

# Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

 **FACULTEIT  
DIERGENEESKUNDE**  
accredited by EAEVE

MEI - JUNI 2024

VOL. 93 - NR 3

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



- Proefbuisveulen geboren aan de Faculteit: Europese primeur
- Nieuwe beslissingsboom voor sepsis bij veulens
- Ketamine-xylazine-buprenorfine en ketamine-xylazine-nalbufine bij castratie van konijnen
- Sarcoom in de conjunctiva bij een hond
  - Duurzaamheid in de operatiezaal
- Sceptische peritonitis bij hond en kat
  - Klassieke varkenspest in België



# Wij hebben jou in 't oog. Jij ons?

[www.mediaservice.be](http://www.mediaservice.be)



© SHUTTERSTOCK 127745M100133

**Mediaservice**    
gericht adverteren

### INHOUD

Retrospectieve studie	Retrospective study
115 K. BROOTHAERS, D. CASTELAIN, B. PARDON Ontwikkeling van een nieuwe beslissingsboom voor sepsis bij veulens om antibioticagebruik te rationaliseren	K. BROOTHAERS, D. CASTELAIN, B. PARDON Development of a new decision tree for sepsis in foals to rationalize the use of antibiotics
Comparatieve studie	Comparative study
123 F. UR REHMAN, SHAHERYAR, H. BIN RASHID, A. QADIR, S. USMAN, S. RAFI, Z. ULLAH, K. AHMAD, A. HUSSAIN, M. ALI KHALIQUE, A. AZIZ, M. AWAIS, M. ASIF Comparatieve studie naar de efficiëntie van ketamine-xylazine-buprenorfine en ketamine-xylazine-nalbufine bij castratie van konijnen	F. UR REHMAN, SHAHERYAR, H. BIN RASHID, A. QADIR, S. USMAN, S. RAFI, Z. ULLAH, K. AHMAD, A. HUSSAIN, M. ALI KHALIQUE, A. AZIZ, M. AWAIS, M. ASIF Comparative study on the efficacy of ketamine-xylazine-buprenorphine and ketamine-xylazine-nalbuphine in rabbits undergoing castration
Casuïstieken	Case reports
131 M. PAPAS, J. GOVAERE, S. PEERE, I. GERITS, E. VAN DEN BRANDEN, A. FERNÁNDEZ-MONTORO, T. DE COSTER, M. HEDIA, D. ANGEL-VELEZ, A. VAN SOOM, K. SMITS Ontwikkeling van de eerste equine blastocyst geproduceerd door conventionele IVF en in-vitrocultuur in Europa resulterend in de geboorte van een veulen	M. PAPAS, J. GOVAERE, S. PEERE, I. GERITS, E. VAN DEN BRANDEN, A. FERNÁNDEZ-MONTORO, T. DE COSTER, M. HEDIA, D. ANGEL-VELEZ, A. VAN SOOM, K. SMITS Development of the first equine blastocyst produced by conventional IVF and in vitro culture in Europe resulting in the birth of a foal
136 N. AVCI, F. GUMUS, B. BOZTOK OZGERMEN, O. YAVUZ Histiocytair sarcoom in de palpebrale conjunctiva bij een jonge hond	N. AVCI, F. GUMUS, B. BOZTOK OZGERMEN, O. YAVUZ Histiocytic sarcoma complex in the palpebral conjunctiva in a dog
Voor en uit de praktijk	In practice
140 T. HAVERKORT, H. HAARDT, A. MARTENS Duurzaamheid in de operatiezaal: waar staan Vlaamse dierenartsen in het scheiden van afval en het hergebruik van materiaal?	T. HAVERKORT, H. HAARDT, A. MARTENS Sustainability in the surgery room: attitude and practices of Flemish veterinarians regarding waste sorting and reuse of material
Permanente vorming	Continuing education
151 D. CASTELAIN, D. PAEPE, M. DOOM, M. DEKKERS, H. DE ROOSTER Septische peritonitis bij hond en kat – Deel 1: Classificatie, klinisch onderzoek en diagnostiek	D. CASTELAIN, D. PAEPE, M. DOOM, M. DEKKERS, H. DE ROOSTER Septic peritonitis in dogs and cats – Part 1: Classification, clinical examinations and diagnostics
Uit het verleden	From the past
159 F. CASTRYCK Klassieke varkenspest in België (1921-2015)	F. CASTRYCK Classical swine fever in Belgium (1921-2015)
164 <b>Uit de faculteit</b>	
168 <b>SAVAB-nieuws</b>	

### Cover: Marion Papas (Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University)

Conventional in vitro fertilization (IVF) has always been a real challenge in equine reproduction. Unlike other species, horses have proven particularly resistant to this technique due to the failure of in vitro sperm capacitation. After three decades of relentless research, scientists at the University of Pennsylvania have finally developed an effective protocol for processing equine sperm in vitro, enabling successful fertilization in the laboratory. This breakthrough represents a major step forward in the science of equine reproduction. The successful application of this technique at Ghent University led to the birth of a colt named *PIVFI Dracarys Di08*. Remarkably, this foal is the first to be born from a blastocyst produced by conventional IVF in Europe. The implications of this success are significant, opening up new possibilities for genetic preservation, selective breeding and general advances in equine reproductive medicine. This development not only opens new doors for horse breeders, but also paves the way for further innovations in this field.

Text: Marion Papas

**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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto: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/>



## Ontwikkeling van een nieuwe beslissingsboom voor sepsis bij veulens om antibioticagebruik te rationaliseren

*Development of a new decision tree for sepsis in foals to rationalize the use of antibiotics*

K. Broothaers, D. Castelain, B. Pardon

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

Klaartje.broothaers@ugent.be

### SAMENVATTING

Sepsis is een veelvoorkomende, levensbedreigende aandoening bij neonatale veulens, waarvoor frequent kritisch belangrijke antimicrobiële middelen worden ingezet wegens onder andere beperkte diagnosemogelijkheden. Het doel van deze studie was het ontwikkelen van een predictiemodel voor sepsis in de vorm van een beslissingsboom en dit bij veulens tot en met zeven dagen oud enerzijds en tot en met zestig dagen oud anderzijds. Een dergelijke tool zou mogelijk dierenartsen kunnen ondersteunen bij hun beslissing tot het al dan niet inzetten van kritisch belangrijke antibiotica. Een retrospectieve cohortstudie met een populatie van 299 zieke veulens gehospitaliseerd in de paardenkliniek van de Faculteit Diergeneeskunde (UGent) tussen 2013 en 2021 werd uitgevoerd om de klinische, hematologische en biochemische parameters te evalueren voor hun associatie met sepsis. Er werd een beslissingsboom ontwikkeld enerzijds voor veulens van zeven dagen oud of jonger (n=216) en anderzijds voor dieren van zestig dagen oud of jonger (n=299). De significante parameters voor veulens  $\leq 7$  dagen waren ureum, neutrofielenpercentage, totaal bilirubine, kalium, afwezige zuigreflex, glucose, suf/zwak/lethargie en gewicht. Voor veulens  $\leq 60$  dagen waren dit neutrofielenpercentage, ureum, glucose en totaal bilirubine. Sensitiviteit, specificiteit en accuraatheid waren respectievelijk 62,7%, 85,6% en 74,6% voor veulens  $\leq 7$  dagen. Voor veulens  $\leq 60$  dagen waren de waarden voor sensitiviteit 53,2%, specificiteit 84,6% en accuraatheid 71,0%. Hoewel de bekomen beslissingsbomen potentieel hebben om dieren met sepsis te detecteren, is de sensitiviteit te laag om hun gebruik als enige beslissingstool aangaande de rationalisering van antibioticumgebruik te verantwoorden.

### ABSTRACT

Sepsis is a common, life threatening disease in neonatal foals, for which, partly due to limited diagnostic options, critically important antimicrobials are frequently used. The aim of this study was to develop a prediction model for sepsis, based on decision tree analysis, both for foals of seven days old and younger, and foals of sixty days old and younger. Such a decision support tool holds potential to support veterinarians in their decision making process to use critically important antimicrobials. A retrospective cohort study on a population of 299 sick foals hospitalized at the Faculty of Veterinary Medicine (Ghent University) between 2013 and 2021, was conducted to evaluate clinical, hematological and biochemical parameters for their association with sepsis. Two decision trees were developed, one for foals  $\leq 7$  days (n=216) and one for foals  $\leq 60$  days old (n=299). The significant parameters for foals  $\leq 7$  days were urea, percentage of neutrophils, total bilirubin, potassium, absent suckling reflex, glucose, weakness/lethargy and weight. For foals  $\leq 60$  days old, these were percentage of neutrophils, urea, glucose and total bilirubin. Although the obtained decision trees show potential to detect sepsis in foals, the sensitivity rate was too low to justify their use as a single test to rationalize antimicrobial use.

## INLEIDING

Sepsis bij veulens is de belangrijkste oorzaak van sterfte bij neonaten tot en met de leeftijd van zeven dagen (Furr, 2003; Roy, 2004; Sheats, 2019; Taylor, 2015). Ondanks nieuwe wetenschappelijke inzichten en een toename van zorg en hygiëne bij veulens, blijft het risico om sepsis te ontwikkelen groot. Gemiddeld overleeft 60% van de septische veulens, met een range van 45% tot 81%, waarbij de overlevingskans groter is indien er een snelle diagnose wordt gesteld en de behandeling meteen wordt opgestart (Theelen et al., 2019; Hytychová en Bezděková, 2015; Taylor, 2015). Deze aandoening kan snel in negatieve zin evolueren en is zeer arbeidsintensief en duur voor eigenaar en dierenarts (Dunkel en Corley, 2015; Taylor, 2015). De overlevingskansen zijn groter in vergelijking met de jaren tachtig van de vorige eeuw (ongeveer 25% overlevingskans in 1980 versus 60% anno 2024), mede doordat er meer over de aandoening bekend is en de behandeling gericht en effectiever is (Wilkins, 2009; Marsh en Palmer, 2001; Paradis, 1994). Er is echter ook een negatieve evolutie op te merken. Zo is er een opkomst van grampositieve isolaten (20-27% in de jaren 1970 versus 30-36% in 2024) en worden er meer multiresistente bacteriën geïsoleerd bij septische veulens (Giancola en Hart, 2023; Theelen et al., 2014a; Marsh en Palmer, 2001). De meest voorkomende pathogenen die worden geïsoleerd bij sepsis zijn *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Actinobacillus* spp., *Klebsiella* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Stafylococcus* spp. en *Pasteurella multocida* (Castelain et al., 2023; Theelen et al., 2020; Magdesian, 2017; Marsh en Palmer, 2001;).

Wat de diagnostiek voor sepsis betreft, is het nemen van een bloedcultuur nog steeds de meest gebruikte techniek. Aangezien het 48 tot 72 uur duurt voor de resultaten beschikbaar zijn en omdat de sensitiviteit 66%-80% bedraagt, is het niet aan te raden te wachten op de resultaten voor zowel de diagnose als het instellen van de behandeling (Wong et al., 2018; Taylor, 2015; Furr, 2003). Ook werden er verschillende sepsisscoresystemen ontwikkeld die de waarschijnlijkheid van sepsis proberen te voorspellen op het moment van het aanbieden van de patiënt. Hiervan bestaan verschillende modellen, waarbij het originele systeem ontwikkeld werd in 1988 door Brewer en Koterba (Dunkel en Corley, 2015; Brewer en Koterba, 1988). Aan de hand van 14 klinische, hematologische en biochemische parameters wordt er een score toegekend aan het veulen. Indien deze score twaalf of meer bedraagt, wordt het veulen als septisch beschouwd (Furr, 2003). Dit sepsis-scoresysteem werd meermaals onder de loep genomen en er werd getracht een aangepast sepsis-scoresysteem te ontwikkelen om klinisch praktischer te kunnen werken. Er werden enkele factoren, waaronder metabole acidose en PaO<sub>2</sub>, geschrapt omdat ze in de praktijk niet altijd te

meten zijn en de “cut-off point” werd 11 in plaats van 12 (Wong et al., 2018; Weber et al., 2015; Corley en Furr, 2003). Toch zijn ook hierbij de sensitiviteit en specificiteit vaak teleurstellend door individuele verschillen. Zo waren deze niet 94% en 86%, zoals origineel bepaald werd, maar respectievelijk 56%-67% en 73%-76% (Dunkel en Corley, 2015; Weber et al., 2015; Brewer en Koterba, 1988).

De behandeling van sepsis bestaat enerzijds uit ondersteunende therapie, zoals het verzorgen van wonden, de thermoregulatie optimaliseren en het toedienen van vloeistoffen, plasma en zuurstof indien nodig (Theelen et al., 2019; Dunkel en Corley, 2015; Furr, 2003). Anderzijds is het nodig om zo snel mogelijk een antibioticakuur op te starten, bij voorkeur met intraveneuze, bactericide breedspectrumantibiotica (Magdesian, 2017). Alhoewel de eerste keuze een combinatietherapie is van ampicilline en amikacine, wordt er vaak gebruik gemaakt van een cefalosporine uit de derde generatie, meestal ceftiofur (Floyd et al., 2021; Theelen et al., 2019, 2014b; Bucca et al., 2011; Furr, 2003;). De effectiviteit is echter hoger bij een combinatietherapie van amikacine-ampicilline (91,5% ten opzichte van 86,3% bij een therapie met ceftiofur) (Theelen et al., 2019). Een groot nadeel van deze behandeling is dat dit intraveneus tot wel vier keer per dag moet worden gegeven, iets wat in de eerstelijnspraktijk moeilijk te realiseren valt (Theelen et al., 2019; Dunkel en Corley, 2015). Aangezien volgens de WHC de derdegeneratie-cefalosporines op de lijst staan van “kritisch belangrijke antibiotica met de hoogste prioriteit voor de mens”, zouden deze enkel gebruikt mogen worden indien er een vermoeden is van bacteriële infectie. Een klinisch onderzoek en staalname moeten worden uitgevoerd voordat het antibioticum toegediend wordt. Daarenboven moeten de antibiotica in lagere categorieën uitgesloten zijn, tenzij het gaat over een levensbedreigende situatie. De dierenarts moet hierbij besluiten dat een kritisch antibioticum de enige behandeling is die het leven van het dier kan redden (Art 67-69, KB 21 juli 2016 betreffende de voorwaarden voor het gebruik van geneesmiddelen door de dierenartsen en door de verantwoordelijken van de dieren, BS 07/29/2016, 46.569). Op 10 augustus 2023 werd er een gewijzigde versie van dit koninklijk besluit gepubliceerd, waarbij deze wetgeving niet enkel in de nutsdierensector geldt, maar ook van toepassing is voor paarden en gezelschapsdieren. Deze zal van kracht zijn vanaf 1 september 2024.

