Tabel 2. Onvolledige antwoorden werden niet meegenomen in de analyse. Een respons-ratio kon niet berekend worden omdat het exacte aantal personen dat de enquête ontvangen heeft, niet kon vastgesteld worden.

Enquête dierenartsen

Uit de enquête blijkt dat 55/60 dierenartsen MKD vaker vaststellen bij de CKCS dan bij andere hondensrassen. Vijf van de zestig dierenartsen stellen MKD even vaak vast bij CKCS als bij andere rassen. De leeftijd waarop bij de meeste CKCS voor de eerste maal een hartruis wordt vastgesteld, is volgens 50/60 dierenartsen vier tot zeven jaar. Bij 3/60 dierenartsen is dit zelfs vóór de leeftijd van drie jaar. Daarnaast ge-

Tabel 1. Vergelijking van het fokprotocol van de Vlaamse overheid met het in deze studie voorgestelde fokprotocol.

| | Vlaanderen | Protocolvoorstel |
|--|--|---|
| Opgesteld door | Departement Landbouw en Visserij van de Vlaamse overheid (https://www.vfc.vlaanderen/d_gezondheid/) | Gebaseerd op “The Kennel Club Heart Scheme” – Britse Kennelclub (https://www.thekennelclub.org.uk/health-and-dog-care/health/getting-started-with-health-testing-and-screening/heart-scheme-for-cavalier-king-charles-spaniels/) |
| Verplicht? | Ja | Ja |
| Onderzoeken | Hartauscultatie en echocardiografie | Hartauscultatie en echocardiografie |
| Hartauscultatie | Hartruis: type – lokalisatie – intensiteit – link met MKD | Gradering hartruis 1-6/6 |
| Echocardiografie | Waarden van 2D-, M-mode, Doppler – afwijkingen aan hartkleppen | Gradering MVP 1-3/3 |
| Wanneer onderzoeken uitvoeren en herhalen? | Niet gespecificeerd | Vanaf 2 jaar ouderdom – herhalen om de 2 jaar |
| Fokadvies | Niet gespecificeerd | O.b.v. beide graderingen en leeftijd: wordt duidelijk a.d.h.v. kleurcoderingen – groen (1), oranje (2), rood (3) Hond ouder dan 5 jaar + “groen” resultaat + geen andere hartafwijkingen + goede algemene gezondheid = gebruiken in fok Hond vanaf 2,5 jaar gebruiken in fok als beide ouders vrij van hartruis op 5 jaar ouderdom |

(1) laagste risico op ontwikkeling MKD en doorgeven aan nakomelingen

(2) hoger risico, maar mogen wel gebruikt worden in de fok als ze verder in goede gezondheid verkeren en geen andere erfelijke aandoeningen hebben en enkel met honden die een “groen” resultaat kregen

(3) hoogste risico dus niet voor fok

Tabel 2. Demografische gegevens van de respondenten.

| | | Dierenartsen | Fokkers Cavalierclub | Fokkers niet via Cavalierclub |
|---|---|--------------|-------------------------|----------------------------------|
| Werkzaam in | Antwerpen | 19 | 2 | 1 |
| | Oost-Vlaanderen | 12 | 4 | 1 |
| | West-Vlaanderen | 12 | 3 | 0 |
| | Vlaams-Brabant | 7 | 1 | 0 |
| | Limburg | 7 | 0 | 0 |
| | Brussel | 1 | 0 | 0 |
| | Wallonië | 5 | 1 | 1 |
| | Buitenland | 0 | 1 | 0 |
| Aantal jaren werk-/fokervaring | 0-5 jaar | 10 | 3 | 0 |
| | 6-10 jaar | 9 | 4 | 0 |
| | 11-15 jaar | 11 | 1 | 1 |
| | 16-20 jaar | 12 | 2 | 2 |
| | Meer dan 20 jaar | 18 | 2 | 0 |
| Type praktijk | Eerstelijnspraktijk | 42 | / | / |
| | Tweedelijnspraktijk (zonder specifieke focus op cardiologie) | 24 | / | / |
| | Derdelijnspraktijk (zonder specifieke focus op cardiologie) | 5 | / | / |
| | | | | |

ven 47/60 dierenartsen aan dat de gemiddelde leeftijd van andere hondenrassen bij het vaststellen van een hartruis meestal acht tot elf jaar is. Bij 8/60 dierenartsen is dit zelfs twaalf tot vijftien jaar.

De diagnosemethoden voor MKD die gebruikt worden door de dierenartsen zijn hartauscultatie, radiografie van de thorax en echocardiografie. Tweeëntwintig van de zestig dierenartsen combineren deze drie diagnosemethoden. Vijftien dierenartsen stellen de diagnose van MKD met echocardiografie. Veertien dierenartsen gebruiken hartauscultatie en echocardiografie. Zes dierenartsen diagnosticeren MKD enkel met behulp van hartauscultatie. Twee dierenartsen voeren hartauscultatie uit in combinatie met radiografie van de thorax. Eén dierenarts gebruikt radiografie van de thorax. Tweeënveertig van de zestig dierenartsen adviseren echocardiografie wanneer een hartruis wordt vastgesteld via auscultatie. Tien van de zestig dierenartsen doen dit wanneer cardiomegalie wordt vastgesteld op RX. Vijf van de zestig dierenartsen adviseren geen echocardiografie, omdat deze van mening zijn dat er genoeg informatie gehaald kan worden uit RX-opnames van de thorax om hartmedicatie al dan niet op te starten. De drie overige dierenartsen raden echocardiografie aan bij ademhalingsproblemen en hoesten. Bij 36/60 dierenartsen is de CKCS gemiddeld vier tot zeven jaar op het moment dat echocardiografie wordt aangeraden. Bij 5/60 dierenartsen is de CKCS zelfs nul tot drie jaar. Andere rassen zijn bij 44/60 dierenartsen al gemiddeld acht tot elf jaar op dat moment en bij 6/60 dierenartsen zelfs twaalf tot vijftien jaar.

Wanneer gevraagd werd naar de evolutie van CKCS met MKD tot congestief hartfalen, gaven 45/60

dierenartsen aan dat deze evolutie plaatsvindt bij meer dan 50% van de CKCS. Bij de andere hondenrassen was dit het geval bij 31/60 respondenten. Daarnaast zien 31/60 dierenartsen een snellere progressie van MKD bij de CKCS dan bij andere hondenrassen, terwijl dit volgens vier van de respondenten net omgekeerd is.

Bij de sectie over het huidige screeningsprotocol werd door 48/60 dierenartsen aangegeven dat ze geen fokkers in hun klantenbestand hebben. Bij vier dierenartsen die wel fokkers in hun klantenbestand hebben, volgen de fokkers geen fokprotocol. Bij de rest van deze dierenartsen wordt door de klant-fokkers het formulier van de Vlaamse fokkerijcommissie van cardiovasculair onderzoek (vier dierenartsen) en hartdoppler (vier dierenartsen) gebruikt naast de twee Nederlandse formulieren van 'CKCS screening' (drie dierenartsen). Bij drie van de acht dierenartsen volgen alle fokkers hetzelfde protocol. Bij de overige vijf dierenartsen wordt een combinatie van fokprotocollen gebruikt door de verschillende fokkers.

Vooraleer het fokprotocol werd voorgesteld, werd gevraagd aan de dierenartsen wat volgens hen belangrijk zou zijn om in het protocol te implementeren. Ze raadden aan om de CKCS waarbij op jonge leeftijd een hartruis wordt vastgesteld, te weren uit de fok. Daarnaast gaven 7/60 dierenartsen aan om de ouderdieren en de grootouderdieren in beschouwing te nemen. Eén dierenarts maakte ook de opmerking dat het belangrijk is dat wanneer de teef en de reu gescreend worden om in de fok gebruikt te worden, ook hun ouders opnieuw te screenen, omdat op dat moment de fokdieren meestal nog te jong zijn om al tekenen van MKD te vertonen. Eén dierenarts gaf ook aan dat het

belangrijk is om vast te leggen wie deze screenings mag uitvoeren en om richtlijnen mee te geven over wat als niet normaal beschouwd kan worden tijdens deze onderzoeken en welke beoordeling daaruit moet volgen. Drie dierenartsen maakten de opmerking dat een genetische test voor MKD bij het screenen van fokdieren een meerwaarde zou zijn. Verder werden een fokverbod aangehaald door één dierenarts en kunstmatige inseminatie bij oudere dieren zonder symptomen van MKD door een andere dierenarts.

Vierenveertig van de zestig dierenartsen vond het voorgestelde protocol goed tot zeer goed, maar sommige dierenartsen (7/60) vonden de leeftijd van vijf jaar te oud om nog te starten met fokken. Daarentegen vonden 7/60 dierenartsen de leeftijd van vijf jaar te jong om de honden al toe te laten in de fok, omdat ze op latere leeftijd nog steeds een hartuis kunnen ontwikkelen. Negenentwintig dierenartsen vonden het een goed voorstel, omdat het duidelijk interpreteerbaar is, rekening houdt met de leeftijd van de honden en echocardiografie wordt gebruikt. Drie dierenartsen vonden dit protocol toch onvoldoende omdat er nog steeds een hartuis getolereerd wordt wanneer een lage gradering gegeven wordt.

Enquête fokkers

Alle vijftien fokkers gaven aan dat vanaf de leeftijd van zeven à acht jaar bij 76 tot 100% van de nesten bij minstens één hond een hartuis wordt vastgesteld. Opvallend is dat de fokkers een oudere leeftijd aangeven dan de dierenartsen voor wat betreft de eerste vaststelling van een hartuis.

Aangezien MKD niet de enige aandoening is waarvoor de CKCS gepredisponerd is, werd het voorkomen van andere ziektes ook nagevraagd, zoals syringomyelie, “primary secretory otitis media” en brachycefal obstructief luchtwegsyndroom. MKD bleek het meest frequent voor te komen, wat de bevindingen in de literatuur bevestigt (Keene et al., 2019).

Zes van de vijftien fokkers gaven aan dat er zich bij 76 tot 100% van hun CKCS uiteindelijk congestief hartfalen ontwikkelt vanaf de leeftijd van acht jaar. Bij twee fokkers is dit al bij de helft van de CKCS vanaf zesjarige leeftijd. Vanaf de leeftijd van negen jaar werd bij de overige fokkers een stijging waargenomen van het percentage CKCS waarbij er zich uiteindelijk congestief hartfalen ontwikkelt. Hierbij dient opgemerkt te worden dat de fokkers meerdere combinaties op de vragenlijst konden aanduiden van het aantal CKCS en de leeftijd, maar niet alle fokkers hebben combinaties aangeduid.

Om de effecten van de fokschema's in kaart te brengen, werd aan de fokkers gevraagd welk fokprotocol ze momenteel gebruiken. Zeven fokkers gebruiken het formulier ‘Resultaten van CKCS-screening’ afkomstig uit Nederland, waarop verschillende echocardiografische waarden kunnen worden ingevuld. Drie fokkers gebruiken het formulier over hartauscultatie van de Vlaamse fokkerijcommissie (KMSH) en

twee fokkers gebruiken het formulier over echocardiografie van Frankrijk. Twee fokkers gebruiken nog geen fokprotocol en één fokker gebruikt het formulier over hartdoppler van de Vlaamse fokkerijcommissie (KMSH). Door het gebruik van hun huidige fokprotocollen zien vijf fokkers al een duidelijke verbetering in het voorkomen van MKD, zes fokkers een milde verbetering en vier fokkers geen verbetering.

Nadat hetzelfde fokprotocol werd voorgesteld als bij de dierenartsen, werd de reactie van de fokkers gevraagd. Tien fokkers vinden dit een goed voorstel. Eén fokker gaf aan dat de honden volgens dit protocol te frequent onderzocht moeten worden, terwijl één andere fokker aangaf dat een jaarlijks onderzoek verplicht moet worden. Daarnaast werd door één fokker aangehaald dat er rekening gehouden moet worden met andere genetische aandoeningen bij de CKCS. Twee fokkers vonden dit protocol onvoldoende om het voorkomen van MKD bij de CKCS te verminderen. Twaalf fokkers zouden dit protocolvoorstel ook op vrijwillige basis volgen, drie fokkers enkel als het verplicht zou zijn.

Ten slotte werd gevraagd naar de algemene bereidheid van de fokkers om fokrichtlijnen te volgen. Dertien fokkers zouden fokrichtlijnen vrijwillig volgen als het hartauscultatie en echocardiografie betreft, twee fokkers als het enkel hartauscultatie betreft.

DISCUSSIE

In deze tweeledige enquête werd het gebruik van screeningsmethoden onderzocht bij dierenartsen en fokprotocollen bij fokkers voor MKD bij CKCS. Uit de resultaten blijkt dat hartauscultatie en echocardiografie de meest gebruikte screeningsmethoden zijn door de dierenartsen en dat de fokkers open staan om een fokprotocol te volgen waarin deze methoden opgenomen zijn.

In overeenstemming met de epidemiologische gegevens uit de literatuur, gaven de ondervraagde dierenartsen aan dat ze bij CKCS op jongere leeftijd dan bij andere hondenrassen de eerste maal een hartuis vaststellen en bevestigden ook dat MKD frequenter voorkomt bij de CKCS dan bij andere rassen (Madsen et al., 2011; Bagardi et al., 2020). De variatie in de progressie van MKD zoals beschreven in de literatuur (Keene et al., 2019; Bionda et al., 2020) werd ook weergegeven in de resultaten van de enquête bij de dierenartsen. Daarnaast ontwikkelt er zich bij CKCS volgens de dierenartsen vaker en op jongere leeftijd congestief hartfalen. Dit kan te wijten zijn aan het feit dat bij CKCS soms een snellere progressie wordt vastgesteld, waardoor zij op jongere leeftijd deze evolutie doormaken. De genetische achtergrond van MKD bij de CKCS kan de snellere progressie van MKD en de jongere leeftijd bij het ontstaan van MKD verklaren.

Het gebruik van goede screeningsmethoden is belangrijk bij het opstellen van een fokprotocol. Zestien van de zestig dierenartsen past geen hartauscultatie

toe als eerste screeningsmethode voor MKD maar dit lijkt zeer onwaarschijnlijk. Dit komt mogelijk door een verkeerde interpretatie van de vraagstelling door de respondenten. Negen van de zestig dierenartsen gebruiken geen echocardiografie. Dit is belangrijke informatie omdat in het voorgestelde protocol een combinatie wordt voorgeschreven van hartauscultatie en echocardiografie. De combinatie van beide diagnosemethoden is noodzakelijk. Uit een studie van Lundin en Kwart (2010) bleek namelijk dat bij een fokprotocol, waarbij enkel hartauscultatie wordt uitgevoerd, geen significante daling wordt vastgesteld in het voorkomen van MKD bij de CKCS (Lundin en Kwart, 2010). De studie kent echter enkele limitaties. Ze werd reeds twee jaar nadat het fokschema van toepassing was, opgestart, wat mogelijk te snel is om een significant effect van het fokprotocol te kunnen waarnemen (Lundin en Kwart, 2010). Daarnaast is het mogelijk dat de erfelijkheidsgraad lager is dan oorspronkelijk vermoed, waardoor geen groot effect van een fokprotocol verwacht kan worden (Lundin en Kwart, 2010). De leeftijd waarop CKCS worden toegelaten voor de fok in dit protocol (namelijk vanaf vier jaar) is ook vrij jong, gezien er zich bij de honden op latere leeftijd alsnog een hartruis kan ontwikkelen (Lundin en Kwart, 2010). Dit fokprotocol diende verplicht gevolgd te worden, maar het is mogelijk dat niet alle fokkers het protocol volledig gevolgd hebben. Bovendien werden de eigenaars in deze studie opgeroepen om hartauscultatie bij hun hond te laten uitvoeren waardoor de resultaten van dit onderzoek sterk afhankelijk zijn van de motivatie van deze eigenaars. Ten slotte is hartauscultatie als enige diagnosemethode voor MKD mogelijk onvoldoende om de prevalentie van MKD te verminderen. De hartauscultatie bij alle CKCS werd consequent door éénzelfde persoon uitgevoerd, namelijk door een ervaren veterinaire cardioloog (Lundin en Kwart, 2010). In Denemarken bestaan de fokrichtlijnen uit hartauscultatie en echocardiografie en moeten beide verplicht gevolgd worden door de fokkers. De hartruis wordt geclassificeerd van één tot zes op zes en via echocardiografie wordt de prolaps van de mitralisklep geclassificeerd van nul tot drie op drie. Na een periode van acht tot tien jaar resulteren deze fokrichtlijnen in een vermindering van het risico op een hartruis door mitralisklepregurgitatie met 69% (Birkegård et al., 2016). Er dient echter opgemerkt te worden dat dit effect enkel significant is voor nakomelingen waarvan beide ouders goedgekeurd werden volgens deze fokrichtlijnen (Birkegård et al., 2016). Bovendien werd in deze studie aangetoond dat het belangrijk is om echocardiografie te implementeren in het fokprotocol zodoende de kans op de ontwikkeling van een prolaps van de mitralisklep te verminderen met 36% wanneer beide ouders goedgekeurd werden volgens dit protocol (Birkegård et al., 2016; Swift et al., 2017). In de studie van Swift et al. (2017) werd aangetoond dat een fokprotocol waarbij enkel hartauscultatie uitgevoerd wordt, geen significante verhoging van de leeftijd van

CKCS-reuen gezien werd waarop een hartruis werd vastgesteld. Anderzijds werd bij teven een verhoging van de leeftijd met zeven maanden gezien (Swift et al., 2017).

In het laatste onderdeel van de enquête werd een fokprotocol voorgesteld, maar eerst werd gevraagd wat volgens de dierenartsen belangrijk is om het voorkomen van MKD te verminderen bij de CKCS. Echocardiografie is volgens 20/60 dierenartsen de belangrijkste screeningsmethode om in een fokprotocol op te nemen en om op regelmatige basis te herhalen. Naast echocardiografie werd ook hartauscultatie aangehaald door 5/60 dierenartsen. De ontwikkeling van een genetische test zou volgens 3/60 dierenartsen ook nuttig kunnen zijn bij de CKCS maar dit is niet vanzelfsprekend door de polygene en multifactoriële overerving van MKD bij dit ras (Swenson et al., 1996). Verder onderzoek is hier noodzakelijk. Er werden reeds genoom-wijde associatiestudies uitgevoerd (Madsen et al., 2011; French et al., 2012; Bionda et al., 2020). Het grote nadeel van het gebruik van deze testen bij CKCS is dat er zo goed als geen controlegroep kan gevormd worden, omdat ze allen op jonge of latere leeftijd een hartruis vertonen (O'Brien et al., 2021). Er werd aangetoond dat meerdere genen belangrijk zijn bij het eerder optreden en de snellere progressie van MKD bij de CKCS. Dit maakt de ontwikkeling van een DNA-test voor MKD bij de CKCS niet eenvoudig, waardoor de kans op een goede selectie van fokdieren door middel van een DNA-test kleiner wordt. De erfelijkheidsgraad van MKD bij de CKCS is hoog, waardoor genetische selectie wel mogelijk moet zijn. In een studie van Swenson et al. (1996) werd aangetoond dat hoe hoger de ziektestatus van de ouderdieren, hoe meer nakomelingen een hartruis hebben en hoe ernstiger deze hartruis is.