Om enerzijds het antibioticumgebruik te rationaliseren en overbodig gebruik van breedspectrum- of kritisch belangrijke antibiotica terug te dringen, en anderzijds de overlevingskansen van het veulen te maximaliseren, is er nood aan beslissingsondersteunende tools die op het moment van eerste aanbieding kunnen ingezet worden. Deze tools zouden een essentiële factor kunnen zijn om het antibioticumgebruik bij veulens te rationaliseren. Het doel van deze studie was

het ontwikkelen van een predictiemodel voor sepsis bij veulens  $\leq 7$  dagen en  $\leq 60$  dagen, aangeboden aan de Faculteit Diergeneeskunde (UGent), gebruik makend van een beslissingsboom, in de hoop een hogere sensitiviteit en specificiteit te verkrijgen dan de momenteel beschikbare sepsisscoremodellen.

## MATERIAAL EN METHODEN

Een retrospectieve cohortstudie werd opgesteld. Een totaal van 299 veulens van maximum zestig dagen oud met klinische tekenen van sepsis aangeboden tussen 2013 en 2021 op de dienst Inwendige Ziekten van de Grote Huisdieren van de Faculteit Diergeneeskunde (Universiteit Gent) werd ingesloten. De medische voorgeschiedenis, de klinische parameters, eerder gekregen medicatie, uitkomst van de bloedcultuur en de toegediende behandeling werden genoteerd en geanalyseerd voor alle veulens.

Van alle veulens werd op een steriele manier bloed genomen uit de vena jugularis of de vena cephalica op minstens twee verschillende plaatsen. De hals of het voorbeen werd ruim geschoren, geschrubd met chloorhexidineoplossing en ontsmet met alcohol. Met steriele handschoenen, een steriele naald en steriele spuit werd tien tot twintig milliliter bloed afgenomen. Eén tot drie milliliter bloed werd in een BD BACTEC Peds Plus/F™ (Becton, Dickinson and Company, Temse, België) geïnjecteerd. Deze stalen werden gecultiveerd en geanalyseerd in een BACTEC™-systeem. Wanneer de bloedcultuur positief was, werd het staal op een bloedagar geënt om deze te identificeren. Als er een bacterie werd geïsoleerd, werd er ook een antibiogram opgesteld aan de hand van de disk-diffusiemethode. De behandeling en prognose van de veulens lagen niet binnen het doel van deze studie, waardoor deze in het voorliggende onderzoek niet worden vermeld.

Aan de hand van de bloedcultuur in combinatie met het voorkomen van klinische tekenen werden twee groepen gemaakt: de septische en de niet-septische veulens. Een veulen werd in de populatie van septische veulens ingesloten als de BACTEC™ positief was en indien het dier klinische tekenen van sepsis vertoonde. Op basis van alle klinische, hematologische en biochemische parameters werd bepaald wat de statistisch significante klinische tekenen waren die de diagnose van sepsis mee konden bepalen. Een parameter werd beschouwd als significant indien de P-waarde  $< 0,05$  was. De cut-off-waarde voor elke parameter werd bepaald aan de hand van een “receiver operating characteristic” curve (ROC)-analyse.

Deze parameters werden geanalyseerd via univariabele analyse en daarna gebruikt om een CRT-beslissingsboom (“classification and regression tree analysis”) op te stellen in SPSS (IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0. Armonk, NY: IBM Corp). Daarbij werden de

**Tabel 1. Diergegevens van de 299 veulens die in deze studie werden opgenomen.**

Diergegevens	Categorie	N (299)
<b>Rassen</b>	Warmbloed	197
	Volbloed	11
	Koudbloed	9
	Pony	12
	Ongekend	70
<b>Geslacht</b>	Hengstenveulen	154
	Merrieveulen	137
	Ongekend	8
<b>Leeftijd</b>	$\leq 7$ dagen	216
	$\leq 60$ dagen	299

“child node” en “parent node” respectievelijk als 20 en 10 ingesteld om een zo hoog mogelijke accuraatheid, specificiteit en sensitiviteit te bekomen. Er werden twee verschillende bomen gemaakt, één voor de populatie van veulens tot en met zeven dagen oud en één voor de gehele populatie van veulens vanaf dag één tot en met zestig dagen oud.

## RESULTATEN

### Diergegevens

In totaal werden 299 gehospitaliseerde veulens opgenomen in de studie (Tabel 1). De inclusiecriteria waren veulens met klinische tekenen van sepsis waarvan een BACTEC™ was genomen. Van alle veulens waren 197 dieren (65,9%) een warmbloed, 12 (4,0%) een pony, 11 (3,6%), een volbloed, 9 (3,0%) een koudbloed en 70 (23,4%) ongekend. Van de populatiegroep waren 154 (51,5%) hengstenveulens, 137 (45,8%) merrieveulens en bij 8 (2,7%) was het geslacht niet genoteerd. Van de 299 veulens opgenomen in de studie waren er 216 (72,2%) zeven dagen oud of jonger.

### Klinisch onderzoek

De bloedcultuur van de 299 veulens die in deze studie werden opgenomen, was van 124 veulens positief (41,5%). Bij 166 veulens was het resultaat negatief (55,6%) en bij negen was het resultaat ongekend (3,0%). Van de dieren jonger dan acht dagen werd 47,9% positief bevonden (n=102), van de dieren tussen acht en zestig dagen was dat slechts 35,1% (n=22). Van de 124 positief geteste veulens werden er bij 91 een bacterie geïsoleerd en een antibiogram opgesteld. De vaakst geïsoleerde bacteriën waren *Escherichia coli* 19,6% (n=18), *Actinobacillus equuli* 14,1% (n=13) en *Staphylococcus* spp. 18,5% (n=17).



**Klinische en laboratoriumparameters univariabel geassocieerd met sepsis**

*Klinische parameters*

Aan de hand van de verzamelde data werd er een samenvatting opgesteld met alle gemeten klinische parameters, hun voorkomen in de populatie en de significantie voor sepsis. De volgende klinische parameters waren univariabel significant geassocieerd met sepsis: afwezige zuigreflex (P=0,001), polsfrequentie >90 bpm (P=0,001), leeftijd >2 dagen (P=0,004), gewicht >50 kg (P=0,005), gestuwde mucosae (P=0,008), abnormaal zenuwstelsel (P=0,023), bilaterale entropion (P=0,023) en suf/zwak/lethargisch voorkomen (P=0,026).

*Hematologische en biochemische parameters*

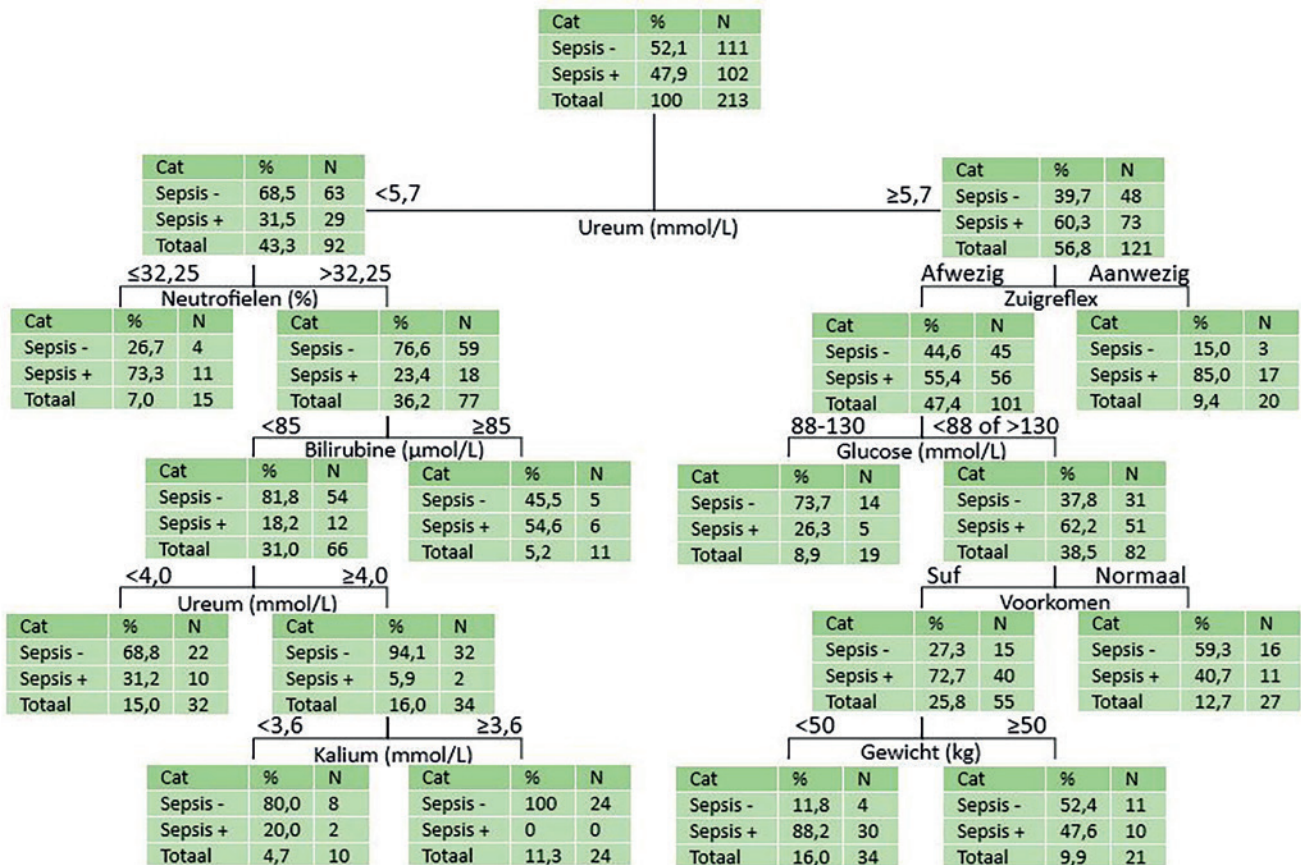
Naast het algemeen klinisch onderzoek werd ook steeds een basis bloedonderzoek uitgevoerd, waarbij de volgende parameters als univariabel significant beschouwd werden: lactaat ≥4 mmol/L (P<0,001), ureum ≥5,7 mmol/L (P<0,001), creatinine ≥129 μmol/L (P<0,001), neutrofielenpercentage continu (P<0,001), lymfocyten% ≥21% (P<0,001), SNAP-foal <8 g/L

(P<0,001), totaal eiwit ≥35 g/L (P<0,001), totaal bilirubine ≥85 μmol/L (P=0,002), kalium <3,6 mmol/L of ≥4,5 mmol/L (P=0,003), glucose <88 mmol/L of ≥152 mmol/L (P=0,004), hematocriet ≥49% (P=0,006), natrium ≥131 mmol/L (P=0,007) en leukocyten <6,92 x10<sup>9</sup>/L (P=0,012).

**Predictiemodellen**

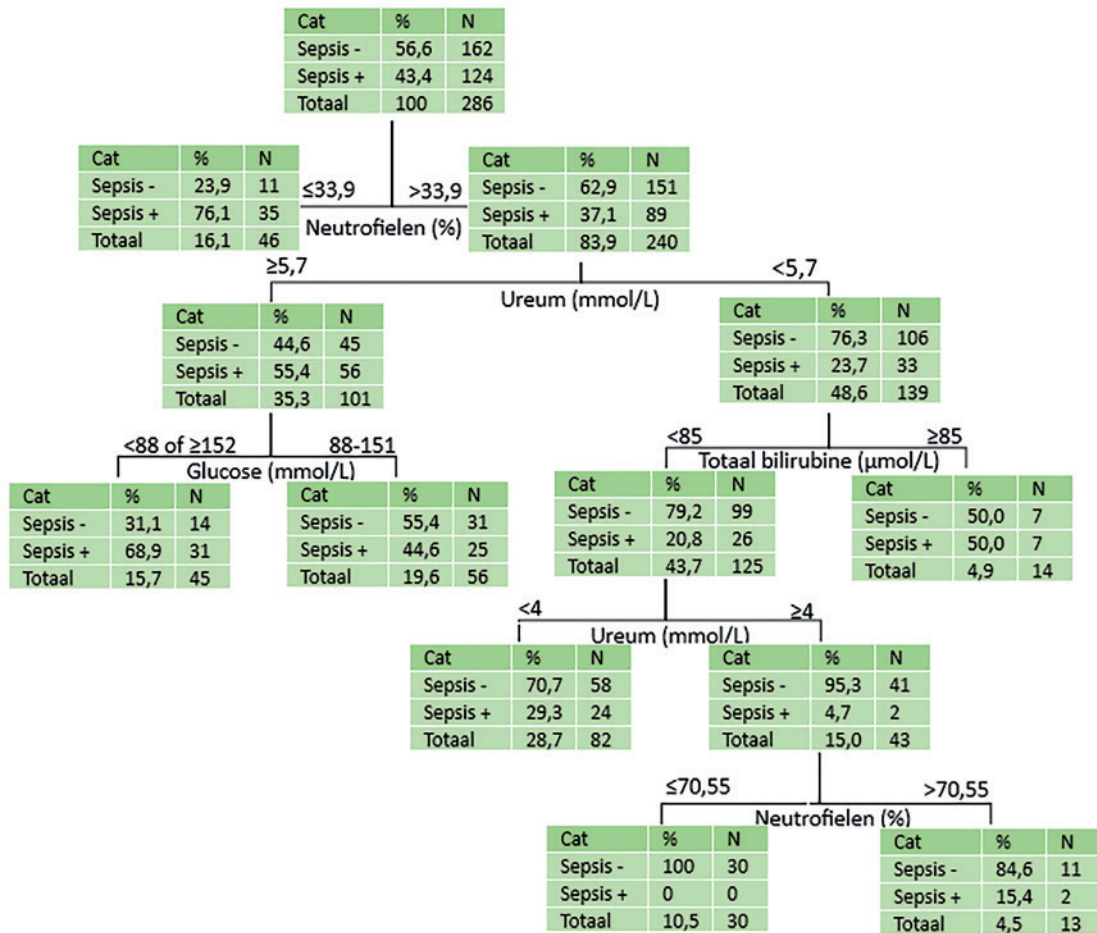
Aan de hand van de bovenstaande klinische, hematogene en biochemische parameters werden er twee beslissingsbomen opgesteld, voor zowel de veulens tot en met zeven dagen oud (Figuur 1) als voor de veulens van nul tot en met zestig dagen oud (Figuur 2). Voor beide leeftijdscategorieën werd er gewerkt met een ‘‘Classification and Regression Tree’’ (CRT), wat inhoudt dat er zowel categorische parameters (aanwezig/niet-aanwezig) als continue parameters (waarden boven of onder een grenswaarde) aanwezig zijn.