Bij het voorstel van het fokprotocol in de voorliggende enquête toelichting maakten zeven dierenartsen de opmerking dat de leeftijd van vijf jaar te oud is om nog met de fok te beginnen. Deze opmerking is opvallend gezien dit niet aangegeven werd door de fokkers zelf. Dit betekent mogelijk dat de fokkers die de vragenlijst hebben ingevuld ervoor openstaan om het voorkomen en de vroege ontwikkeling van MKD te verminderen door het volgen van een fokprotocol. Eens het voorkomen van MKD daalt, kan de fokleeftijd teruggebracht worden tot jonger dan vijf jaar.

Uit de enquête bij de fokkers blijkt dat de leeftijd waarop een hartruis bij CKCS vastgesteld wordt, hoger is dan de leeftijd die door de dierenartsen wordt aangegeven. Dit zou verklaard kunnen worden doordat sommige fokkers de leeftijd van de honden aangaven waarop een ernstigere graad van hartruis werd vastgesteld, terwijl de dierenartsen de leeftijd aangaven waarop een hartruis van graad één werd vastgesteld. Een tweede reden kan zijn dat de fokkers hun pups niet altijd kunnen blijven opvolgen omdat de honden bij nieuwe eigenaars terechtkomen.

Daarnaast gaven fokkers, ongeacht hun lidmaat-

schap bij de Cavalierclub, aan dat MKD de meest voorkomende aandoening is. Omwille van de hoge prevalentie van MKD bij CKCS werden reeds meerdere studies uitgevoerd naar de effecten van verschillende fokprotocollen in Zweden, Denemarken en het Verenigd Koninkrijk (Lundin en Kwart, 2010; Birkegård et al., 2016; Swift et al., 2017). Uit deze studies bleek dat het meest positieve effect gezien wordt wanneer het fokschema verplicht gevolgd moet worden door de fokkers.

Momenteel wordt door 13/15 fokkers al een fokprotocol gevolgd maar door het geringe aantal fokkers dat op deze enquête gereageerd heeft en door de variatie in de fokprotocollen die gebruikt worden door de fokkers, konden geen conclusies getrokken worden over het effect van de gebruikte fokprotocollen.

LIMITATIES

Gezien het beperkte aantal dierenartsen en fokkers die deze enquête hebben ingevuld en het feit dat mogelijk niet alle Belgische fokkers werden gecontacteerd, moeten de resultaten met enige voorzichtigheid geïnterpreteerd worden en zijn deze data mogelijk niet representatief voor de bredere populatie dierenartsen en fokkers.

CONCLUSIE

Uit de enquête bij de dierenartsen blijkt dat de meeste van hen hartauscultatie toepassen als eerste stap en ook echocardiografie aanraden wanneer een hartruis wordt vastgesteld. In de meerderheid van de fokprotocollen die de fokkers momenteel gebruiken, is echocardiografie inbegrepen. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de meeste fokkers bereid zijn een fokprotocol te volgen dat echocardiografie omvat. Prospectieve en/of grotere studies zijn nodig om deze bevindingen te bevestigen. De auteurs raden aan om een fokprotocol, zoals werd voorgesteld aan de dierenartsen en fokkers in de enquête, te verplichten voor alle fokkers van CKCS. Door de hoge erfelijkheid zou selectie tegen MKD bij de CKCS succesvol moeten zijn door middel van fokprotocollen. Hierbij moet wel opgelet worden dat de groep van mogelijke fokdieren niet te veel verkleind wordt. Dit zou er dan voor kunnen zorgen dat andere genetische aandoeningen bij de CKCS, zoals syringomyelie, de bovenhand nemen.

DANKWOORD

De auteurs willen graag Arnold Jacques, voorzitter van de Belgische Cavalierclub, en alle dierenartsen en fokkers die de enquête hebben ingevuld, bedanken.

LITERATUUR

- Bagardi, M., Bionda, A., Locatelli, C., Cortellari, M., Frattini, S., Negro, A., Crepaldi, P., Brambilla, P.G., (2020). Echocardiographic evaluation of the mitral valve in cavalier king charles spaniels. *Animals* 10, 1–15.
- Bionda, A., Cortellari, M., Bagardi, M., Frattini, S., Negro, A., Locatelli, C., Brambilla, P.G., Crepaldi, P., (2020). A genomic study of myxomatous mitral valve disease in cavalier king charles spaniels. *Animals* 10, 1–17.
- Birkegård, A.C., Reimann, M.J., Martinussen, T., Häggström, J., Pedersen, H.D., Olsen, L.H., (2016). Breeding restrictions decrease the prevalence of myxomatous mitral valve disease in Cavalier King Charles Spaniels over an 8- to 10-year period. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30, 63–68.
- Fox, P.R., (2012). Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. *Journal of Veterinary Cardiology* 14, 103–126.
- French, A.T., Ogden, R., Eland, C., Hemani, G., Pong-Wong, R., Corcoran, B., Summers, K.M., (2012). Genome-wide analysis of mitral valve disease in Cavalier King Charles Spaniels. *The Veterinary Journal* 193, 283–286.
- Häggström, J., Hansson, K., Kwart, C., Swenson, L., 1992. Chronic valvular disease in the cavalier King Charles spaniel in Sweden. *The Veterinary Record* 131, 549–553.
- Health (The Kennel Club). (z.d.) *Heart scheme for Cavalier King Charles Spaniels*. The Kennel Club. Geraadpleegd op 3 december 2022, van <https://www.thekennelclub.org.uk/health-and-dog-care/health/getting-started-with-health-testing-and-screening/heart-scheme-for-cavalier-king-charles-spaniels/>
- Keene, B.W., Atkins, C.E., Bonagura, J.D., Fox, P.R., Häggström, J., Fuentes, V.L., Oyama, M.A., Rush, J.E., Stepien, R., Uechi, M., (2019). ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33, 1127–1140.
- Lewis, T., Swift, S., Woolliams, J.A., Blott, S., (2011). Heritability of premature mitral valve disease in Cavalier King Charles spaniels. *The Veterinary Journal* 188, 73–76.
- Lundin, T., Kwart, C., 2010. Evaluation of the Swedish breeding program for cavalier King Charles spaniels. *Acta Veterinaria Scandinavica* 52, 2–7.
- Madsen, M.B., Olsen, L.H., Häggström, J., Höglund, K., Ljungvall, I., Falk, T., Wess, G., Stephenson, H., Dukes-McEwan, J., Chetboul, V., Gouni, V., Proschowsky, H.F., Cirera, S., Karlskov-Mortensen, P., Fredholm, M., (2011). Identification of 2 loci associated with development of myxomatous mitral valve disease in Cavalier King Charles Spaniels. *The Journal of heredity* 102, 62–67.
- Markby, G.R., Macrae, V.E., Corcoran, B.M., Summers, K.M., (2020). Comparative transcriptomic profiling of myxomatous mitral valve disease in the cavalier King Charles spaniel. *BMC Veterinary Research* 16, 1–14.
- O'Brien, M.J., Beijerink, N.J., Wade, C.M., (2021). Genetics of canine myxomatous mitral valve disease. *Animal Genetics* 52, 409–421.
- Pedersen, H.D., Häggström, J., Falk, T., Mow, T., Olsen, L.H., Iversen, L., Jensen, A.L., (1999). Auscultation in mild mitral regurgitation in dogs: observer variation, effects of physical maneuvers, and agreement with co-

lor Doppler echocardiography and phonocardiography. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 13, 56–64.

Swenson, L., Häggström, J., Kwart, C., Juneja, R.K., (1996). Relationship between parental cardiac status in Cavalier King Charles spaniels and prevalence and severity of chronic valvular disease in offspring. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 208, 2009–2012.

Swift, S., Baldin, A., Cripps, P., (2017). Degenerative valvular disease in the cavalier king Charles spaniel: results of the uk breed scheme 1991–2010. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31, 9–14.

https://www.vfc.vlaanderen/d_gezondheid/ (laatst bezocht

op 9 december 2022)

<https://www.thekennelclub.org.uk/health-and-dog-care/health/getting-started-with-health-testing-and-screening/heart-scheme-for-cavalier-king-charles-spaniels/> (laatst geraadpleegd op 9 december 2022)



© 2024 by the authors. Licensee Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, Ghent University, Belgium. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Uit het verleden

Op een paard

Een paard stond meer dan honderd jaar
te wachten voor de Horse Shoe Bar.
Daarin zat dokter J. van Dieren
De Slag bij Waterloo te vieren.
“Hij lust hem”, sprak de trouwe klepper
“die oude streptococconmepper.
Dit wordt beslist weer nachtwerk, net
als laatst, toen Leiden was ontzet.”

Trijntje Fop (Kees Stip, 1951)

Noot voor de Vlaamse lezers: Leiden ontzet (uit een langdurige belegering verlost) is een beruchte episode uit de opstand van de Nederlanden tegen de Spanjaarden in 1573-1574.

Luc Devriese

Keizersnede bij het rund: complicerende factoren

M. Van Aert

Voortijds Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde,
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

SAMENVATTING

In korte bewoordingen wordt een opsomming gegeven van de factoren die het uitvoeren van keizersneden bij runderen kunnen bemoeilijken. Ze worden onderverdeeld in zeven categorieën met als hoofdcomponenten: de dierenarts, de veehouder, de kalvende koe of vaars, het kalf, de verlosruimte, de baarmoeder en de complicaties tijdens de operatie zelf. Deze, voor wie het nooit meemaakte, misschien nogal saaie opsomming wordt voorafgegaan door het relaas van het meer dan bewogen verloop van een keizersnede bij een koe van het temperamentvolle Franse vleesras Blonde d'Aquitaine.