De beslissingsboom voor veulens tot en met zeven dagen oud bevatte negen knooppunten, waarin de parameters ureum, neutrofielenpercentage, totaal bilirubine, kalium, zuigreflex, glucose, voorkomen en gewicht werden gebruikt om een predictiemodel voor sepsis te maken. Daarbij was de sensitiviteit 62,7%, de specificiteit 85,6% en de uiteindelijke accuraat-



Figuur 1. Beslissingsboom (CRT-methode) voor de detectie van sepsis bij veulens van nul tot en met zeven dagen oud, aangeboden voor hospitalisatie. De sensitiviteit bedraagt 62,7%, de specificiteit 85,6% en de accuraatheid 74,6%.





**Figuur 2.** Beslissingsboom (CRT-methode) voor detectie van sepsis bij veulens van nul tot en met zestig dagen oud, aangeboden voor hospitalisatie. De sensitiviteit bedraagt 53,2%, de specificiteit 84,6% en de accuraatheid 71,0%.

heid 74,6%. Voor de veulens tot en met zestig dagen oud, bestond de boom uit zes knooppunten en bleken slechts vier bloedparameters significant te zijn voor de determinatie van sepsis. Deze waren neutrofielenpercentage, ureum, glucose en totaal bilirubine. De sensitiviteit hiervan bedroeg 53,2%, de specificiteit 84,6% en de accuraatheid 71,0%.

**DISCUSSIE**

De prevalentie van sepsis in deze studie was 41,5% (124/229), wat overeenkomt met de gerapporteerde prevalentie in de literatuur (tussen 8 en 45%) (Gayle et al., 1998; Brewer en Koterba, 1988). In de voorliggende studie werd ervan uitgegaan dat veulens als septisch kunnen worden beschouwd indien de bloedcultuur positief is en het veulen klinische tekenen vertoont. Deze diagnostische techniek, die beschouwd wordt als de meest sensitieve en specifieke test, is echter niet waterdicht. De lange wachttijd voor resultaten buiten beschouwing gelaten, kan het resultaat van een BACTEC™ valsnegatief zijn door meerdere redenen (Wong et al., 2018; Taylor, 2015). Zo kan een te laag aantal bacteriën, bijvoorbeeld door een zeer

vroege bemonstering, een vertekend beeld geven. Het is daarom raadzaam om op verschillende tijdstippen en locaties en tevens parallel te testen, bloed te nemen en te cultiveren om zo de kansen op een correct resultaat te vergroten (Hytychová en Bezděková, 2015). Daarnaast wordt er soms te weinig staal in een bloedcultuurfles opgenomen door de collectie van een te klein volume bloed tijdens staalname. Normaal is er voor de standaard gebruikte BACTEC™-flessen 5 ml aseptisch geïncubeerd bloed nodig, maar soms worden de flessen met slechts 1-3 ml bloed gevuld. Ook moet men indachtig zijn dat het hier gaat om pediatrische bloedcultuurflessen, die voor de humane geneeskunde ontworpen zijn. De effectiviteit om veterinaire pathogenen uit bloedstalen op te kweken in deze cultuurflessen werd nog niet aangetoond en kan dus ook een mogelijke reden zijn waarom er een onderschatting is van het aantal positieve veulens (Dumoulin et al., 2010; Russell et al., 2008). Aangezien de staalnames voor de bloedcultuur op een steriele wijze worden verkregen, wordt de kans op valspositieve resultaten geminimaliseerd, maar er kan hiervoor nooit een nulgarantie gegeven worden. Een verkeerde techniek voor staalname, het aanprikken van een lokale infectie of contaminatie van het staal zijn de meest

voorkomende redenen voor een valspositief resultaat (Del Prete et al., 2021; Furr en McKenzie, 2020; Bohlin et al., 2019; Russell et al., 2008; Wilson en Madigan, 1989). Gezien er echter voorlopig geen gouden standaard bestaat voor het bepalen van sepsis in vivo, was een positieve BACTEC™ in deze studie de meest aangewezen methode om een onderscheid te maken tussen septische en niet-septische veulens.

De parameters die in de beide beslissingsbomen voorkomen, zijn voornamelijk hematologische en bio-chemische parameters. Dit is te verklaren door het feit dat klinische tekenen vaak pas later optreden na invasie van een pathogeen en zijn vaak subjectief bepaald (zuigreflex, lethargie, etc.) (Sheats, 2019; Theelen et al., 2019; Stearns-Kurosawa et al., 2011; Furr, 2003). In andere sepsis-scoresystemen wordt er ook gewerkt met klinische parameters en bloedwaarden, maar geen enkele bereikt een voldoende hoge sensitiviteit of specificiteit om alleenstaand gebruikt te worden. Dit is bij deze beslissingsbomen niet anders. Alle parameters die gebruikt worden in deze predictiemodellen zijn ook (patho)fysiologisch te verklaren als voorspeller van sepsis. Zo is een verhoogd ureum bij septische patiënten het gevolg van hypoperfusie door zowel dehydratatie als een verminderde cardiovasculaire functie (Jones en Puskarich, 2009; Parrillo, 1990). Sepsis veroorzaakt hypovolemie door veneuze en arteriële dilatatie en een mogelijke cardiovasculaire depressie kan het gevolg zijn van septische shock die een myocardiale dysfunctie veroorzaakt in combinatie met een vasodepressie en capillaire lekkage (Delinger, 2003; Parrillo, 1990; Parker, 1984). Een daling in het percentage neutrofielen is uit te leggen doordat sepsis overall in het lichaam een massale acute infectie veroorzaakt (Shen et al., 2017). In normale omstandigheden zijn neutrofielen namelijk verantwoordelijk voor het onder controle houden van infecties. Bij sepsis is deze infectie echter oncontroleerbaar en ontstaat er een continue vraag naar neutrofielen die niet kan worden verzadigd (Stearns-Kurosawa et al., 2011). Zo ontstaat er een depletie in neutrofielen, maar recente studies in de humane geneeskunde suggereren ook dat er een dysregulatie is van het immuunsysteem, waardoor de migratie van neutrofielen en hun antimicrobiële werking worden verstoord (Sheats, 2019). Een andere parameter die in de beslissingsbomen voorkomt, is totaal bilirubine. Een verhoogd totaal bilirubine kan fysiologisch zijn bij jonge dieren door een relatief groter vloeistofvolume, een kortere halfwaardetijd van erythrocyten, insufficiëntie in het conjugeren van bilirubine en een verminderde excretie van bilirubine (Magid, 2006). Het is echter ook pathofysiologisch mogelijk door een endotoxemie, hemolyse of hepatische verstoring (Shah et al., 2023). Bij sepsis komt dit door cholestasis of directe schade aan de hepatocyten door bacteriële producten of de gastheerrespons op bacteriële toxines (Nessler et al., 2012).

Een hypo- of hyperglycemie zijn beide een predictor voor sepsis. Een neonataal veulen heeft van nature

een laag vetgehalte en een verminderde glycogeenopslag, maar indien het veulen niet drinkt zal er een tekort aan glucose ontstaan (Kinsella et al., 2022). Daarnaast is de hypoglycemie bij sepsis ook mogelijk het resultaat van een verhoogd katabolisme en asfyxie, wat zorgt voor een versneld glucosemetabolisme (Hollis et al., 2008; Mendoza et al., 2005). Hypoglycemie is een voorspellende waarde voor sterfte bij zieke veulens, voornamelijk waarden onder 2,8 mmol/L (<50 mg/dL) (Wintergerst et al., 2006). (Extreme) hyperglycemie is ook een voorspeller van sterfte, zeker indien de waarden hoger zijn dan 10,1 mmol/L (>180 mg/dL) (Hollis et al., 2008). Deze verhoging in glucose is dan weer te verklaren door insulineresistentie, parenterale voeding met dextrose-infusen, stress of een carbohydraatintolerantie (McKenzie III, 2018). Naast glucose is er mogelijk ook een verlaging in kalium te merken bij septische veulens. Dit gaat vergezeld met een verhoging van de natriumwaarden, beide te verklaren door een progressief falen van het Na-K-pompmechanisme (McKenzie III, 2018; Illner en Shires, 1982). Een cardiovasculaire depressie en een verminderde bloedvloeï in de nieren dragen bij tot het verlaagde gehalte aan extracellulair kalium (Tongyoo et al., 2018).

De opvallendste waarden die afwezig zijn in de lijst van biomerkers in deze beslissingsbomen zijn immunoglobuline G (SNAP-foal test), SAA en lactaat. Een verlaagde SNAP-foal (IgG <8 g/L) ( $P < 0,001$ ) is iets wat in een klinische setting vaak als eerste alarmbel wordt gezien voor een verhoogde kans op sepsis (Pusterla et al., 2002). Ook lactaat ( $P < 0,001$ ) kwam niet als een essentiële discriminerende factor uit de classificatie en regressieanalyse. Nochtans is hyperlactatemie (>4 mmol/L) een bekende en veelgebruikte marker voor sepsis en werd ook aangetoond als een voorspellende factor van sterfte (Castagnetti et al., 2010; Wotman et al., 2009; Corley et al., 2005). Daarnaast is het opmerkelijk dat ook SAA niet als significante factor uit de analyse kwam ( $P < 0,05$ ). De reden hiervoor zou kunnen liggen bij de cut-off-waarde in deze studie. In de literatuur wordt er namelijk gesproken van een drempelwaarde van 100 µg/ml die bepalend kan zijn om veulens met een infectie of sepsis te onderscheiden van gezonde veulens, terwijl er in het huidige onderzoek een cut-off van 50 µg/ml werd bepaald aan de hand van een ROC-curve (Barr en Nie-man, 2022; Hoeberg et al., 2022).

Het is opmerkelijk dat veulens boven de 50 kg een significant hogere kans hebben om als septisch gediagnosticeerd te worden. In de beslissingsboom van veulens jonger dan zeven dagen oud wordt deze parameter gebruikt om bij de suffe en lethargische veulens een onderscheid te maken tussen septische en niet-septische veulens, waarbij in de huidige studie 88,2% van de veulens  $\geq 50$  kg een positieve BACTEC™ hadden. Bij de veulens <50 kg was dit 47,6%. Het is weinig waarschijnlijk dat een hoger gewicht op zichzelf een predisponerende factor is voor sepsis, maar dit



zou wel gelinkt kunnen zijn aan het ras of de voedingstoestand. In deze studie had het ras op zich geen significant effect op sepsis, maar gezien deze factor vaak niet of verkeerdelijk was genoteerd in de data, was het moeilijk om hierover een uitspraak te doen.

Het klinische beeld kan na het oplopen van een besmetting snel veranderen. Op enkele uren tijd kan een klinisch gezond veulen erge tekenen vertonen. Vaak zijn een verminderde tot afwezige zuigreflex, veel slapen en lethargie de eerste tekenen die de eigenaar zelf opmerkt (Taylor, 2015). Deze tekenen worden ook als discriminerend beschouwd in de beslissingsboom voor sepsis bij veulens van zeven dagen of jonger. Het is echter niet altijd makkelijk om deze parameters objectief te bepalen en deze tekenen kunnen pas laattijdig optreden (Sheats, 2019; Theelen et al., 2019; Taylor, 2015; Roy, 2004). Dit is waarschijnlijk zowel van deze studie als van het sepsis-scoresysteem de grootste valkuil: aangezien het bepalen van de parameters een statisch gegeven is, kan dit een vertekend beeld geven over de toestand van het veulen (Sheats, 2019; Furr, 2003). Beide diagnostische middelen geven enkel de huidige toestand weer, maar deze kan in enkele uren tot dagen enorm verschillen (Wong et al., 2018; Dunkel en Corley, 2015; Roy, 2004; Sobiraj et al., 2001).

Om de tijd te overbruggen tussen de staalname en het resultaat, kan er in afwachting een breedpectrumantibioticum gegeven worden, indien er goede indicaties zijn dat het veulen septisch zou zijn of nood heeft aan een vroege opstart van antibiotica (Floyd et al., 2021; Theelen et al., 2020, 2019; Magdesian, 2017; Hepworth-Warren et al., 2015; Corley en Hollis, 2009; Russell et al., 2008). Momenteel kiezen veel dierenartsen ervoor om derdegeneratiecefalosporines, vaak ceftiofur, te geven, omdat de toedieningsweg gemakkelijk is (intramusculair, twee keer per dag) en de breedpectrumwerking ervan doeltreffend is (Theelen et al., 2020, 2014b; Bucca et al., 2011). Volgens de studie van Theelen et al. (2019) blijkt de effectiviteit echter hoger te zijn bij de combinatie van amikacine-ampicilline (91,5% ten opzichte van 86,3% met ceftiofur) (Theelen et al., 2019). Een groot nadeel van deze behandeling is echter dat dit intraveneus tot wel vier keer per dag moet worden toegediend, iets wat in de eerstelijnspraktijk moeilijk is om te realiseren (Theelen et al., 2019; Dunkel en Corley, 2015). Aangezien een veulen met sepsis het best in een goed uitgeruste kliniek wordt behandeld, is het daarom bij het minste vermoeden van sepsis aan te raden om het veulen door te verwijzen naar een tweede- of derdelijnskliniek (Theelen et al., 2019). Daar kan de opvolging veel nauwkeuriger gebeuren en is het makkelijker om intraveneuze medicatie toe te dienen op de nodige tijdstippen, wat de overlevingskansen van het veulen aanzienlijk verhoogt (Dunkel en Corley, 2015; Sobiraj et al., 2001; Wilkins, 2009).

Er is een zichtbaar onderscheid tussen de beslissingsbomen van veulens tot en met zeven dagen oud

en tot en met zestig dagen oud. Niet alleen worden er andere parameters gebruikt in de predictiemodellen, ook verschillen de specificiteit, sensitiviteit en accuraatheid onderling. De beslissingsboom van de veulens tot en met zeven dagen oud bevat een specificiteit van 85,6%, een sensitiviteit van 62,7% en een totale accuraatheid van 74,6%. Dit wil zeggen dat er nog ongeveer 37% valsnegatieve resultaten worden voorspeld aan de hand van deze beslissingsboom, of iets meer dan één op drie veulens zou foutief worden aanzien als niet-septisch en zou misschien te laat een gepaste behandeling krijgen. Ook zou ongeveer één op zes veulens foutief aangeduid worden als septisch en onnodig breedpectrumantibiotica krijgen. Aangezien de sensitiviteit van een bloedcultuur tussen de 68% en 88% ligt, is het predictiemodel voor veulens jonger dan acht dagen een minder goede manier om een voorspelling te maken van de diagnose (Furr, 2003), ook al is het resultaat van de beslissingsboom direct beschikbaar en laat dat van het bacterieel onderzoek enkele dagen op zich wachten en dus te laat komt om de antibioticumkeuze te sturen.

De beslissingsboom voor veulens jonger dan zestig dagen is qua sensitiviteit nog lager in waarde. Met een specificiteit van 84,6%, een sensitiviteit van 53,2% en een accuraatheid van 71,0% kan ook hier een redelijke uitspraak gedaan worden over de negatief geteste dieren. Dit is vergelijkbaar met de boom van de veulens tot en met zeven dagen oud, met slechts 15% valspositieve veulens. Ondanks de behoorlijke accuraatheid is deze boom niet geschikt om te gebruiken in de diagnose van sepsis omdat de kans dat een septisch veulen correct wordt aangeduid als septisch, slechts correct is in één op twee gevallen. Hierdoor wordt de helft van de zieke veulens die breedpectrumantibiotica en intensieve zorgen moeten krijgen, gemist, wat voor een fatale afloop kan zorgen. Een optie om de beslissingsboom te optimaliseren, zou de introductie van een gezonde populatie veulens als negatieve controlegroep kunnen zijn. In de voorliggende studie bestond de negatieve controle uit veulens die wel klinische symptomen van sepsis vertoonden, maar mogelijk is er een grotere discrepantie tussen klinische en bloedparameters van gezonde veulens en septische veulens.

Ondanks de relatief hoge specificiteit en accuraatheid zijn de beslissingsbomen door de lage sensitiviteit niet als enige tool inzetbaar in de praktijk. Gezien de hoge specificiteit kunnen de beide predictiemodellen ingezet worden om sepsis uit te sluiten, maar wegens de lage sensitiviteit kan sepsis niet aangetoond worden. Het is in de humane geneeskunde al langer bekend dat modellen op basis van klinische parameters of bloedonderzoek onvoldoende sensitief, specifiek en accuraat zijn (Sokou et al., 2022; Helguera-Repetto et al., 2020; Brewer en Koterba, 1988). Deze predictiemodellen zijn gemaakt op basis van een testpopulatie, maar zouden ook nog gevalideerd moeten worden met een andere populatie. Het is bekend dat dit vaak nog een lagere sensitiviteit en specificiteit te-

weegbrengt, wat het gebruik van de beslissingsbomen nog minder ondersteunt (Munos et al., 2018). Het blijkt dus dat er nog steeds nood is aan nieuwe diagnostische technieken om snel en correct sepsis vast te stellen. Daarbij zouden meerdere testen voor biomerkers een veelbelovende optie kunnen zijn, indien ze bij het parallel testen kunnen worden ingezet om de sensitiviteit te verhogen (Panzani et al., 2015; Pusterla et al., 2006). Er zijn reeds al heel wat opties onderzocht voor mogelijke voorspellende biomerkers, waaronder cortisol, ACTH, interleukines, haptoglobine, SAA, CRP, sCD14, andromedulline, procalcitonine, TNF en endotheline (Nagel et al., 2018; Rütten et al., 2016; Bonelli et al., 2015; Giordano et al., 2015; Zabrecky et al., 2015; Toth et al., 2014; Belgrave et al., 2013; Wagner et al., 2013; Gold et al., 2012; Burton et al., 2009). Geen van deze merkers hebben echter een voldoende sensitiviteit en specificiteit om te kunnen inzetten in de praktijk. Daarbij is het vaak financieel en praktisch niet haalbaar om deze in te zetten als snelle diagnostische techniek voor sepsis, of ze zijn enkel te meten in een experimentele setting en niet verkrijgbaar in de praktijk (Panzani et al., 2015).

Deze studie had enkele beperkingen. Ten eerste was deze studie een retrospectieve cohortstudie, waarbij men moet vertrouwen op de notities uit het verleden. Deze zijn niet altijd volledig, leesbaar of betrouwbaar. Ook gaan er soms aantekeningen verloren, waardoor er bepaalde (cruciale) gegevens gemist worden en er zo een vertekend beeld kan verkregen worden van de patiëntenpopulatie. Sinds de digitalisering van databases is dit echter vergemakkelijkt, aangezien er dan een meer gestandaardiseerde invulling van gegevens kan nagestreefd worden. Ten tweede was er een observatiebias doordat de klinische tekenen en parameters door verschillende dierenartsen geïnterpreteerd werden. Ten derde is de gebruikte populatie van septische veulens niet representatief voor alle veulens in België. De veulens ingesloten in deze studie werden aangeboden aan de Faculteit Diergeneeskunde (Universiteit Gent) en moesten klinische tekenen van sepsis vertonen en een BACTEC™ ondergaan. Er is echter een hele populatie (septische) zieke veulens die nooit werd aangeboden in de dierenkliniek, geen initiële tekenen van sepsis vertoonde of geen BACTEC™ onderging omwille van verschillende redenen (financiële redenen, slechte overlevingskansen, etc.). Daarnaast is een controlegroep met klinische sympto-

men van sepsis niet ideaal om als negatieve controle te gebruiken, gezien een BACTEC™ geen volledige uitsluiting van sepsis kan garanderen. In toekomstige studies zou een gezonde populatie veulens gebruikt kunnen worden als negatieve controlegroep om de predictiemodellen verder te optimaliseren. Ook is het gebruik van de BACTEC™ als bepaling voor het al dan niet septisch zijn, niet ideaal gezien de soms lage sensitiviteit en specificiteit van deze diagnostische test.

De conclusie van deze studie is dat er aan de hand van klinische parameters en een basisbloedonderzoek een algemeen beeld kan worden gevormd over de mogelijke aanwezigheid van sepsis, maar de ontwikkelde beslissingsbomen zijn niet sensitief genoeg om als enige tool de beslissing tot het inzetten van antimicrobiële breedspectrummiddelen te ondersteunen. De toegevoegde waarde van eventuele bijkomende testen voor specifieke biomerkers aan de beslissingsbomen dient geëvalueerd te worden.

## DANKWOORD

Het onderzoek dat tot deze resultaten leidde, werd mede gesubsidieerd door de Belgische Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu via het project RATIOSEP (RF 21/6351).

Dit artikel is gebaseerd op een masterproef diergeneeskunde getiteld 'Predictiemodellen voor sepsis bij veulens om antibioticagebruik te rationaliseren' door Klaartje Broothaers. Deze masterproef ontving de AMCRA-prijs voor de beste thesis over rationeel antibioticumgebruik (2023).

## LITERATUUR

De volledige literatuurlijst kan opgevraagd worden bij de eerste auteur.



© 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/>).



## Comparative study on the efficacy of ketamine-xylazine-buprenorphine and ketamine-xylazine-nalbufine in rabbits undergoing castration

*Comparatieve studie naar de efficiëntie van ketamine-xylazine-buprenorphine en ketamine-xylazine-nalbufine bij castratie van konijnen*

<sup>1</sup>F. Ur Rehman, <sup>2</sup>Shaheryar, <sup>2</sup>H. Bin Rashid, <sup>1</sup>A. Qadir, <sup>2</sup>S. Usman, <sup>3</sup>S. Rafi, <sup>4</sup>Z. Ullah, <sup>5</sup>K. Ahmad, <sup>6</sup>A. Hussain, <sup>7</sup>M. Ali Khalique, <sup>7</sup>A. Aziz, <sup>4</sup>M. Awais, <sup>8</sup>M. Asif

<sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine and Surgery, Lasbela University of Agriculture, Water and Marine Sciences, Uthal, Pakistan

<sup>2</sup>Department of Veterinary Surgery, University of Veterinary and Animal Sciences, Lahore, Pakistan

<sup>3</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, University of Veterinary and Animal Sciences, Lahore, Pakistan

<sup>4</sup>Department of Small Animal Clinical Sciences, University of Veterinary and Animal Sciences, Lahore, Pakistan

<sup>5</sup>School of Agricultural Technology and Food Industry, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand

<sup>6</sup>Department of Veterinary Sciences, Azad Jammu and Kashmir University of Bhimber, AJK, Pakistan

<sup>7</sup>Faculty of Veterinary and Animal Sciences, University of Poonch, Rawalakot, Pakistan

<sup>8</sup>Department of Clinical Sciences, University of Layyah, Layyah, Pakistan

fazal.vas@luawms.edu.pk

## ABSTRACT

The current clinical study was designed to evaluate the anesthetic effects of a combination of xylazine-ketamine-buprenorphine (KXB) and of xylazine-ketamine-nalbuphine (KXN) in rabbits undergoing castration. The study was conducted in twelve adult male rabbits aged between six months and one year and weighing between 4 and 5 kg. The rabbits were divided into two groups, each comprising six rabbits. Each rabbit in group A was administered a ketamine-xylazine-buprenorphine combination. Each rabbit in group B was given a ketamine-xylazine-nalbuphine combination. Various intraoperative and postoperative anesthetic effects were evaluated. The data were analyzed using a t-test with a repeated measure design and Mann-Whitney test. In this study, the anesthetic combination used in group A (KXB) resulted in a slightly longer anesthetic duration with better postoperative analgesia than in group B (KXN). However, all other parameters showed no significant differences between both groups. It was found that the use of a ketamine-xylazine-buprenorphine combination provides a slightly longer anesthetic duration and better postoperative analgesia than a ketamine-xylazine-nalbuphine combination.

## SAMENVATTING

In deze klinische studie werden de anesthesische effecten van een combinatie van xylazine-ketamine-buprenorfine (KXB) en van xylazine-ketamine-nalbufine (KXN) vergeleken tijdens castratie van konijnen. De studie werd uitgevoerd bij twaalf volwassen mannelijke konijnen (tussen de zes maanden tot één jaar oud, met een lichaamsgewicht van 4-5 kg). De konijnen werden in twee groepen van elk zes dieren verdeeld. Elk konijn in groep A kreeg de KXB-combinatie toegediend, de konijnen in groep B kregen de combinatie KXN. Verschillende intra- en postoperatieve effecten werden geëvalueerd. Voor de statistische analyse werden een t-test en een Mann-Whitney-test gebruikt. De KXB-combinatie resulteerde in een iets langere anesthesieduur met betere postoperatieve analgesie dan de KXN-combinatie. Voor de andere parameters werden echter geen significante verschillen vastgesteld. Uit de studie blijkt dat het gebruik van KXB een iets langere anesthesieduur en betere postoperatieve analgesie geeft, dan het gebruik van de KXN-combinatie.

## INTRODUCTION

As in other domestic animals, castration is a routine procedure in rabbits. It is mostly performed to control the reproduction of pets and stray animals, as well as to prevent unwanted sexual behavior and sex hormone-induced aggression (Kaiser et al., 2023). Other terms for castration include desexing or gonadectomy. Furthermore, many other diseased conditions, such as cryptorchidism, testicular hypoplasia, severe testicular traumas, testicular neoplasia, testicular torsion, perineal hernia and prostate cancer may require castration (Urfer and Kaerberlein, 2019).

Rabbits are also frequently used as animal models for various experimental surgeries. A balanced anesthesia protocol is strongly recommended in rabbits (Akter et al., 2023). Properly administered balanced inhalation anesthesia in rabbits can be used effectively (Omowumi et al., 2022). However, an anesthesia machine may not always be available, but safe anesthesia for shorter procedures can also be achieved with injectable anesthetics.

Ketamine is one of the most commonly used dissociative anesthetic drugs for the induction and maintenance of anesthesia in experimental animals, including rabbits. The main advantage of this anesthetic agent is that it does not cause major cardiovascular depression (Atalan et al., 2019). Other functions of ketamine include pain relief, sedation and muscle relaxation during anesthesia (Green et al., 2011).

Xylazine is an  $\alpha_2$  agonist with pronounced sedative, mild analgesic and skeletal muscle relaxing properties. It is used in premedication or sedation protocols in several species. It causes longer sedation than analgesia (Papudesi et al., 2023).

Opioids are the most effective analgesics and are the treatment of choice during pain in veterinary medicine. They are found in both natural and synthetic form, primarily used for their analgesic activity. Despite a wide range of side effects, they are the most effective analgesics used in systemic treatment of acute pain in many species (Allweiler, 2016).

A mixed therapy with opioids and  $\alpha_2$  agonists provides deep analgesia and sedation due to their synergistic effect in both small and large animals (Allweiler, 2016). Adequate pain management should always be provided. In the case of rabbits, opioids are the preferred analgesic medication (Wenger, 2012).

Buprenorphine, a semi-synthetic opioid, and a derivative of morphine alkaloid, is widely used to provide adequate analgesia, sedation and preanesthetic medication. It is rapidly absorbed after intramuscular injection (Kumar et al., 2023). In rabbits, its onset is 15-30 minutes and the duration of effect is up to 8-10 hours (Cooper et al., 2009).

Nalbuphine, a comparatively new morphine-like drug and a potent analgesic with fewer side effects, has an onset of action within 2-3 minutes after IV injection at a dose of 2 mg/kg in rabbits. Its duration of effect is 6 hours, with fewer adverse effects than other

opioids, making it an attractive analgesic for animals (Cruz et al., 2022). The current study was designed to evaluate the effects of a combination of xylazine and ketamine with either buprenorphine or nalbuphine and to provide field veterinarians with a balanced and economical cocktail of anesthesia and analgesia in rabbits.