INLEIDING

De meeste keizersneden, die veelvuldig uitgevoerd worden bij vaarzen en koeien van het vleestype Belgisch Wit-Blauw (BWB), naar de Waalse origine ook Bleu-Blanc-Belge (BBB) genoemd, verlopen zonder veel problemen. Maar het kan ook anders. Dit zal duidelijk worden door het hieronder beschreven persoonlijk beleefde wedervaren met een dier van het Franse vleesras Blonde d'Aquitaine.

EEN WERKELIJK GECOMPLICEERDE KALVING

Op een zonnige zomerse middag (12.00u) vermoedt een hobby-vleesveekweker dat een recent aangekochte koe aan het kalven is. De koe, die voor de tweede keer gaat kalven, loopt op de weide samen met een twintigtal andere koeien en hun kalveren. De veehouder veronderstelt dat dit geen problemen zal opleveren, gezien het een koe betreft van het Franse vleesveeras Blonde d'Aquitaine, die normaal gesproken gemakkelijk, op natuurlijke wijze afkalven.

Na enige tijd te hebben afgewacht en er blijkbaar toch geen vooruitgang in het normale geboorteprocés te bespeuren is, vraagt de kweker hulp aan zijn bedrijfsdierenarts (13.30u). Die arriveert binnen de kortst mogelijke tijd (14.00u), bekijkt de toestand en luistert naar hetgeen gaande is. Ze besluiten om samen alle dieren in een ruime veldschuur binnen te jagen om de kalvende koe op die manier uit de kudde te kunnen afzonderen (14.30u), wat een behoorlijk stres-

serende situatie is voor koeien van dat ras.

Het lukt hen om de koe vast te zetten en een eerste onderzoek uit te voeren volgens de klassieke methode: vaginaal onderzoek, ontsluiting, ligging, levend of dood kalf, grootte van het kalf. Blijkt dat de koe goed ontsloten is, maar dat het kalf in achterste voorstelling ligt, ingeschat nogal een grote, levende vrucht. Een eerste proefextractie op het rechtstaande dier, om het kalf op een natuurlijke manier te doen geboren worden, lukt niet. Een tweede poging na gedwongen neerleggen van de koe lukt evenmin. Het gedwongen doen neerliggen van zo'n nerveuze Blonde d'Aquitaine koe is overigens geen sinecure (15.15u).

De twee proefextracties slagen niet omdat de vrucht te groot blijkt te zijn en een achterste voorstelling is natuurlijk nooit voordelig. De veehouder weet ook niet op welke manier deze koe de eerste maal heeft gekalfd, omdat hij ze recent heeft aangekocht. Besloten wordt dat een keizersnede zal worden toegepast om het dier te verlossen (15.45u).

De koe wordt met enige moeite in een geïmproviseerde behandelbox geplaatst en voorbereid voor de ingreep (16.15u). Na scheren, wassen en ontsmetten van het operatieveld blijkt dat de koe een litteken heeft van een vorige keizersnede. Bij het toepassen van de lokale verdoving en de kleine epidurale toont het geëxciteerde dier het ware temperament van dit Franse vleesveeras door vooruit en achteruit te drummen en te slaan met de achterpoten. Insnijden van de huid en hard littekenweefsel verloopt ook niet zonder slag of stoot, de baarmoederwand blijkt gedeeltelijk vergroeid met het peritoneum en het kalf ligt in de linkerhoorn van de baarmoeder. Na het losmaken van

de vergroeiingen en kantelen van de baarmoeder kan de curvatura major ingesneden worden ter hoogte van de kop en de voorpoten van het kalf.

Het levende kalf wordt uit de baarmoeder getrokken met de hulp van de veehouder en daarna wordt de baarmoeder gehecht met een gewijzigde cushion-hechting. Tijdens de controle op bloedingen van de losgemaakte vergroeiingen worden enkele bloedvaten zorgvuldig afgebonden, de dikke spierlagen en het littekenweefsel worden gehecht, de subcutis in afzonderlijke laag en tenslotte de huid (17.30).

Met veel moeite wordt anderhalve liter biestmelk uit de uier getrokken en aan het kalf gegeven met een sonde. Uiteindelijk wordt de koe losgemaakt en bij het kalf in een ingestrooide box gestoken. Blonde d'Aquitaine koeien hebben van nature uit een sterk ontwikkeld moederinstinct en zorgen goed voor hun pasgeboren kalf (direct aflikken en beschermen). Ze moeten eigenlijk zoveel mogelijk gerust gelaten worden, zowel voor, tijdens als na het kalven. In dit geval verliep deze kalving enigszins anders. Het gebeuren nam welgeteld vier uur in beslag. Het dagelijks brood wordt soms moeizaam verdiend.

We (de veehouder en de bedrijfsdierenarts) hebben ondertussen zelf een goede pint bier gedronken op de goede afloop van deze kalving, ondanks de complicaties. Eind goed al goed. Het was toen 18u: vier en een half uur na de oproep.

WORSTCASESCENARIO'S VAN KEIZERSNEDEN

Verschillende factoren kunnen zorgen voor complicaties tijdens het uitvoeren van een keizersnede bij koeien in praktijkomstandigheden. De oorzaak kan zowel gelegen zijn bij de te verlossen koe, het kalf, maar ook bij de veearts die de ingreep uitvoert, de boer, de omstandigheden en de plaats waar de operatie moet uitgevoerd worden, etc.

1. De veearts: ervaren/ niet ervaren, goed uitgeslapen of vermoeid, goed in conditie of ziekjes, "the day after the night before", andere muizenissen aan het hoofd, dag- of nachtwerk.

2. De veehouder: hobbyboer of ervaren BWB-kweker; geplande SC, met bijvoorbeeld temperatuurcontrole of ander geboortearm; onverwachte kalving of te laat in de gaten gekregen; alles op voorhand klaargezet of niets voorbereid; toevallige of trouwe klant.

3. De plaats of stal: goed ingerichte kalfstal, met degelijke verlichting en keizersnede box, of geen geschikte plaats; hygiënische (voldoende proper en warm water) of onhygiënische omstandigheden (bijvoorbeeld tussen de andere aangebonden koeien). Omgevingstemperatuur in de stal: te warm (> 30°C) of te koud, eventueel zelfs vriestemperaturen.

4. Het kalf: normaal kalf of abnormale vrucht (bijvoorbeeld schistosoma reflexum), dood of levend, à

terme of late abortus, normale ligging (voorste - voor), of niet (achterste - voor of stuitligging, teruggeslagen kop, éénling of tweelingdracht).

5. De kalfvende koe of vaars: vroeg in geboorteprocès: met nog min of meer gesloten cervix (geen contaminatie) en een soepele baarmoederwand, of laat in geboorteprocès met gecontraheerde baarmoederwand (minder gemakkelijk te manipuleren, veel meer contaminatie); rustig dier of nerveus en agressief; gezonde propere huid of erg schurftige, vuile, lange vachtharen, eerste of zoveelste keizersnede met littekenweefsel en vergroeiingen mogelijk.

6. De baarmoeder: vrucht in rechterhoorn, zoals meestal, of linkerhoorn (de baarmoeder moet dan gekanteld worden), torsie of geen torsie, wand nog soepel en relax of erg samengetrokken (bij lang aanslepende partus of late abortus), al of niet voorkomen van vergroeiingen aan het peritoneum, baarmoederwand intact of niet. Uitzonderlijk is baarmoederwand al geperforeerd. In gevallen waarbij de navelstreng rond de vrucht gedraaid ligt, ontstaat er oedeem in de placenta, doordat de navelstreng gedeeltelijk is afgeknel. De baarmoeder is dan één ronde gespannen bol die veel moeilijker te manipuleren is.

7. Tijdens de uitvoering van keizersnede: gemakkelijk of moeilijk uittillen van de vrucht uit de baarmoeder, afhankelijk van grootte en positie en al of niet persen van de koe tijdens de extractie. In het slechtste geval kan het plots persen aanleiding geven tot het afscheuren van Arteria uterina met zelfs doodbloeden tot gevolg. Ernstige bloedingen kunnen ontstaan door het afscheuren van karunkels of haakse inscheuringen (meestal door een te kleine insnede in baarmoederwand) en extreem grote vrucht. Verder nog: al of niet broze baarmoederwand (moeilijker te hechten), gecontamineerde uterusinhoud bij late abortus en/of dood kalf, rustig blijven recht staan of zich plots laten vallen, bijvoorbeeld bij het kantelen van de baarmoeder (drachtig in linkerhoorn of torsie). Meestal gebeurt dit bij jonge, relatief kleine BWB-vaarzen met een (te) grote vrucht.

SLOT

Het verloop van schijnbaar routineuze keizersneden bij runderen kan sterk variëren. Beeld je het volgende worstcasescenario in: kalving bij een nerveuze multipare koe die te vroeg kalft, waarbij het in feite om een late abortus gaat ten gevolge van een afgestorven vrucht omdat de navelstreng rond het kalf is gedraaid (zoals later blijkt), met een sterk gecontraheerde en gecontamineerde baarmoeder, waarvan de wand vergroeid is aan het peritoneum en de vrucht in de linkerbaarmoederhoorn ligt. Dat alles in een weinig comfortabele stal zonder keizersnedebox tijdens een regenachtige, stormachtige winternacht in de maand februari (druk kalfseizoen) met alleen de hulp van een slechtgezinde veehouder, die je anders nooit

belt, maar nu juist wel, omdat het voor zijn bedrijfsdierenarts niet mogelijk was om ‘snel’ ter plaatse te zijn. Veel succes!

Op voorhand kan men dus nooit inschatten hoe een “verlossing van een rund” zal verlopen. Dat hangt af van een aantal omstandigheden. Wat niet wegneemt dat het uitvoeren van een keizersnede bij een BWB-rund meestal zonder al te veel van de genoemde complicaties verloopt en het in België (ten onrechte) beschouwd wordt als een dagelijkse routineklus. Dat is het dus helemaal niet.

Voor meer wetenschappelijke info is er ook het werk ‘Complicaties van de keizersnede bij het rund’, door Peter Mijten (1994), destijds assistent van Prof. A. de Kruif. Verder onder meer een artikel van een auteurscollectief verschenen in het VDT en voluit lees-

baar via <https://openjournals.ugent.be/vdt/>, de website van dit tijdschrift: Lindenbergh, B., Kolkman, I., Laureyns, J., de Kruif, A., Opsomer, G., De Vliegheer, S. (2007). Indicaties voor en complicaties bij de keizersnede bij het rund. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 76, 81-90.

Verder ook nog ‘Late abortus en oedeem van de placenta door afsnoering van de navelstreng bij een koe’ door M. Van Aert et al. eveneens verschenen in het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 78, 261-265.



© 2024 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

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.

wormisc@pe

De wormtest voor uw dier



UNIVERSITEIT
GENT



www.wormiscope.be

Doelgericht ontwormen op basis van mestonderzoek

Effective deworming on the basis of fecal examination

E. Claerebout, P. Geldhof

Vakgroep Translationele Fysiologie, Infectiologie en Volksgezondheid, Labo Parasitologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

edwin.claerebout@ugent.be

INLEIDING

Worminfecties zijn nog steeds een van de meest voorkomende infectieziekten bij dieren. Traditioneel worden deze infecties onder controle gehouden door het gebruik van anthelminthica. Er is een breed assortiment ontwormingsmiddelen op de markt beschikbaar waarmee dieren in veel gevallen routinematig worden ontwormd. Het frequent gebruik van anthelminthica heeft echter ook nadelen, zoals de ontwikkeling van anthelminthicum-resistentie. Dit ontstaat wanneer wormen, door specifieke mutaties in hun genoom of door upregulatie van genen die coderen voor detoxificatie-eiwitten, niet langer gevoelig zijn voor een ontwormingsmiddel en een behandeling overleven. De resistentiegenen worden doorgegeven aan hun nakomelingen, waardoor na verloop van tijd het aantal resistente wormen in dergelijke mate is toegenomen dat het ontwormingsmiddel zijn activiteit verliest. Belangrijke risicofactoren voor de ontwikkeling van resistentie zijn het overmatige en frequente gebruik van dezelfde klasse van ontwormingsmiddel en foutieve dosering. Naast het probleem van resistentie is er ook een groeiende bezorgdheid omtrent het effect van anthelminthica op de omgeving. Een deel van het ontwormingsmiddel zal na de behandeling in de omgeving terecht komen, waar het een effect kan hebben op insecten en vrijlevende wormsoorten. Dit kan op termijn zorgen voor een afname in biodiversiteit en een verstoring van de ecologische balans in de bodem, de zogenaamde ecotoxiciteit.

Omwille van bovenstaande redenen klinkt er een steeds luider roep om de beschikbare ontwormingsmiddelen op een meer duurzame manier te gaan inzetten en enkel te gebruiken indien nodig. Hiermee evolueert men van het routinematig ontwormen van dieren naar een aanpak waarbij aan de hand van een risicoanalyse en/of mestonderzoek eerst bepaald wordt of een dier nood heeft aan een behandeling. Dit concept wordt hieronder verder besproken voor zowel paarden als honden en katten.

MESTONDERZOEK EN ONTWORMING BIJ PAARDEN

In het voorjaar gaan paarden terug op de weide om te grazen en worden hierbij onvermijdelijk blootgesteld aan worminfecties. De meest voorkomende wormsoorten bij grazende paarden zijn de spoelworm (*Parascaris equorum* of *P. univalens*, bij veulens), kleine strongyliden (Cyathostominae) en lintwormen (*Anoplocephala* spp.). Om problemen met deze infecties te vermijden, werden paarden jarenlang routinematig vier tot zes maal per jaar ontwormd volgens vaste schema's. Deze ontwormingschema's zijn specifiek gericht op de controle van de kleine strongyliden, die een hoge prevalentie hebben en een relatief korte levenscyclus, waardoor de infectiegraad op de weide snel kan toenemen. Bij deze ontwormingschema's is het interval tussen twee behandelingen gebaseerd op de "egg reappearance period" van de gebruikte anthelminthica. Dit is de periode tussen de behandeling en het terug verschijnen van strongylideneieren in de feces. Deze "egg reappearance period" bedraagt normaal vier à vijf weken voor de benzimidazoles en pyrantel, acht à tien weken voor ivermectine en twaalf tot zestien weken voor moxidectine (Nielsen, 2022). Ondertussen is bekend dat deze werkwijze het ontstaan van resistentie tegen ontwormingsmiddelen in de hand werkt. Benzimidazole-resistentie is bij kleine strongyliden wijd verspreid, terwijl ook resistentie tegen pyrantel regelmatig werd gerapporteerd (Nielsen, 2022). Er werd, ook in België, een verkorte "egg reappearance period" vastgesteld op bedrijven waar intensief ontwormd werd met macrocyclische lactones, zoals ivermectine en moxidectine (Geurden et al., 2014), wat onder andere kan wijzen op beginnende resistentie.

Om de ontwikkeling van anthelminthicum-resistentie te vertragen, wordt het best een voldoende grote *refugia* behouden. De *refugia* is het deel van de wormpopulatie dat niet onder selectiedruk staat, met

Tabel 1. Gehanteerde waarden bij mengstalen.

| Mengmonsters | |
|-----------------|---|
| EPG > 200 | Groep dient ontwormd te worden |
| 100 < EPG < 200 | Hoog-risicoweide: ontwormen Laag-risicoweide: nog niet ontwormen |
| EPG < 100 | Groep hoeft niet ontwormd te worden |

Tabel 2. Grenswaarden voor ontworming van individuele paarden.

| Individuele meststalen | |
|------------------------|---|
| EPG > 500 | Paard dient ontwormd te worden |
| 200 ≤ EPG ≤ 500 | Hoog-risicoweide: ontwormen Laag-risicoweide: nog niet ontwormen |
| EPG < 200 | Paard hoeft nog niet ontwormd te worden |

name de wormen op de weide en in niet-behandelde dieren. Door een duurzamer gebruik van anthelmintica blijft de *refugia* hoog en vermindert de selectiedruk op de wormpopulatie.

Duurzame wormpreventie is gebaseerd op weidebeheer en monitoring van de ei-uitscheiding, waarbij enkel paarden ontwormd worden die veel wormeieren uitscheiden en dus een infectierisico voor andere paarden vormen.

Verskillende maatregelen in het weidebeheer kunnen de weidebesmetting met infectieuze larven verminderen, waardoor minder frequent moet ontwormd worden. Standweiden met intensieve bezetting (meer dan drie paarden/ha) en de aanwezigheid van jongere dieren vormen een groter risico (hoog-risicoweide) dan extensief begraaide weiden (minder dan drie paarden/ha) zonder jonge dieren, (laag-risicoweide). Het verwijderen van de mest (één of twee keer per week) helpt om de kans op herbesmetting te verkleinen.

Monitoring van infecties gebeurt door mestonderzoek, waarbij het aantal eieren per gram mest geteld wordt (EPG). De EPG-waarde geeft een indicatie van de bijdrage van een paard (of groep paarden) tot de weidebesmetting en kan geïnterpreteerd worden aan de hand van Tabel 1 en 2. Bij gezonde paarden wordt aanbevolen om minstens viermaal per jaar mestonderzoek uit te voeren. De belangrijkste periode om dit te doen is de weideperiode. Loopt het paard het hele jaar door op de weide, dan kan men bijvoorbeeld een eerste onderzoek doen in maart/april, een tweede in juni, een derde in augustus en een vierde in oktober/november. Bij een kudde paarden van gelijkaardige leeftijd kan een mengmonster worden gebruikt, van maximum tien paarden van dezelfde leeftijdsgroep (veulens jonger dan één jaar, jaarlingen, jonge paarden tot drie jaar, volwassen paarden ouder dan drie jaar). Bij het overschrijden van de grenswaarden in

Tabel 1 wordt heel de kudde ontwormd.

Veel volwassen paarden scheiden echter consequent weinig of geen eieren uit. Het is niet zinvol deze paarden telkens opnieuw te ontwormen. Mestonderzoek met individuele mestmonsters kan aangeven welke paarden het meest bijdragen tot de weidebesmetting en dus moeten ontwormd worden. Door regelmatig individueel mestonderzoek uit te voeren, kunnen paarden die systematisch veel wormeieren uitscheiden, onderscheiden worden van de lage uitscheiders, die niet hoeven ontwormd te worden. In het geval van individuele meststalen wordt bijvoorbeeld het schema gehanteerd zoals weergegeven in Tabel 2 (www.parasietenwijzer.nl).

Kanttekeningen

- Wanneer paarden ontwormd worden, wordt het volgende mestonderzoek pas uitgevoerd op het einde van de “egg reappearance period” van het gebruikte anthelminticum.
- De grenswaarden zijn indicatief. Wanneer bijvoorbeeld de frequentie van monitoring (te) laag is, kunnen soms beter de grenswaarden voor hoog-risicoweiden gebruikt worden.
- Het bovenstaande advies van doelgericht ontwormen op basis van monitoring van de ei-uitscheiding is gericht op de preventie van kleine strongyliden bij volwassen paarden (Figuur 1). Na jarenlange toepassing van selectieve ontwormingen werden in sommige studies in Scandinavië terug *Strongylus vulgaris*-infecties opgemerkt (Nielsen et al., 2012). Het verdient aanbeveling om jaarlijks de aanwezigheid van *S. vulgaris* te onderzoeken aan de hand van copro-culturen.
- Voor de behandeling of preventie van andere worminfecties, zoals *Parascaris spp.* en *Anoplocephala*, kunnen bijkomende maatregelen nodig zijn.