## MATERIALS AND METHODS

This clinical study was conducted in twelve adult male rabbits aged between six months and one year old, with weights ranging from 4 to 6 kg. The rabbits were divided into two groups, each comprising six rabbits. They were housed in an experimental shed at the Department of Clinical Surgery and Pet Sciences, the University of Veterinary and Animal Sciences (UVAS) in Lahore (Pakistan). The study was conducted under the ethical guidelines approved by Ethical Review Committee (ERC), UVAS, Lahore, Pakistan, with reference no. 219/2018.

All rabbits were fasted for at least two hours prior to surgery. The health status of the rabbits was assessed through clinical examinations, including body temperature, heart rate, respiration rate (RR), capillary refill time (CRT) and dehydration. All the rabbits were manually restrained by gently gripping the scruff. Xylazine was administered as premedication in both groups at a dose of 0.4 mg/kg intramuscularly to facilitate ear vein catheterization. Ten minutes after injecting xylazine as a sedative, a 24-gauge catheter (Rabbit ear vein catheter®, SAI Infusion Technologies, USA) was placed in the marginal ear vein and used to induce general anesthesia (Holve et al., 2013).

For general anesthesia, each rabbit in group A was administered a combination of ketamine-xylazine-buprenorphine (KXB). The dose rate of xylazine (Xylaz®, Farvet pharmaceuticals) was 3mg/kg body weight, ketamine (Batamine®, Bajwa Pharmaceuticals, Pakistan) 25mg/kg and buprenorphine (Segesic® Saydon pharmaceutical, Pakistan; 0.05mg/kg (Plumb, 2005)). Each rabbit in group B was administered a combination of ketamine-xylazine-nalbuphine. Xylazine and ketamine were dosed likewise as in group A. The dose rate of nalbuphine (Kinz®, Sami pharmaceutical, Pakistan) was 0.1 mg/kg (Plumb, 2005). All anesthetic agents were mixed in a single syringe before being injected into the ear vein catheter.

All the animals were positioned in dorsal recumbency for castration. The surgical site was prepared by clipping the hair and using a 30% povidone iodine solution as an antiseptic. A prescrotal skin incision was made. The skin, subcutaneous tissues and testicular layers (tunica vaginalis and tunica albuginea) were incised. The testis was exteriorized, and ligation of the spermatic cord was done using chromic gut 2.0 absorbable suture material. The testis was excised distal to the ligature. Skin suturing was not done and healing of the wound was left to occur through second



**Table 1. Simple descriptive analgesia scale.**

Score	Description	Behavior
0	No pain	Normal posture, no response to wound palpation
1	Mild pain	Slightly abnormal appearance e.g. hunched posture/coat
2	Moderate pain	Staring and response to gentle wound pressure
3	Sever pain	Miserable appearance and wound palpation is not possible

dary intention. A similar procedure was performed for the second testis (Miller et al., 2022).

The rabbits of both groups were evaluated for the following parameters: sedative effects including onset of anesthesia (in seconds), duration of anesthesia (in minutes), recovery from anesthesia (in minutes) and duration of surgery (in minutes). These parameters were defined based on the duration of anesthesia and recovery stages. The onset of anesthesia was defined as the moment when the animals were laterally recumbent with a relaxed jaw, no clamp response, and their eyes were in the ventromedial position without any corneal reflex. The end of anesthesia was confirmed when they moved their limbs and attempted to lift their head. The end of the recovery period was defined as the moment where the animals were standing without any signs of ataxia. Rectal temperature (°C), heart rate (bpm) and respiration rate (per minute) and reflexes (eye reflex, pedal withdrawal reflex, ear pinch reflex and toe pinch reflex (Rachel, 2018; Dunville et al., 2002) were measured at 0, 15, 30, 45 and 60 minutes. Hematological parameters (WBCs count, RBCs count and hemoglobin), liver function tests (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase) and adrenal function tests (serum creatinine and blood urea nitrogen) were measured at 0, 30 and 60 minutes. All blood samples were processed as mentioned by Benjamin (1983). A scoring scale for analgesia was used to evaluate postoperative pain. The analgesia was recorded at 0, 3, 7 and 10 hours after recovery. The analgesia scale included score numbers of 0, 1, 2, and 3, indicating no pain, mild pain, moderate pain, and severe pain, respectively (Anekaret et al., 2023) (Table 1).

A Shapiro-Wilk test was used to confirm that the duration of the different phases of anesthesia and recovery, as well as the monitored values during anesthesia and the hematobiochemical parameters followed a normal distribution. These variables were compared between both groups using a-t test and are represented as mean  $\pm$  SD (Tables 2 and 3). The postoperative analgesia scores were compared between both groups using a Mann-Whitney U test, and are represented as median and range (Table 4). All body reflexes were measured by physical methods (Table 5). All results were analyzed with a significance level of 0.05% ( $p \leq 0.05$ ), using the statistical analysis software version SPSS 20.0 (Daniel, 2010).

## RESULTS

All results are shown in Tables 2, 3, 4 and 5. There were no significant differences between the groups regarding the onset of anesthesia, duration of surgery, and recovery time ( $p \geq 0.05$ ). However, there was a significant difference between the groups regarding the duration of anesthesia ( $p \leq 0.05$ ). The mean duration of anesthesia was found to be significantly different, with  $51.50 \pm 6.50$  minutes in the KXB group and  $43.17 \pm 5.49$  in the KXN group.

There was no difference between the KXB and KXN groups in terms of body temperature and heart rate. However, a significant difference was observed in relation to the respiratory rate. The respiratory rate in group B (KXN) was slightly higher than in group A (KXB). However, the respiratory rates of both groups were within the reference range.

At 0 minute of anesthesia, eye reflex, pinch reflex, pedal withdrawal reflex and ear pinch reflex were present in all rabbits of group A (KXB) and group B (KXN). At 60 minutes of anesthesia, all reflexes were restored in all rabbits.

The hemato-biochemical parameters, such as WBCs, RBCs, Hb, ALT, AST, ALP, serum creatinine, and BUN were not significantly different between the KXB and KXN groups. However, the postoperative analgesia scale was significantly different between both groups. Group A (KXB) showed less pain at various time intervals compared to group B (KXN).

## DISCUSSION

The efficacy of two anesthetic combinations, KXB and KXN, was evaluated in rabbits. To the best of the authors' knowledge, these unique combinations of anesthesia have not been compared to each other before in rabbits or any other animal species undergoing castration.

Statistically, there was a non-significant difference in the onset of anesthesia, duration of surgery, and recovery time between both groups. The onset of induction was 15 seconds, and all reflexes were absent 15 minutes after intravenous injection. In a study by Murphy et al. (2010), it was indeed observed that buprenorphine in combination with ketamine and medetomidine induces smooth induction within ten min-

**Table 2. Comparative mean values of physiological and hemato-biochemical parameters of group A (ketamine, xylazine, buprenorphine) and group B (ketamine, xylazine, nalbuphine) in rabbits (n=12) undergoing castration.**

Body temperature (°C) Time (mins)	Group A	Group B	P-value
0	39.3±0.6	39.2±0.8	0.487
15	38.7±0.4	38.3±0.4	0.319
30	38.3±0.5	37.7±0.3	0.223
45	38.5±0.5	37.1±0.6	0.212
60	37.3±0.4	36.7±0.4	0.201
<b>Heart rate (Beats per min)</b>			
0	227.8±31.8	238.1±32.9	0.593
15	212.3±33.5	218.8±31.4	0.736
30	195.6±29.7	199.1±32.5	0.850
45	177.5±30.1	182.1±30.5	0.795
60	178.3±28.5	174.8±25.5	0.828
<b>Respiratory rate (Breaths per min)</b>			
0	54.3±6.40	61.0±5.5	0.042
15	43.6±6.18	50.8±3.7	0.036
30	36.5±6.15	43.5±5.3	0.033
45	29.5±2.88	37.3±7.3	0.035
60	23.1±3.37	36.0±3.4	0.000
<b>WBCs (10<sup>9</sup>/L)</b>			
0	<b>8.2±0.9</b>	<b>8.2±0.9</b>	0.977
30	<b>8.0±0.9</b>	<b>8.0±1.0</b>	0.986
60	<b>8.1±0.9</b>	<b>7.9±1.0</b>	0.767
<b>RBCs (10<sup>12</sup>/L)</b>			
0	<b>6.3±0.6</b>	<b>6.4±0.7</b>	0.781
30	<b>6.2±0.6</b>	<b>6.2±0.6</b>	0.980
60	<b>6.2±0.6</b>	<b>6.2±0.6</b>	0.918
<b>Hemoglobin (%)</b>			
0	<b>12.2±1.3</b>	<b>12.4±1.3</b>	0.790
30	<b>11.7±1.4</b>	<b>11.7±1.4</b>	0.984
60	<b>11.8±1.4</b>	<b>11.5±1.4</b>	0.701
<b>ALT (U/l)</b>			
0	<b>57.6 ±4.3</b>	<b>58.3±5.5</b>	0.821
30	<b>83.6±5.3</b>	<b>87.5±7.3</b>	0.327
60	<b>77.6±3.9</b>	<b>109.3±8.5</b>	0.226
<b>AST (U/l)</b>			
0	<b>78.0±9.5</b>	<b>79.5±11.5</b>	0.811
30	<b>110.1±9.7</b>	<b>120.1±8.2</b>	0.684
60	<b>128.0±9.0</b>	<b>151.8±10.4</b>	0.522
<b>ALP (U/l)</b>			
0	<b>44.1±11.7</b>	<b>45.3±11.3</b>	0.864
30	<b>57.8±10.7</b>	<b>65.8±11.1</b>	0.235
60	<b>75.8±12.5</b>	<b>98.8±13.9</b>	0.213
<b>Serum creatinine (mg/dl)</b>			
0	<b>1.0±0.3</b>	<b>1.0±0.2</b>	0.927
30	<b>1.3±0.3</b>	<b>1.5 ±0.3</b>	0.360
60	<b>1.1±0.3</b>	<b>1.7±0.4</b>	0.333
<b>BUN (mg/dl)</b>			
0	<b>39.0±5.0</b>	<b>43.1±6.3</b>	0.238
30	<b>57.5±3.7</b>	<b>68.5±5.5</b>	0.232
60	<b>60.0±4.7</b>	<b>81.5±6.7</b>	0.128





utes after intravenous injection.

There was a significant difference in the duration of anesthesia between both groups. Similar results were observed in a study by Steagall et al. (2009) in cats, in which the duration of effect was between twenty and thirty minutes using buprenorphine alone, similar to the KXB group. Buprenorphine has a complex mode of action and can be used at a dose rate of 0.01 to 0.04 mg/kg to induce analgesia between 20 and 30 minutes (Steagall et al. 2009). Statistically, there was no significant difference in recovery time after anesthesia between both groups. The combination of xylazine, ketamine and buprenorphine produced a longer duration of anesthesia, analgesia, and smooth recovery with significant hypotension when compared with xylazine, ketamine and acepromazine in mice (Buitrago et al., 2008). Buprenorphine alone had a good post-operative analgesia in mice (Jirkof et al., 2015). Also, in mice, it was found that buprenorphine with carprofen has a recovery time between 30 and 45 minutes (Adamson et al., 2010). In goats, nalbuphine with xylazine and ketamine had a shorter recovery time of 38 minutes, time to first movement 34 minutes, and time to standing 55 minutes compared to a xylazine and ketamine combination with a recovery time of 47 minutes, time to first movement of 37 minutes, and time to standing of 38 minutes in goats. However, there was no significant difference between both groups associated with induction time and surgery duration (Abouelfetouh et al., 2022).

The difference in body temperature and heart rate of both groups was non-significant. Buprenorphine did not cause any change in blood pressure, nor in the heart rate of rabbits (Shafford and Schadt, 2008). In a study by Pathak et al. (2012), there was no significant change in the heart rate and rectal body temperature when buprenorphine with ketamine was used in buffaloes during spinal analgesia.

A statistically significant decrease in respiratory rate was observed in group A (KXB) compared to group B(KXN). Buprenorphine alone caused a moderate decrease in the respiratory rate in rabbits, but this respiratory depression may be more reflective of sedation rather than true respiratory depression (Schroeder and Smith, 2011). In the study by Pathak et al. (2012), buprenorphine with ketamine resulted in a significant decrease in the respiratory rate from 5 to 15 minutes postinjection during spinal analgesia in buffalo calves. Ketamine and medetomidine following buprenorphine provided better analgesia than pentobarbitone with no respiratory distress. It has also prolonged the recovery time up to 60 minutes in rats (Roughan et al., 1999).

In the present study, there was a significant difference in analgesia of both groups. Group A exhibited more postoperative analgesia than group B. In a study by Paugh et al. (1987), buprenorphine demonstrated superior analgesic activity compared to nalbuphine in humans with a strong affinity at  $\mu$  receptors and slow

dissociation from receptors. The analgesic effects of buprenorphine alone can be observed within 30 minutes after intravenous injection (Steagall et al. 2014). In a study by Reifenrath et al. (2022), buprenorphine produced effective analgesia following orthopedic surgery in rats. However, some rats showed side effects such as depression and pica-behavior. Better postoperative analgesia has been observed in rats when the dose of buprenorphine increased from 0.01 mg/kg to 0.05 mg/kg via the subcutaneous route (Curtin et al., 2009). Buprenorphine alone produces a long-lasting analgesia in rats undergoing laparotomy. However, observed side effects include disturbed circadian rhythm, increased activity and behavioral changes (Jirkof et al., 2015). Subcutaneous administration of buprenorphine can induce mild postoperative analgesia compared to the intravenous or intramuscular routes in rabbits. The subcutaneous route may be useful to sustain analgesic serum levels in rabbits after achieving efficient pain relief (Askar et al., 2020). Nalbuphine has shown to provide good analgesia in a long-term rat model of sepsis (Jeger et al., 2017). However, it leads to a significant decrease in heart rate, respiratory rate and arterial pressure during the anesthesia stage. In the study by Jeger et al. (2017) on awake septic rats, the heart rate was not affected by nalbuphine infusion. Nalbuphine plasma concentrations remained stable between 4 and 24 hours of continuous infusion in the septic rats. In a study by Coetzee et al. (2014), nalbuphine alone reduced pain related behavior in calves after castration.