MONITORING EN ONTWORMING BIJ HONDEN EN KATTEN

Worminfecties bij honden en katten worden voornamelijk gevonden bij jonge dieren, maar ook volwassen katten die geregeld buiten lopen of honden die gevoederd worden met rauw vlees of die niet aan de leiband uitgelaten worden lopen nog risico. Hoewel de meeste worminfecties asymptomatisch verlopen, kunnen zware infecties klachten veroorzaken, zoals diarree, verminderde groei of magere lichaamstoestand. Volwassen dieren vertonen vaak mildere tot geen klachten. De meest voorkomende worminfecties bij honden en katten zijn spoelwormen (*Toxocara canis* en *T. cati*) en lintwormen (*Dipylidium caninum*). Omdat geëmbryoneerde *Toxocara*-eieren jarenlang infectieus kunnen blijven in de omgeving en omdat deze eieren ook besmettelijk zijn voor de mens (zoönose), krijgen diereneigenaars courant het advies om hun dier meerdere keren per jaar routinematig te ontwormen.

Pups moeten vanaf twee weken leeftijd behandeld worden met een geschikt ontwormingsmiddel. De behandeling moet iedere twee weken herhaald worden tot twee weken na het spenen. Daarna dient maandelijks behandeld te worden tot de leeftijd van zes maanden. Omdat er bij kittens geen sprake is van een prenatale infectie (ze worden niet besmet in de baarmoeder) kan de behandeling gestart worden op de leeftijd van drie weken en herhaald op vijf en zeven weken tot twee weken na het spenen, vervolgens maandelijks tot de leeftijd van een half jaar (www.esccap.eu). Voor volwassen honden en katten is het ontwormingsadvies afhankelijk van de risicogroep waartoe ze behoren, op basis van hun voeding, leef-

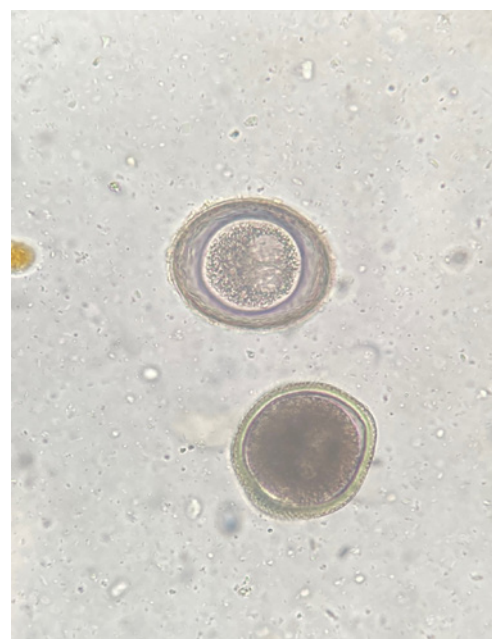
wijze en gedrag (ESCCAP Richtlijn 1. Wormbestrijding bij hond en kat, (www.esccap.eu/uploads/docs/60j1wtwx_1050_ESCCAP_GL1_NL_v6_1p.pdf). Er wordt geadviseerd om minimaal vier keer per jaar te ontwormen als honden of katten behoren tot de gemiddelde risicogroep.

Onderzoek heeft echter aangetoond dat op deze manier heel wat dieren onnodig behandeld worden, terwijl andere dieren frequenter zouden moeten ontwormd worden. In Europa, ook in België en Nederland, is de *Toxocara*-prevalentie bij huishonden ongeveer 5% (Claerebout et al., 2009; Nijssse et al., 2015, 2016). Slechts een kleine minderheid van de honden scheidt herhaaldelijk opnieuw wormeieren uit (Nijssse et al., 2016). Gericht ontwormen van deze doelgroep kan een goed alternatief zijn voor het blind ontwormen van (vaak negatief testende) dieren (Nijssse et al., 2016). Een alternatief voor het routinematig ontwormen is daarom het regelmatig onderzoeken van de ontlasting, om zo gericht te kunnen behandelen. Hoe vaak een onderzoek van de ontlasting moet uitgevoerd worden, hangt af van de leeftijd en de leefomgeving van de hond of kat (zie hoger). Wanneer parasieten aangetoond worden in het mestonderzoek kan vervolgens gericht behandeld worden in samenspraak met de dierenarts.

Hierbij moet vermeld worden dat het routinematig opvolgen van de ei-uitscheiding in de ontlasting (of het regelmatig ontwormen) gericht is op de preventie van spoelworminfecties (*Toxocara* en *Toxascaris*) (Figuur 2). Andere intestinale worminfecties worden hierbij ook gedetecteerd (bijvoorbeeld *Trichuris*), maar voor het aantonen van hart- en longwormen is andere diagnostiek vereist. Deze parasieten vallen buiten de scope van het routine-ontlastingsonderzoek.



Figuur 1. Strongylideneieren aanwezig in de mest van een paard.



Figuur 2. *Toxascaris*- en *Toxocara*-eieren aangetroffen in de ontlasting van een hond.

REFERENTIES

- Claerebout E., Casaert S., Dalemans A.-C., De Wilde N., Levecke B., Vercruyse J., Geurden T., 2009. *Giardia* and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium. *Veterinary Parasitology* 161, 41-46.
- Geurden T., van Doorn D., Claerebout E., Kooyman F., De Keersmaecker S., Vercruyse J., Besognet B., Vanimisetti B., Traversa D., 2014. Decreased egg re-appearance period after treatment with ivermectin and moxidectin in horses in Belgium, Italy and the Netherlands. *Veterinary Parasitology* 204, 291-296.
- Nielsen M., (2022). Anthelmintic resistance in equine nematodes: Current status and emerging trends. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 20, 76-88.
- Nielsen M.K., Vidyashankar A.N., Olsen S.N., Monrad J., Thamsborg S.M., (2012). *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms - Is it reemerging? *Veterinary Parasitology* 189, 260-266.
- Nijsse R., Ploeger H.W., Wagenaar J.A., Mughini-Gras L. *Toxocara canis* in household dogs: prevalence, risk factors and owners' attitude towards deworming. *Parasitology Research* 114 (2), 561-569.
- Nijsse R., Mughini-Gras L., Wagenaar J.A., Ploeger H.W. (2016). Recurrent patent infections with *Toxocara canis* in household dogs older than six months: a prospective study. *Parasites and Vectors* 4 (1), 531.



© 2024 by the authors. Licensee Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, Ghent University, Belgium. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Uit de faculteit

Het Laboratorium voor Parasitologie

Het Laboratorium voor Parasitologie van de Faculteit Diergeneeskunde verricht onderzoek naar duurzame controle van parasitaire infecties bij huisdieren en bij de mens. Centraal hierbij is het gebruik van diagnostica en “decision support tools” voor een doelgericht gebruik van antiparasitaire middelen en de ontwikkeling van alternatieve controlemiddelen, zoals vaccins. Naast dit onderzoek biedt het labo een diagnostische dienstverlening aan voor dierenartsen en eigenaars. Wormiscope (www.wormiscope.be) is bedoeld voor routine monitoring van courante worminfecties bij paarden, honden en katten.

Daarnaast worden ook minder frequente analyses uitgevoerd (bijvoorbeeld longwormen, *Giardia*, *Cryptosporidium*) bij uiteenlopende diersoorten. Dierenartsen kunnen ons ook steeds bereiken (telefonisch of e-mail) voor advies over diagnose, behandeling en/of controle van parasitaire infecties bij huisdieren.

In het artikel onder de rubriek ‘Permanente vorming’ wordt bondig toegelicht waarom routinematig opvolgen van worminfecties bij paarden en kleine huisdieren van belang is en hoe dit in zijn werk gaat.

AFDWINGBAARHEID CLAUSULES IN AANKOOPCONTRACTEN VAN RASHONDEN

VRAAG

“Bij aankoop van een rashond is er een clause opgenomen in het aankoopcontract die de huidige eigenaar verplicht om het dier (mannelijk) te laten castreren vóór de leeftijd van één jaar op straf van een ‘boete’ bij het niet laten uitvoeren hiervan. Verder moet de eigenaar hiervan een attest afleveren aan de fokker. Is dit wel afdwingbaar: ‘verkocht is verkocht’? Hoewel er geen medische indicatie is om de ingreep uit te voeren zou deze toch uitgevoerd moeten worden?”

ANTWOORD

De verkoop van honden is vaak een lucratieve aanleg. Bij verkopers van honden met stambomen (“rashonden”) gebeurt het wel eens dat er twee soorten prijzen gehanteerd worden: prijzen voor zogenaamde kweekdieren en prijzen voor dieren waarmee niet mag gekweekt worden. Bij de tweede categorie zijn er verkopers die inderdaad contractuele bepalingen opnemen die bepaalde plichten leggen bij de kopers die verder gaan dan strikte welzijnsvereisten. Een klassiek voorbeeld is de plicht om tot sterilisatie of castratie over te gaan op straffe van een contractueel opgenomen schadevergoeding. In drie relatief recente rechterlijke uitspraken is echter bepaald dat hondenkwekers die enige omzet halen uit hun activiteiten, ondernemingen zijn in de zin van het Wetboek Economisch Recht (WER). Het gaat om een vonnis van de vrederechter van Geldenaken (Jodoigne) van 16 maart 2021, van de rechtbank van eerste aanleg van Waals-Brabant van 11 januari 2023 en van het vredegerecht van Genk van 17 januari 2023.

Welnu, het Wetboek Economisch Recht voorziet (ook) in consumentenbescherming: contractueel bepaalde schadevergoedingen zijn niet afdwingbaar indien zij slechts bedongen zijn voor het geval de consument in gebreke blijft en niet voor het geval de verkoper contractuele tekortkomingen begaat. In dit geval zou de clause aldus geen uitwerking kunnen vinden op grond van de leer van onrechtmatige bedingen. Verder komt een dergelijke castratieplicht ook neer

op een beding dat vanuit mededingingsrechterlijke hoek bedenkelijk is. De motivatie zou namelijk concurrentie vermijden kunnen zijn. Kortom: er zijn goede redenen om het contractuele gebod naast zich neer te leggen. De verkoper kan echter doorzetten en de zaak voorleggen aan de rechter (wellicht aan de vrederechter). Het is deze rechter die er dan zal moeten van overtuigd worden dat het om een onrechtmatig beding gaat, in strijd met de consumentenbeschermende wetgeving. Als tweede waarschuwing geven wij nog mee dat de hierboven uitgewerkte analyse slechts geldig is wanneer het dier gekocht is door een consument. Is dat niet het geval, dan is de consumentenbeschermende wetgeving niet van toepassing. Het mededingingsrecht is echter wel altijd van tel wanneer het om kweekactiviteiten gaat die het louter hobbymatige overstijgen. De recente uitspraken van de vrederechters van onder andere Geldenaken en Genk geven echter wel aan dat rechters eerder snel aanvaarden dat bepaalde kwekers moeten beschouwd worden als ondernemingen in de zin van het WER. Als de omzet per jaar 10.000 euro overstijgt, lijkt de consensus nu te zijn dat het om een ondernemingsactiviteit gaat.

Anderzijds bestaan er heel wat hondenkwekers die net van de kopers van hun puppy's eisen dat deze zeker niet gesteriliseerd of gecastreerd worden omwille van door hen gepercipieerde negatieve gevolgen, vaak tegen het advies in van de dierenarts (en behalve bij gegronde medische noodzaak). Indien toch gecastreerd of gesteriliseerd wordt, verbreken ze alle contacten met de nieuwe eigenaars.

Ook vanuit diergezondheidsperspectief kan geopperd worden dat een verplichte castratie/sterilisatie leidt tot een verkleining van de genenpoel wat, gezien er bij vele rassen net een probleem bestaat van inteelt, niet wenselijk is.

Meester A. Godfroid, Fidelitas advocaten,
Prof. dr. S. De Vliegheer,
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Wij hebben jou in 't oog. Jij ons?

www.mediaservice.be



© SHUTTERSTOCK 127745M100133

Mediaservice  
gericht adverteren

ONDERZOEK NAAR POST-TRAUMATISCHE STRESS BIJ HONDEN

Beste dierenarts,

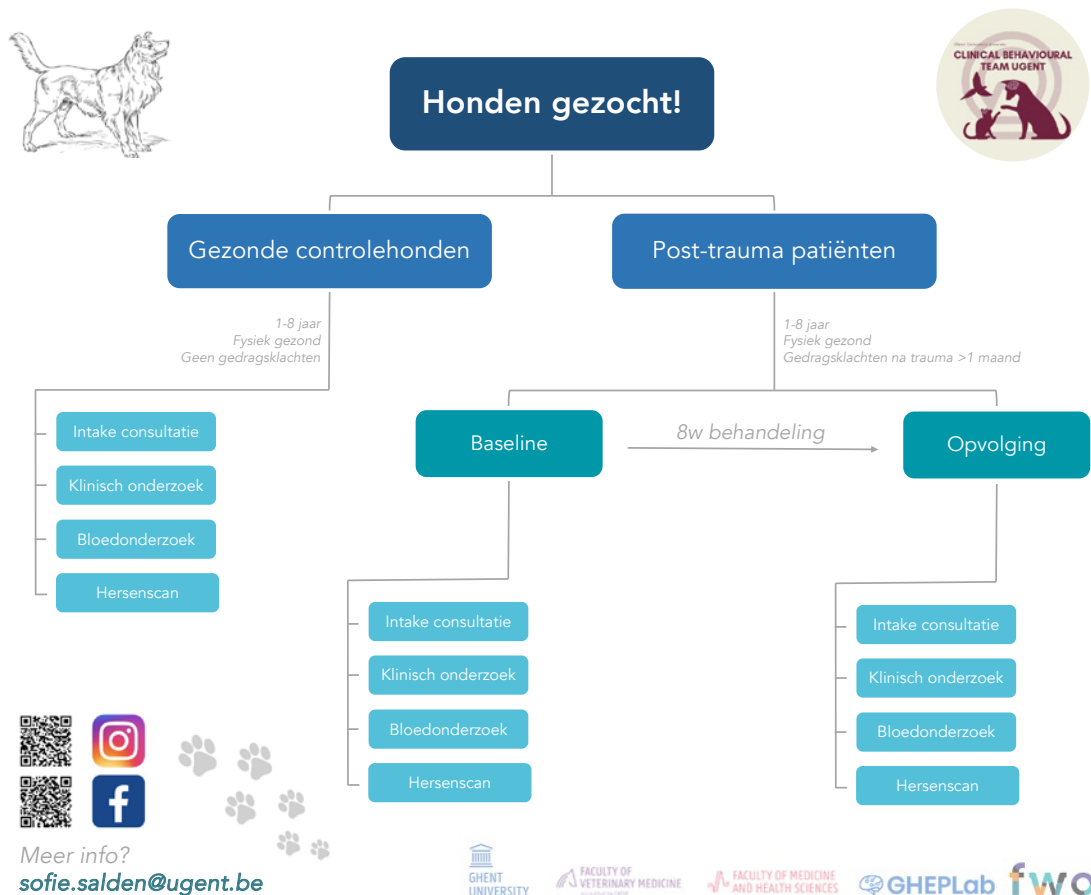
Voor een **nieuw onderzoek** van de **universiteit Gent** zoeken wij honden die sinds een duidelijk afgebakende, traumatische gebeurtenis ernstige gedragsveranderingen vertonen. Het doel van dit onderzoek is om **gedragsstoornissen bij honden na een traumatische gebeurtenis te onderzoeken** en de **effecten van behandeling** op deze stoornis beter te begrijpen. Dit onderzoek wordt georganiseerd vanuit het Clinical Behavioural Team van de Faculteit Diergeneeskunde onder begeleiding van Prof. dr. Anouck Haverbeke, Prof. dr. Chris Baeken, dr. Kathelijne Peremans en Prof. dr. Jimmy Saunders.

Heeft **een van jouw patiënten** duidelijke en ernstige gedragsveranderingen sinds een traumatisch evenement? Is dit gedrag al **langer bezig dan één maand** en nog steeds niet opgelost? Is de hond **tussen één en de acht jaar** oud, **fysiek gezond** en vrij van onderliggende medische ziekten? Dan kan jouw patiënt waarschijnlijk meedoen aan het onderzoek.

In ruil voor de deelname bieden wij een **GRATIS gedragsconsultatie, bloedonderzoek, hersenscan en behandelplan** aan (zie Figuur). Hierdoor krijgen zowel dierenarts als eigenaar waardevolle inzichten in het gedrag en de gezondheid van de hond en wordt een persoonlijke behandeling voorgeschreven. Bovendien draag je bij tot het vergroten van onze kennis over post-traumatische stress bij honden, wat kan leiden tot betere behandelingen en ondersteuning voor andere getraumatiseerde honden.

Maar we hebben ook jouw hulp nodig als je patiënten niet aan het profiel voldoen. We zijn ook op zoek naar **gezonde controlehonden** voor deze studie (zie Figuur). Dus als je geen patiënten hebt die in aanmerking komen voor deelname als post-traumatische hond, kun je nog steeds een waardevolle bijdrage leveren tot het onderzoek. Aarzel niet om **potentiële kandidaten uit je praktijk te recruter** en aan te sporen contact met ons op te nemen.

Voor meer info, contacteer socie.salden@ugent.be. Op verzoek kunnen ook **flyers of brochures** worden doorgemaild of opgestuurd die je in je praktijk kan verdelen.





Sint Truidersteenweg 193
3700 Tongeren
info@savab.be

Nederlandstalige versie van FECAVA Basic Practices in Endocrinology: Hypoadrenocorticism



FECAVA publiceerde de Nederlandstalige versie van hun overzicht in de behandeling van caniene hypoadrenocorticisme.

Het document werd opgesteld in samenwerking met Dr. Federico Fracassi van de Universiteit van Bologna en Dr. Hans Kooistra van de Universiteit van Utrecht.

Het geeft je een compleet overzicht van de therapie bij honden met Addison zodat je weer perfect weet hoe je een behandeling opstart en hoe je deze opvolgt.

Nieuwe code der plichtenleer van kracht vanaf eind maart

De Nederlandstalige Gewestelijke Raad van de Orde der Dierenartsen (NGROD) publiceerde vandaag een nieuwe code der plichtenleer die van kracht is vanaf 31 maart 2024.

De belangrijkste wijzigingen situeren zich in een uiteenzetting van de modaliteiten van de wachtdienstregeling zodat dierenartsen als groep een continue zorg kunnen voorzien.

Daarnaast worden ook de diergeneeskundige structuren onder de loep genomen zodat ook deze modaliteiten aangepast worden aan de huidige tijd met de huidige diergeneeskundige mogelijkheden. Een overgangperiode van 5 jaar werd opgenomen zodat de huidige centra en klinieken tijd krijgen om zich aan te passen. Je kan de nieuwe code vinden op de website van de Orde.

CODE DER PLICHTENLEER

Editie 2024

NEDERLANDSTALIGE GEWESTELIJKE
RAAD VAN DE
ORDE DER DIERENARTSEN
(NGROD)

Onderzoek naar post-traumatische stress bij honden

Op de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent loopt er momenteel een onderzoek naar post-traumatische stress bij honden. Voor dit onderzoek wordt er gezocht naar zowel gezonde (controle) honden als aangetaste (post-trauma) honden.

Honden met een disfunctioneel gedrag na een afgebakend evenement komen in aanmerking voor dit onderzoek. De Faculteit heeft zowel flyers voor de gezonde als aangetaste honden ter beschikking.