In a study by Staffieri et al. (2009), buprenorphine with lidocaine produced longer-lasting analgesia compared to xylazine with lidocaine in goats. Intrathecal buprenorphine alone produces prolonged postoperative analgesia compared to nalbuphine in lower limb orthopedic surgeries in humans (Kaushal et al., 2021). In a study by Pathak et al. (2012), buprenorphine with ketamine had an onset of analgesia at four minutes and a duration of analgesia of more than 180 minutes during spinal analgesia in buffalo calves. Nalbuphine with lidocaine has no significant impact on heart rate, body temperature, respiratory rate and liver enzymes (Ragab and Fathy, 2018). All parameters were within the normal range at the end of a 180-minutes' trial (Ragab and Fathy, 2018).

In the present study, there was no significant difference in liver enzymes, i.e. alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, and alanine aminotransferase. Buprenorphine was shown not to be related to an increased level of liver enzymes. In humans, an increase in liver enzymes may be related to other factors, such as stress and chronic disease (Rezaei et al., 2022). Nalbuphine alone has no significant impact on liver enzymes in healthy humans (Gao et al., 2022). However, the half-life, volume of distribution and mean residence time of nalbuphine are prolonged in human patients with liver dysfunction (Gao et al., 2022).

In the present study, serum urea nitrogen and creatinine levels revealed a non-significant difference in both groups. However, there was a slight elevation of serum urea nitrogen and creatinine. In a study by Grag et al. (2013), an increase in serum urea nitrogen and creatinine was seen during anesthesia and might have been due to transient and mild depression of the kidney function with a decrease of renal blood flow and a consequent decrease in the glomerular filtration rate. In a study by Cooper et al. (2009), there was no postoperative effect of buprenorphine and meloxicam on blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine profile in rabbits. In a study by Ragab and Fathy (2018), serum creatinine and BUN were within the reference range at the end of 180 minutes of a clinical trial using nalbuphine with lidocaine in bucks.

In the present study, there was a non-significant decrease in red blood cells, white blood cells and hemoglobin in both groups. In mice, postoperative use of buprenorphine alone has no significant impact on the hematology profile including RBCs, WBCs and Hb (Traul et al., 2015).

## CONCLUSION

The results of this study suggest that the use of a KXB combination provides a better outcome in terms of duration of surgery and postoperative analgesia than a combination of KXN. When comparing the anesthetic and analgesic effects of the two cocktails, the KXB combination was shown to provide slightly more promising results than the KXN combination. Therefore, the KXB combination for anesthesia might be preferred over the KXN combination in terms of postoperative analgesia in rabbits.

## REFERENCES

- Atalan G., Atalan G., Erol H., Erol M., Atasever A., Doğan Z., Güneş V., Yönez M.K., Keleş I. (2019). Comparison of systemic effects of midazolam, ketamine, and isoflurane anaesthesia in rabbits. *Journal of Veterinary Research* 63, 275-284.
- Adamson T.W., Kendall L.V., Goss S., Grayson K., Touma C., Palme R., Chen J.Q., Borowsky A.D. (2010). Assessment of carprofen and buprenorphine on recovery of mice after surgical removal of the mammary fat pad. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 49, 610-616.
- Anekar A.A., Hendrix J.M., Cascella M. (2023). WHO analgesic ladder. In: Banik R. K. (Editor). *Anesthesiology In-Training Exam Review*. First Edition, Treasure Island (FL) StatPearls Publishing. USA. 351-354.
- Abouelfetouh M.M., Salah E., Liu L., Khalil A.H., Zhang Q., Ding M., Ding Y. (2022). Immediate postoperative analgesia of nalbuphine-ketamine combination compared with ketamine alone in xylazine-sedated goats undergoing left flank laparotomy. *Animals* 12, 509-515.
- Allweiler S. (2016). Management and nutrition; analgesic pharmacology. In: Alexandra L. W. (Editor). *Merck Veterinary Manual*. Eleventh edition, Merck & Co. Inc. USA, 203-209.
- Askar, R.D., Elin F.N., Elin M.L., Mikael H.D., Ulf B.N., Simon B.E., Lena O.N., Patricia H.T. (2020). Bioavailability of subcutaneous and intramuscular administered buprenorphine in New Zealand white rabbits. *BMC Veterinary Research* 16, 1-10.
- Akter M., Yesmin N., Talukder M., Alam M. (2023). Evolution of anaesthesia with xylazine-ketamine and xylazine-fentanyl-ketamine in rabbits: A comparative study. *Journal of Advances in VetBio Sciences and Techniques* 8, 38-46.
- Benjamin M.M. (1983). Hematology and clinical chemistry. In: Schalm O.W., Carroll E.J., Jain N.C. (Editors). *Outline of Veterinary Clinical Pathology*. Third edition, American Veterinary Publications, California, USA. 633-659.
- Buitrago S., Martin T.E., Tetens-Woodring J., Bellicha A., Wilding G.E. (2008). Safety and efficacy of various combinations of injectable anesthetics in BALB mice. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science* 47, 11-17.
- Cruz S.L., Paz-Ramos M.I., Hernández-Mendoza A., Carranza-Aguilar C.J. (2022). Opioid effects and classification. *Opioids: Pharmacology, Abuse, and Addiction* 1, 149-155.
- Cooper C.S., Metcalf-Pate K.A., Barat C.E., Cook J.A., Scorpio D.G. (2009). Comparison of side effects between buprenorphine and meloxicam used postoperatively in Dutch belted rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 48, 279-285.
- Coetzee J., Lechtenberg K., Stock M., Kukanich B. (2014). Pharmacokinetics and effect of intravenous nalbuphine in weaned Holstein calves after surgical castration. *Journal of Veterinary Pharmacology* 37, 169-177.
- Curtin L.I., Grakowsky J.A., Suarez M., Thompson A.C., DiPirro J.M., Martin L.B., Kristal, M.B. (2009). Evaluation of buprenorphine in a postoperative pain model in rats. *Comparative Medicine* 59, 60-71.
- Dunville L.M., Sood G., Kramer J. (2022). Oculocardiac reflex. In: Lindey C.D. (Editor). *Clinical Ophthalmology*. StatPearls. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing, USA, 2693-2725.
- Daniel W.W. (2010). Basic concepts and methodology for the health sciences. In: Chad L.C. (Editor). *Biostatistics*. Ninth edition, John Wiley & Sons, New York, USA 346-353.
- Grag S., Sharde R., Tiwari S. (2013). Studies on haemato-biochemical response to fentanyl and buprenorphine as premedicant to ketamine anesthesia in large white Yorkshire pigs. *Indian Veterinary Journal* 90, 37-41.
- Green S.M., Roback M.G., Kennedy R.M., Krauss B. (2011). Clinical practice guideline for emergency department ketamine dissociative sedation. *Annals of Emergency Medicine* 57, 449-461.
- Gao X.N., Nie X.Y., Gao J.L., Heng T.F., Zhang Y.Q., Hua L., Sun Y.Q., Feng Z.Y., Wang, M.X. Jia L. (2022). Pharmacokinetic study of nalbuphine in surgical patients undergoing general anesthesia with varying degrees of liver dysfunction. *Drug Design, Development and Therapy* 26, 2383-2393.
- Holve D.L., Gum G.G., Pritt, S.L. (2013). Effect of sedation with xylazine and ketamine on intraocular pressure

- in New Zealand white rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 52, 488-490.
- Jirkof P.F., Tourvielle A.E., Cinelli P.I., Arras M.S. (2015). Buprenorphine for pain relief in mice: repeated injections vs sustained release depot formulation. *Laboratory Animals* 49, 177-187.
- Jeger V.R., Arrigo M.O., Hildenbrand F.F., Müller D.R., Jirkof P.F., Hauffe T.E., Seifert B.T., Arras M.S., Spahn D.R., Bettex D.I., Rudiger A.R. (2017). Improving animal welfare using continuous nalbuphine infusion in a long-term rat model of sepsis. *Intensive Care Medicine Experimental* 5, 1-13.
- Kaushal S., Kamlakar M., Baburao J.P. (2021). Intrathecal nalbuphine vs. buprenorphine as an adjuvant in lower limb orthopedic surgeries: a prospective randomized controlled study. *Medical Gas Research* 11, 126.
- Kumar R., Viswanath O., Saadabadi A. (2023). Buprenorphine. In: Albaqami M.S. (Editor). *Veterinary Anaesthesia*. Second edition, StatPearls, Treasure Island (FL), StatPearls Publishing, 283-325.
- Kaiser S., Korte A., Wistuba J., Baldy M., Wissmann A., Dubičanac M., Richter S.H., Sachser N. (2023). Effects of castration and sterilization on baseline and response levels of cortisol - A case study in male guinea pigs. *Frontiers in Veterinary Science* 9, 93-157.
- Miller A.L., Clarkson J.M., Quigley C., Neville V., Krall C., Geijer-Simpson A., Flecknell P.A., Leach M.C. (2022). Evaluating pain and analgesia effectiveness following routine castration in rabbits using behavior and facial expressions. *Frontiers in Veterinary Science* 9, 782-786.
- Murphy K.L., Roughan J.V., Baxter M.G., Flecknell P.A. (2010). Anaesthesia with a combination of ketamine and medetomidine in the rabbit: effect of premedication with buprenorphine. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 37, 222-229.
- Omowumi C.O., Fatai M.L., Adeniran A., Saheed A.A. (2022). Evaluation of xylazine-ketamine-pentazocine-anaesthesia in the rabbit. *Acta Scientific Veterinary Sciences* 4, 2582-3183.
- Pathak R., Pratap K., Kinjavdekar P., Aithal H.P. (2012). Comparison of bupivacaine, xylazine and buprenorphine with ketamine combination for spinal analgesia in buffalo calves. *Veterinary World* 5, 111-119.
- Paugh G., Drummond G., Elton R., Macintyre C. (1987). Constant IV infusion of nalbuphine or buprenorphine for pain after abdominal surgery. *British Journal of Anaesthesia* 37, 222-229.
- Papudesi B.N., Malayala S.V., Regina A.C. (2023). Xylazine toxicity. In: Edinoff A.N. (Editor). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. Fourth edition, StatPearls Publishing, USA, 519-526.
- Plumb D.C. (2005). Buprenorphine. In: Elyse A., Katy D., Michelle M. (Editors). *Veterinary Drug Handbook*. Third edition, Pharma Veterinary Inc. Stockholm, 513-515.
- Ragab, G.A., Fathy M.Z. (2018). Evaluation of the epidural analgesic effect of nalbuphine, lidocaine and nalbuphine-lidocaine combination in bucks. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 7, 27-30.
- Rachel S. (2018). Principles of rabbit anaesthesia for veterinary nurses. *The Veterinary Nurse* 9, 1-5.
- Rezaei M., Yousefizadeh S. (2022). Effects of buprenorphine on liver enzymes in patients without a history of liver disease. *Journal of Advanced Biomedical Sciences* 35, 115-121.
- Roughan J.V., Ojeda O.B., Flecknell P.A. (1999). The influence of pre-anaesthetic administration of buprenorphine on the anaesthetic effects of ketamine/medetomidine and pentobarbitone in rats and the consequences of repeated anaesthesia. *Laboratory animals* 33, 234-242.
- Staffieri F., Driessen B., Lacitignola L., Crovace A. (2009). A comparison of subarachnoid buprenorphine or xylazine as an adjunct to lidocaine for analgesia in goats. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 36, 502-511.
- Stegall P.V.M., Mantovani F.B., Taylor P.M., Dixon M.J., Luna S.P.L. (2009). Dose-related antinociceptive effects of intravenous buprenorphine in cats. *Veterinary Journal* 182, 203-209.
- Shafford H.L., Schadt J.C. (2008). Respiration and cardiovascular effects of buprenorphine in conscious rabbits. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 35, 326-332.
- Schroeder C.A., Smith L.J. (2011). Respiratory rates and arterial blood gas tensions in healthy rabbits given buprenorphine, butorphanol, midazolam, or their combinations. *Journal of American Association of Lab Animal Science* 50, 205-211.
- Traul K.A., Romero J.B., Brayton C., DeTolla L., Forbes-McBean N., Halquist M.S., Karnes H.T., Sarabia-Estrada R., Tomlinson M.J., Tyler B.M., Ye X. (2015). Safety studies of post-surgical buprenorphine therapy for mice. *Laboratory Animals* 49, 100-110.
- Urfer S.R., Kaeberlein M. (2019). Desexing dogs: a review of the current literature. *Animals* 9, 1086-1091.
- Wenger S. (2012). Anesthesia and analgesia in rabbits and rodents. *Journal of Exotic Pets Medicine* 21, 7-16.





## Development of the first equine blastocyst produced by conventional IVF and in vitro culture in Europe resulting in the birth of a foal

*Ontwikkeling van de eerste equine blastocyst geproduceerd door conventionele IVF en in-vitrocultuur in Europa resulterend in de geboorte van een veulen*

M. Papas, J. Govaere, S. Peere, I. Gerits, E. Van den Branden, A. Fernández-Montoro, T. De Coster, M. Hedia, D. Angel-Velez, A. Van Soom, K. Smits

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

papas.marion@gmail.com

### ABSTRACT

In this case report, the production of the first equine blastocyst using conventional in vitro fertilization (IVF) and in vitro embryo culture methods in Europe is described. A healthy foal was born after transfer of a blastocyst using a complete in vitro production process, including in vitro oocyte maturation, in vitro sperm capacitation, fertilization in vitro and culture to the blastocyst stage in vitro. Oocytes were recovered from ovaries of slaughtered mares. After in vitro maturation, the oocytes were fertilized by conventional IVF and cultured for nine days. One embryo reached the blastocyst stage and was vitrified. After the selection of a suitable recipient mare that had ovulated four days earlier, the blastocyst was thawed and transferred. Five days after embryo transfer, a single embryonic vesicle was detected by transrectal ultrasonography. After a normal pregnancy of 323 days, a healthy colt was born. Parentage testing via microsatellite genotyping confirmed that the recipient was excluded as the foal's dam and that the stallion whose semen was used, qualified as the sire.