Voorafgaand aan dit onderzoek zijn er vragenlijsten en video's die de mensen meenemen op het intakegesprek. Nadien worden een bloedonderzoek en hersenscan uitgevoerd. In ruil krijgen de patiënten een volledig behandelplan op maat voorgeschreven inclusief opvolging. De gezonde controlehonden krijgen uiteraard eeuwige dankbaarheid en helpen de wetenschap en hun soortgenoten met gedragsproblemen vooruit.

Contact en meer info: sofie.salden@ugent.be

Een amateur duivendokter aan het werk rond 1900

“De poliep en de ganglion zijn hoekachtige of afgeronde gezwellen, met of zonder inwendige aanklevingen. Zij worden door de keelkropkiem veroorzaakt en zijn diensvolgens ziekten van denzelfden aard. De tering kan ook tot deze ziekte aanleiding geven. Deze gezwellen groeien gewoonlijk aan den hals of den slokdarm van de vogels. Ze zijn hard, steken onder het vel uit en kunnen zoo rap vergrooten dat zij verstikking teweeg brengen.

Als het maar een begin van poliep 'n is, men zal de vogels den eersten dag laten vasten en tegen avond een *Wonderpil N° 1* toedienen; 's anderendaags, nuchter, voor de duiven een *Débutante pil* en voor de hoenders twee zulke pillen; rond den noen pap of wat klein graan. De drie volgende dagen, telkens 's morgens, een *Wonderpil N° 1*. Groeit de poliep of ganglion aan, men handelt als volgt: tegen avond een *Wonderpil N° 2*; 's anderendaags morgens, nuchter, een *Antidiphthérique of keelkroppil*; daarna nog drie dagen achtereen, 's uchtens een *Wonderpil N° 2*.

Indien het gezwel groot en hard geworden is, men doet de operatie als volgt. De beoefenaar zal, vóór dat hij de bewerking begint, goed zijn handen met zeep in warm water wasschen en het vliem of de bistouri ontsmetten, met het tuig in kokend water te leggen of inde vlammen te houden. Trekt voorzichtig de kleine pluimkes uit die er boven staan en wast de huid met *liqueur van Swieten* of *teinture d'iode*; snijdt daarna door 't vel en steekt met een vliem of een insnijmes in het gezwel. Is het hard en rijp en aan het vleesch niet vast, het zal er gemakkelijk uitkomen.

Wascht daarna de wonde schoon uit met een stukske watte, dat gedoopt werd in zuurstofhoudend water (*eau oxygénée*) met vijf deelen gekookt water uitgeland en naait de wonde toe met een naald en een zijden draad die voordien in *Coryzalikeur* of *Sublimé* gelegen heeft. Naait van binnen naar buiten en let wel op geen pluimen mede te naaien die het aaneengroeien zouden kunnen verhinderen.

Het voornaamste van dit werk is dus de twee lippen van het vel goed tegeneen te naaien en ze zoodanig te spannen dat er geen vloeistoffen door 'n kunnen. Na zulke operatiën is het altijd geraadzaam de vogels twee drie dagen lang niets anders te eten te geven dan brood dat in gekookt water en melk geweekt werd. Om te eindigen geeft men ze alle dagen nog een *Wonderpil N° 2* totdat zij wederom kloek en geestig zijn.”

Letterlijk overgenomen uit:

Sylvain Wittouck, 'De Hedendaagsche Duivenliefhebberij', Brugge, 1911.

Iedereen, iedere dag weer veilig thuis



De Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) vervult een cruciale rol in het waarborgen van veiligheid op toezichtlocaties, waar onze medewerkers zich inzetten voor dierenwelzijn en voedselveiligheid. Elke dag zijn we als organisatie bezig om te zorgen dat onze medewerkers aan het einde van de dag weer veilig thuishkomen. Hiervoor heeft ieder operationeel team een Arbo-ambassadeur die samen met de leidinggevende aandacht vraagt voor de veiligheid binnen de werkplekken van het team. Naast haar werk als dierenarts, is collega Brigitte Barelds één van de Arbo-ambassadeurs. Samen met Projectleider Arbo Henk van de Kemp vertelt ze over de veiligheid op toezichtlocaties.

Samenwerking en verantwoordelijkheid

Brigitte opent het gesprek. 'Hoewel de Nederlandse Arbeidsinspectie toezicht houdt op algemene veiligheid, heeft de NVWA een werkgeversverantwoordelijkheid ten opzichte van haar eigen medewerkers. De focus ligt op het bewust maken van medewerkers van de veiligheidsrisico's, zowel op hun werkplek als tijdens inspecties elders. Ook informeren we hoe ze moeten omgaan met deze risico's.' Dit gebeurt onder andere door het uitvoeren van Risico-Inventarisatie en -Evaluatie (RI&E) en het voeren van open dialogen over werk en gerelateerde gevaren.

De algemene risico's zijn geïnventariseerd in de RI&E. Henk: 'Op alle locaties waar permanent toezicht wordt gehouden, worden veiligheidsrondes gelopen. Hier kan uitkomen dat onze medewerkers bijvoorbeeld de persoonlijke beschermingsmiddelen niet goed dragen of dat we gaan vragen aan het bedrijf om iets aan de vloer te gaan doen, omdat deze glad is.'

Bewust omgaan met veiligheid

Over bewustwording zegt Henk het volgende: 'Medewerkers worden aangemoedigd om actief bij te dragen aan hun eigen veiligheid door gevaarlijke situaties te melden en zich bewust te zijn van hun eigen handelingen. Daarnaast wordt er van de medewerkers verwacht dat ze zelf ook zorgen dat ze veilig hun werk kunnen doen. Door bijvoorbeeld gevaarlijke situaties te melden, want alleen dan kunnen we acties ondernemen.' Ook wordt er verwacht dat onze medewerkers zichzelf niet onnodig in gevaarlijke omstandigheden brengen, zoals bij het keuren van paarden.

Hierbij worden afspraken gemaakt om zowel het dier als de medewerkers in een veilige omgeving te laten werken.

Brigitte: 'De belangrijkste aspecten van veiligheid in de toezichtlocaties zijn bewustwording van ons eigen personeel en van het bedrijf. Veel medewerkers worden al jaren blootgesteld aan de risico's en zien dit als normaal, terwijl er wel degelijk iets van de omstandigheden is te vinden en te verbeteren. Daarnaast ben je als dierenarts opgeleid om het dierenwelzijn te verbeteren en dieren niet onnodig te laten lijden. Daarbij het lastig is om altijd op je eigen veiligheid te letten, want je eerste reactie is om in te grijpen. Door hierover binnen je team in gesprek te gaan, zien we steeds vaker dat die bewustwording vanzelf wordt gecreëerd.'

Protocollen voor algemene veiligheid

Veiligheid van dieren staat centraal in het dagelijks toezicht. De NVWA handhaaft hierop door middel van bestuursrechtelijke maatregelen als bedrijven nalatig zijn. Henk vertelt over de investering die de organisatie hierin heeft gemaakt. 'De afgelopen twee jaar heeft de NVWA geïnvesteerd in een veiligheidsstructuur, met Arbo-ambassadeurs binnen elk operationeel team. Deze ambassadeurs dragen bij aan bewustwording door veiligheidsrondes te lopen en voorlichting te geven, zoals bijvoorbeeld over gehoorbescherming in lawaaiige omgevingen.'

Brigitte: 'Intensief overleg met Arbo-afgevaardigden vanuit de branche helpt de NVWA en bedrijven gezamenlijke doelen te stellen en veiligheidskwesties aan te pakken. Specifieke risico's worden tijdens bedrijfsoverleg besproken, waarbij Arbo-ambassadeurs een ondersteunende rol spelen. Zo hebben we gezamenlijk afspraken gemaakt hoe we de warme dagen voorkomen in een slachterij. De combinatie van warmte en hoge luchtvochtigheid zorgt voor een hoge gevoelstemperatuur. In combinatie met een hoge luchtvochtigheid wordt het werken in de slachterij erg onaangenaam en in sommige situaties zelfs gevaarlijk.'

De NVWA benadrukt haar toewijding aan veiligheid op toezichtlocaties, met een focus op bewustwording, samenwerking met bedrijven, implementatie van protocollen, en continue training en evaluatie van risico's. Iedereen moet veilig kunnen werken en we maken ons iedere dag hard voor het welzijn van alle dieren op alle locaties.



X-Ray VERACHTERT Digital nv

Specialist medische beeldvorming sinds 1979 - RX - CR - DR - CT

new

Alles voor uw Dentale RX



SMART MICRO ST 



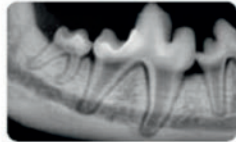
Dentale Digitale Ontwikkeling:

- Beschikbaar in CR systeem of DR sensor
- Veterinaire software
- Dicom In - Dicom Uit
- Eenvoudige USB aansluiting - Beeld na enkele seconden
- Interessante prijs

new



- 360° draaibaar
- RX Buis met Focus 0.3mm
- 60 tot 70kV
- Draadloze bediening
- Mobiele voet of Muurmontage
- Zeer scherpe prijs



new life radiology

VetiX S300 iFast + iVocal + iSolo



Ontdek nu het nieuwste van **Mindray Animal Care** !

Ervaar de revolutie van volledig geïntegreerde directe digitale systemen.
Ontdek onze uitgebreide reeks modellen en geniet van topkwaliteit tegen een onverslaanbare prijs.



mindray
animal care

X-Ray Verachttert Digital nv
Bisschoppenhoflaan 662
2100 Deurne - Belgium

phone : +32 (0)3 239 05 79
fax : +32 (0)3 218 50 61

mail : info@xrayverachttert.be
web : www.xrayverachttert.be