### SAMENVATTING

In de voorliggende casuïstiek wordt de productie van de eerste equine blastocyst met behulp van conventionele in-vitrofertilisatie (IVF) in Europa beschreven. Een gezond veulen werd geboren na transplantatie van een blastocyst die volledig in vitro geproduceerd werd, inclusief in-vitro-eicelrijping, in-vitrospermacapacitatie, in-vitrofertilisatie en in-vitro-embryocultuur. Eicellen werden gecollecteerd uit slachthuismateriaal. Na in-vitrorijping werden de eicellen bevrucht met behulp van conventionele IVF en gedurende negen dagen verder gekweekt in het labo. Eén embryo bereikte het blastocyststadium en werd vervolgens ingevroren. Na de selectie van een draagmerrie, vier dagen na haar ovulatie, werd de blastocyst ontdooid en overgeplaatst. Vijf dagen na de embryotransplantatie werd één vruchtblaasje gediagnosticeerd via transrectale echografie. Na een normale dracht van 323 dagen werd een gezond veulen geboren. Afstammingscontrole via microsatellietgenotypering bevestigde dat de draagmerrie was uitgesloten als moeder van het veulen en dat de hengst, die gebruikt werd als spermadonor voor IVF, inderdaad de vader was.

### INTRODUCTION

Advancements in reproductive technologies have revolutionized horse breeding. In vitro production (IVP) of embryos is proving to be a valuable tool for

addressing fertility problems in both mares and stallions. Until now, the main method for producing equine in vitro embryos has been intracytoplasmic sperm injection (ICSI) (Stout, 2020; Morris, 2018), a process involving the injection of a single sperm

into the cytoplasm of a mature oocyte. This technique requires expensive equipment, such as a high-quality microscope and micromanipulator, along with the skill and expertise of the persons who use these tools, and relies on the subjective selection of the fertilizing sperm. Conventional *in vitro* fertilization (IVF) could represent a more accessible option for producing *in vitro* embryos without the use of a micromanipulator and could provide a more physiological selection of spermatozoa. Nevertheless, until recently, conventional IVF had limited success in horses as compared to other species (Leemans et al., 2016). Although two foals produced by IVF followed by surgical transfer of the fertilized oocyte to the oviduct were born in the 1990s (Bézar, 1992; Palmer et al., 1991), the IVF protocol was not reproducible over the next three decades. The main reason for the failure of IVF in horses appeared to be the inability of stallion spermatozoa to capacitate under *in vitro* conditions (Leemans et al., 2019; Tremoleda et al., 2004). Sperm capacitation refers to the membrane changes and intracellular changes (protein tyrosine phosphorylation, increased intracellular pH and calcium ion concentration) that lead to hyperactivated motility and the acrosome reaction, which are required for fertilization of the oocyte (Yanagimachi, 1994).

Recently, a revolutionary discovery has been made at the University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine, at the laboratory of Katrin Hinrich (Kennett Square, USA) (Felix et al., 2022): by combining a metal chelator (penicillamine), an amino acid (hypotaurine) and a catecholamine (epinephrine) in the sperm incubation medium, sperm motility could be maintained for an extended period of time, up to 24 hours. This longer incubation period enabled equine spermatozoa to become capacitated, and to successfully achieve IVF when exposed to oocytes. This innovative approach has led to the development of a reliable and effective procedure for equine IVF. However, to date, no other research laboratory has reported success in reproducing this complex protocol. In this case report, the development of the first equine blastocyst produced by conventional IVF and *in vitro* embryo culture in Europe is described.

## MATERIALS AND METHODS

All procedures were approved by the Ethical Committee 2021-094, Ghent University. Unless otherwise stated, the IVF procedure was carried out in accordance with the protocol established by doctor Katrin Hinrichs' laboratory (Felix et al., 2022).

### Oocyte collection

Ovaries obtained from slaughtered mares were used to collect oocytes. They were placed on a warmed surface (38°C) and follicles larger than 5 mm were

aspirated and scraped using a 18-G needle connected to a vacuum pump set at -100 mm Hg, followed by rinsing with prewarmed (38°C) flushing medium (Equiplus, Minitube, Tiefenbach, Germany). Oocytes were located via microscopic evaluation of the collected medium and were subsequently cultured for thirty hours in maturation medium (Medium 199 with Earl's salts (Gibco, Fisher Scientific, Merelbeke, Belgium) containing 10% (v/v) FBS (Gibco), supplemented with a combination of 9.4 µg/mL follicle stimulating hormone, and 1.88 µg/mL luteinising hormone (Stimufol, Reprobiol, Ouffet, Belgium). Maturation was carried out in groups of 15 to 20 cumulus-oocyte complexes (COCs) in 500 µL of maturation medium, placed under oil (CooperSurgical, Venlo, the Netherlands) and maintained at 38.2°C in an environment containing 5% CO<sub>2</sub> in ambient air.

### Semen collection

Semen was collected from two stallions on a nearby farm and was immediately extended at a 1:1 (v:v) ratio with a milk protein-based extender (INRA96, IMV Technologies, France). Within twenty minutes of collection, the extended semen was processed in the authors' laboratory. Briefly, the extended semen was placed under 1 mL of pre-warmed G-MOPS (Vitolife, Londerzeel, Belgium) and incubated at a 45° angle at 38°C in air for twenty minutes. The resulting supernatant was collected, transferred to a 1.5 mL Eppendorf tube and centrifuged at 700 x g for five minutes at room temperature. The sperm pellet was resuspended in 495 µL of Hanks Balanced Salt Solution with calcium and magnesium. After a second centrifugation at 700 x g for five minutes at room temperature, 30 µL of the sperm pellet was combined with an equal volume of a modified Tyrode's Albumin Lactate Pyruvate-based media (TALP-R) (Felix et al., 2022), that was previously equilibrated in 5% CO<sub>2</sub> in air. The sperm concentration was measured and adjusted to 10 x 10<sup>6</sup> per mL. Five µL of the sperm suspension was added to 45 µL droplets of fertilization medium containing penicillamine, hypotaurine, and epinephrine (PHE) in a modified TALP medium (FERT-TALP-PHE) (Felix et al., 2022) to obtain a final sperm concentration of 1 x 10<sup>6</sup> per mL in a 50 µL FERT-TALP-PHE droplet. The sperm underwent a twenty-hour incubation period in these droplets at 38°C in a humidified atmosphere comprising 5% CO<sub>2</sub> in air.

### Oocyte – sperm co-incubation, zygote culture and embryo development

The end of the pre-incubation period was timed to coincide with the end of the thirty-hour incubation period for oocyte maturation. After the sperm pre-incubation period, COCs were removed from the maturation medium and rinsed by washing in four

100- $\mu$ L droplets of FERT-TALP medium without PHE. One to three COCs were added to each 50- $\mu$ L FT-PHE droplet containing the pre-incubated sperm for three hours of co-incubation. After this period, one to three COCs were transferred to 15- $\mu$ L droplets of DMEM-F12 with 10% fetal calf serum and incubated at 38.5°C in an environment containing 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, and 90% N<sub>2</sub>. Unlike the commercial human embryo culture medium (Global medium, LGGG-050, LifeGlobal, Guilford, CT, USA) supplemented with 10% fetal calf serum used in doctor Katrin Hinrichs' laboratory, the authors of the present case opted for the embryo culture medium that was well established in their commercial ICSI laboratory.

After 36 hours of presumed zygote culture, the cleaved presumptive embryos were denuded from their cumulus cells and transferred individually to new 5- $\mu$ L droplets of DMEM-F12 with 10% fetal calf serum. They were cultured under the same conditions as were the zygotes. On Day 5, embryos were similarly transferred to droplets of fresh culture medium and cultured in these droplets until assessed for blastocyst formation. Selected blastocysts were vitrified individually in a minimal volume on a Cryolock (Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) at room temperature using a commercial vitrification medium (Equine VIT-Kit, Minitube, Tiefenbach, Germany) as per manufacturer's instructions.

### Embryo transfer

The mare selected as recipient was housed at the Department of Internal Medicine, Reproduction and Population Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University. This nulliparous American Quarter Horse – type mare, weighing 450 kg, was three years old. The mare underwent daily monitoring during estrus using transrectal ultrasonography until ovulation was detected. Embryo transfer was performed using the Wilsher technique (Wilsher and Allen, 2004), four days after ovulation.

Embryo warming was performed by plunging the Cryolock directly into 3.5 mL of embryo holding medium (Emcare, Spervital, the Netherlands) at 38.2°C. After 5 minutes, the embryo was washed four times in the same medium and loaded into a 500- $\mu$ L straw for transfer (Papas et al., 2023).

### RESULTS

Three attempts were performed. In the first attempt, eight oocytes were retrieved, matured and co-incubated with sperm of stallion 1. Although one presumed zygote appeared to cleave, it did not reach the blastocyst stage. In the second attempt, the sperm of stallion 2 was processed; no sperm motility was observed after twenty hours of incubation. For the third attempt, semen of the stallion used in the first trial

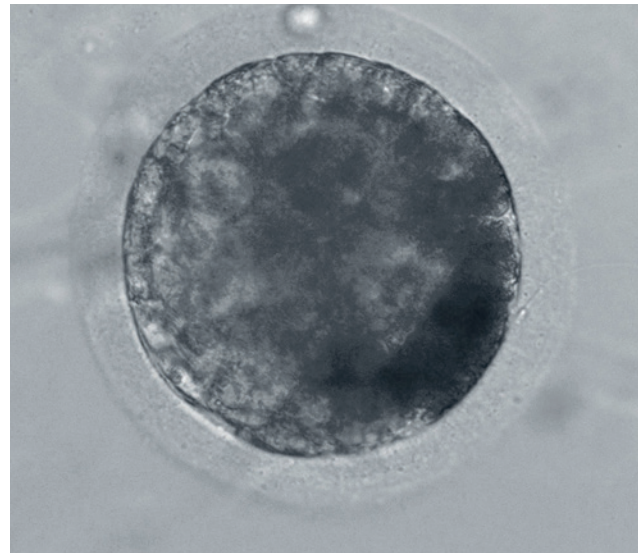


Figure 1. Equine IVF blastocyst (Day 9).

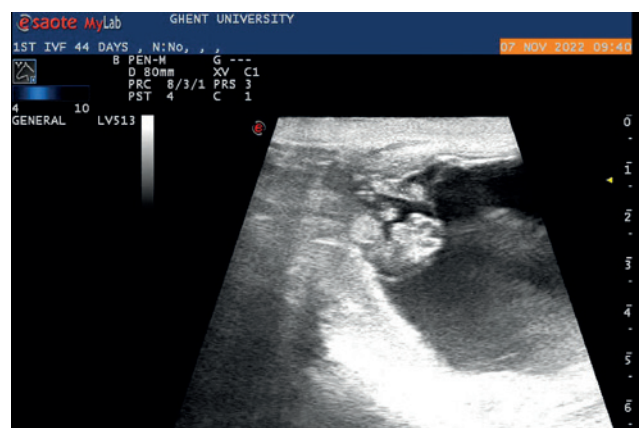


Figure 2. IVF fetus at 44 days.

was processed. A total of 31 oocytes were submitted to maturation, then co-incubated with sperm. Seven presumptive zygotes cleaved 36 hours after fertilization. At Day 9, one blastocyst was recognized and vitrified (Figure 1).

On Day 4, after ovulation of the recipient mare, the embryo was thawed and transferred. Five days after the transcervical transfer, one embryonic vesicle of 2.9 mm diameter was visualized by transrectal ultrasonography. Regular ultrasonographic examinations throughout the gestation revealed a normal development of a single conceptus (Figure 2). The recipient mare gave birth without any complications after 323 days of gestation. The newborn colt of 38 kg was called PIVFI DRACARYS Di08 (Figure 3). Blood samples of the sperm donor and the foal were sent to an external laboratory (Zoolyx, Belgium) for genotyping of short tandem repeats for parentage testing. The results qualified the sperm donor as the sire and excluded the recipient mare as the biological dam of the foal. At the time of writing, the foal was nine months old and developing normally.





**Figure 3. Birth of the IVF foal.**

## DISCUSSION

Since the development of ICSI, IVP of equine embryos has developed into a reliable and reproducible method, unlike the conventional IVF technique, which has continued to face reproducibility problems in horses. In Palmer and Bézard's protocol, mature oocytes were collected from stimulated dominant follicles and early embryos (24 to 60 hours) were transferred into the oviduct of the recipient mare by flank laparotomy (Bézard, 1992; Palmer et al., 1991). Ever since, methods for *in vitro* maturation of equine oocytes have been developed and the use of *in vitro*-matured oocytes has proven to be more efficient (Lazzari et al., 2020), given the challenge of superovulation in mares (Squires and McCue, 2007). Moreover, the culture of embryos to the blastocyst stage allows transcervical transfer (Smits et al., 2012) instead of oviductal transfer through flank laparotomy, making the procedure much less invasive. In their innovative approach, Felix et al. (2022) developed a complete protocol for conventional IVF, which includes *in vitro* maturation of equine oocyte, *in vitro* sperm capacitation and *in vitro* embryo culture to blastocyst stage (Felix et al., 2022). A noteworthy success was achieved, reporting an outstanding fertilization rate of 90% and a blastocyst rate of 74%. These results are promising and mark a significant progress in advanced reproductive techniques, since blastocyst rate achieved using ICSI in an experimental setting range from 27% up to 54%

(Brom-de-Luna et al., 2019). Therefore, conventional IVF seems to offer the possibility to produce embryos in a more cost-efficient manner.

During conventional IVF, it is challenging to assess oocyte maturation before the initial co-incubation of oocytes and sperm, since oocytes are still surrounded by cumulus cells, making it difficult to observe the presence of a polar body. Assessing the presence of a polar body on the uncleaved presumed zygotes after denuding offers the possibility of retrospective evaluation of the rate of maturation. Due to constraints linked to the timing of the experiment, this evaluation could not be carried out in the present study. As a result, it was not possible to evaluate crucial aspects such as fertilization, cleavage and blastocyst rate. Nevertheless, the main objective of this experiment was to determine whether another laboratory could reproduce the complex protocol described by Felix et al. (2022).

The achievement here marks a crucial milestone, demonstrating the reliability and feasibility of this technique. Further research is needed to determine whether this procedure can be performed consistently and whether a high rate of fertilization and blastocysts can be obtained. In addition, the impact of individual stallion variability is another aspect worth exploring since it is conceivable that the ability of spermatozoa to capacitate successfully during incubation varies between stallions.

While ICSI might be more effective with limited sperm doses and in case of severe male infertility where sperm has difficulty penetrating the oocyte, conventional IVF offers distinct advantages. From a practical point of view, this technique can be performed by persons with less training and with less costly equipment than that required to operate the micromanipulator used with ICSI. Certainly, the injection process during ICSI represents a complex series of manipulations requiring a long experience. It is worth noting that the skill and meticulous effort needed for oocyte maturation and embryo culture remains an essential aspect, requiring sustained work and specialized equipment (Scoggin et al., 2024), and is independent of the ICSI or IVF procedure. Another major advantage of the conventional IVF procedure is that fertilization occurs through the self-selection of the sperm that will penetrate the oocyte on its own, while the ICSI procedure involves immobilizing subjectively selected sperm. The technique of IVF therefore appears to be less invasive, and better mimics the natural course of fertilization that occurs in the oviduct.

## CONCLUSION

The use of conventional IVF in the horse remains a relatively recent development and is currently under investigation. This holds significant promise for fundamental research and clinical application in reproductive strategies and assisted reproductive tech-

niques. The replication of the results of Felix et al. (2022) and the development of the first IVF in vitro produced blastocyst in Europe mark a crucial stage in the refinement of in vitro production processes and opens up new possibilities.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude to Stables Den Bisschop for their collaboration and generous supply of horse semen, as well as to the slaughterhouse Leieland bvba for providing equine ovaries.

## REFERENCES

- Bézar, J. (1992). In vitro fertilization in the mare. *Recueil de Médecine Vétérinaire* 168, 993-1003.
- Brom-de-Luna, J. G., Salgado, R. M., Canesin, H. S., Diaw, M., Hinrichs, K. (2019). Equine blastocyst production under different incubation temperatures and different CO<sub>2</sub> concentrations during early cleavage. *Reproduction, Fertility and Development* 31(12), 1823-1829. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/RD19211>
- Felix, M. R., Turner, R. M., Dobbie, T., Hinrichs, K. (2022). Successful in vitro fertilization in the horse: production of blastocysts and birth of foals after prolonged sperm incubation for capacitation. *Biology of Reproduction* 107(6), 1551-1564. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioc172>
- Lazzari, G., Colleoni, S., Crotti, G., Turini, P., Fiorini, G., Barandalla, M., Landriscina, L., Dolci, G., Benedetti, M., Duchi, R., Galli, C. (2020). Laboratory production of equine embryos. *Journal of Equine Veterinary Science* 89, 103097. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103097>
- Leemans, B., Gadella, B. M., Stout, T. A., De Schauwer, C., Nelis, H., Hoogewijs, M., Van Soom, A. (2016). Why doesn't conventional IVF work in the horse? The equine oviduct as a microenvironment for capacitation/fertilization. *Reproduction* 152(6), R233-r245. <https://doi.org/10.1530/rep-16-0420>
- Leemans, B., Stout, T. A. E., De Schauwer, C., Heras, S., Nelis, H., Hoogewijs, M., Van Soom, A., Gadella, B. M. (2019). Update on mammalian sperm capacitation: how much does the horse differ from other species? *Reproduction* 157(5), R181-r197. <https://doi.org/10.1530/rep-18-0541>
- Morris, L. H. A. (2018). The development of in vitro embryo production in the horse. *Equine Veterinary Journal* 50(6), 712-720. <https://doi.org/10.1111/evj.12839>
- Palmer, E., Bézar, J., Magistrini, M., Duchamp, G. (1991). In vitro fertilization in the horse. A retrospective study. *Journal of Reproduction and Fertility Supplements* 44, 375-384.
- Papas, M., Van den Branden, E., Peere, S., Gerits, I., Angel-Velez, D., De Coster, T., Hedia, M., Govaere, J., Smits, K. (2023). Vitrification and direct warming in iso-osmotic holding medium of equine in vitro embryos supports competitive pregnancy rates. *Journal of Equine Veterinary Science* 125, 104671. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104671>
- Scoggin, C. F., Bradecamp, E. A., Sheerin, P., Schnobrich, M. R., Walborn, S. R., Lohbeck, E., Barhorst, A., Howard, C. (2024). Clinical perspective: The perils, pitfalls and pride of developing an equine in vitro fertilisation (IVF) laboratory in private practice. *Equine Veterinary Education* 36(2), 82-90. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/eve.13910>
- Smits, K., Govaere, J., Peelman, L. J., Goossens, K., de Graaf, D. C., Vercauteren, D., Vandaele, L., Hoogewijs, M., Wydooghe, E., Stout, T., Van Soom, A. (2012). Influence of the uterine environment on the development of in vitro-produced equine embryos. *Reproduction* 143(2), 173-181. <https://doi.org/10.1530/rep-11-0217>
- Squires, E. L., McCue, P. M. (2007). Superovulation in mares. *Animal Reproduction Science* 99(1), 1-8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.04.054>
- Stout, T. A. E. (2020). Clinical application of in vitro embryo production in the horse. *Journal of Equine Veterinary Science* 89, 103011. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103011>
- Tremoleda, J. L., Stout, T. A. E., Gadella, B. M., Colenbrander, B. (2004). Sperm-oocyte interaction during in vitro fertilization in the horse *Reproduction, Fertility and Development* 16(2), 263-263. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/RDv16n1Ab286>
- Wilsher, S., Allen, W. R. (2004). An improved method for nonsurgical embryo transfer in the mare. *Equine Veterinary Education* 16(1), 39-44. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2004.tb00265.x>
- Yanagimachi, R. (1994). Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. *Zygote* 2(4), 371-372. <https://doi.org/10.1017/s0967199400002240>



© 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/>).

## Histiocytic sarcoma complex in the palpebral conjunctiva of a seven-month-old dog

*Histiocytair sarcoom in de palpebrale conjunctiva bij een zeven maanden oude hond*

<sup>1</sup>N. Avci, <sup>1</sup>F. Gumus, <sup>1</sup>B. Boztok Ozgermen, <sup>2</sup>O. Yavuz

<sup>1</sup>Aksaray University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Main Campus, Aksaray, Turkey

<sup>2</sup>Dokuz Eylul University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Kiraz Campus, Izmir, Turkey

basak1607@gmail.com

### ABSTRACT

A seven-month-old, intact, female Anatolian Shepherd dog was referred for treatment of swelling and redness of the left eye. Ophthalmological examination revealed a pea-sized mass in the palpebral conjunctiva of the left lower eyelid. Ulcerative keratitis and blepharospasm were detected due to the irritation caused by the mass. Fluorescein staining was positive and the Schirmer tear test result was 13 mm/min. No other masses were detected in other parts of the patient's body, and its general condition was good. The mass was removed surgically and was interpreted as histiocytic sarcoma. During a three-year, post-operative follow-up period, no recurrence of the mass was observed.

### SAMENVATTING

Een zeven maanden oude, intacte, vrouwelijke Anatolische herder werd aangeboden met zwelling en roodheid aan het linkeroog. Tijdens het oftalmologisch onderzoek werd een massa ter grootte van een erwtenaantoon in de palpebrale conjunctiva van het linker onderste ooglid. Ulceratieve keratitis en blefarospasmen werden vastgesteld wegens irritatie veroorzaakt door de massa. Er werden geen andere massa's in andere delen van het lichaam aangetoond. De hond was in goede algemene conditie. De massa werd chirurgisch verwijderd en gediagnosticeerd als histiocytair sarcoom. Gedurende een postoperatieve opvolgingsperiode van drie jaar werd geen recidief waargenomen.

### INTRODUCTION

Histiocytic proliferative diseases include several disorders identified in dogs. They are classified according to their clinical appearance and pathological differences as follows: canine cutaneous histiocytoma, canine reactive histiocytosis (cutaneous and systemic forms), and histiocytic sarcoma complex (HSC) (localized, disseminated histiocytic sarcoma and malignant histiocytosis) (Naranjo et al., 2007).

Historically, malignant histiocytic sarcoma (HS) has been recognized in the Bernese Mountain dog as a hereditary disease, but has later been described in other breeds as well (Rahj et al., 2018). Eyelid involvement has been shown in cutaneous histiocytomas; involve-

ment of eye and adnexal structures has been described in systemic histiocytosis (Gelatt, 1975; Moore, 1984; Scherlie et al., 1992; Patterson et al., 1995). Cutaneous histiocytomas regress spontaneously and reactive histiocytosis usually responds to immunosuppressive therapy. However, HS is considered a malignant neoplasm of histiocytic origin with a poor prognosis (Naranjo et al., 2007).

The mass mostly resembles the clinical manifestation of eyelid tumors. Epiphora and blepharospasm occur due to the corneal irritation caused by the conjunctival mass. If the tumor grows to such an extent that it impairs the function of the eyelids, more serious ocular findings such as ulcerative keratitis may be observed (Hedlund, 2007; Finn et al., 2008).



Secondary ocular neoplasms are rarely encountered but the clinician must be aware that tumor metastasis may cause clinical ocular disease. In dogs, excluding lymphoma, histiocytic sarcoma is the most common tumor that metastasizes to the globe. This tumor in the eye has the same breed predilection as it has when found in other parts of the body. Hemangiosarcoma, mammary adenocarcinoma and malignant oral melanoma can also be the metastatic ocular neoplasms (Dubielzig, 2017).

In cats, HS is very rare. Scurrel et al. (2013) reported an intraocular histiocytic sarcoma complex in a thirteen-year-old, male, British Blue cat.

In this case report, the clinical, surgical and histopathological findings of a histiocytic sarcoma localized in the palpebral conjunctiva of a young dog are described.

### Case description

A seven-month-old, intact, female Anatolian Shepherd dog was presented to the surgery clinic of the Faculty of Veterinary Medicine (Aksaray University, Turkey) with complaints of swelling and redness of the left eye.

The patient's history was taken, physical and ophthalmological examinations were performed. Fluorescein staining was positive. Since the Schirmer tear test result was 13 mm/min, the patient was considered suspicious for dry eye. Epiphora, mucopurulent discharge and corneal vascularization were seen in the left eye. A pea-sized mass was observed in the palpebral conjunctiva of the left lower eyelid. The onset of ulcerative keratitis and blepharospasm were caused by the irritation of the mass and the patient's scratching.

Therefore, it was decided to directly remove the mass operatively rather than taking a biopsy. Ofloxacin (Exocin 0.3% ophthalmic drops, Allergan, Turkey) was applied as a local antibiotic, 1-2 drops four times

a day, until the day of surgery. Before the operation, a thoracic radiograph was taken to evaluate the suitability for anesthesia and possible metastases. The owners declined abdominal ultrasonography. Food and water were withheld for eight hours and two hours, respectively. The dog was premedicated with xylazine HCl (XylazinBio 2%, Interhas, Turkey) intramuscularly (IM) at a dose of 2mg/kg. Anesthesia induction was achieved by administering ketamine HCl (Ketazol 10%, Interhas, Turkey) IM at a dose of 10mg/kg. The patient was intubated orotracheally with an appropriate intubation tube. Maintenance of general anesthesia was provided with isoflurane (Isoflurane USP 100%, USA) in 100% oxygen with the end-tidal isoflurane concentration between 1% and 3%. The patient was ventilated via intermittent positive pressure ventilation in the pressure-control mode to maintain the end-tidal CO<sub>2</sub> level between 35-45 mmHg.

As a preoperative antibiotic, cefazolin sodium (25 mg/kg) was administered intravenously. Throughout the operation, a 0.9% NaCl solution was administered intravenously. The patient was placed in right lateral recumbency and prepared for routine aseptic surgery by clipping the hair around the surgical site (Figure 1A). The site was scrubbed with benzalkonium chloride 20% and povidone-iodine, then rinsed with alcohol carefully avoiding contact with the globe. The mass was circumscribed with chalazion forceps, then 1 mm clean margins were taken. The incision line was sutured, taking care to appose the eyelid border correctly. A continuous suture pattern was performed on only one plane by using a monofilament absorbable suture material (Figure 1B).

During the postoperative period, ofloxacin (Exocin 0.3% ophthalmic drops, Allergan, Turkey) three drops four times a day, oxytetracycline hydrochloride and polymyxin b sulfate ophthalmic ointment (Terramycin ophthalmic ointment, Pfizer, Turkey) twice a day and a lubricant (Viscotears ophthalmic gel, Bausch & Lomb) were administered. An Elizabethan

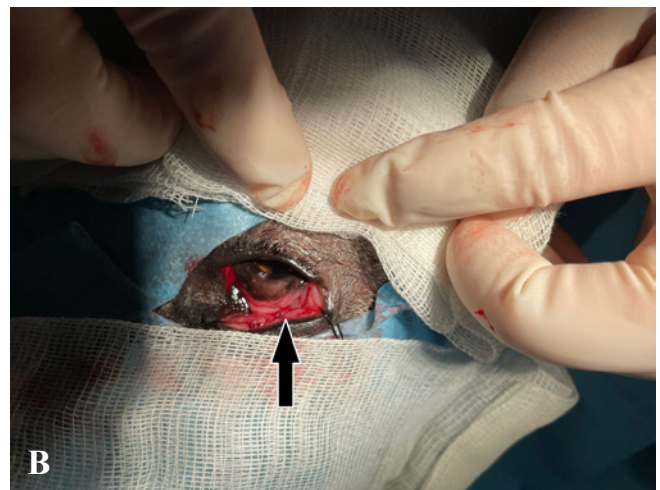


Figure 1. A. Preoperative image of the mass (white arrow). B. Perioperative image of the eyelid and conjunctiva (black arrow showing the suture line)



collar was placed to prevent the dog from scratching and to protect the surgical wound. Amoxicillin clavulanic acid (Synulox, 50 mL; Zoetis, NJ, USA) 20 mg/kg/day was administered subcutaneously for seven days postoperatively. The patient recovered uneventfully. Postoperative follow-up was conducted in the first month and every six months during the next three years. No recurrence was observed for 36 months.

The mass was fixed in 10% formalin for 48 hours. Routine histological tissue processing was performed on the tissues. The tissues whose processing was completed, were blocked into paraffin wax. Five  $\mu\text{m}$  thick sections were taken from the blocks for histopathological examination. They were stained with hematoxylin and eosin, and examined under a light microscope.

Histopathological examinations revealed that the cells forming the tumor were mostly atypical histiocytes with a round-like structure, with large cytoplasm and prominent and large basophilic nuclei (Figure 2). Some tumor cells contained vacuoles and substances such as erythrocytes and hemosiderin in the cytoplasm they phagocytosed (Figure 3). Lymphocyte infiltrates with basophilic nuclei were frequently observed among the tumor cells (Figure 4).

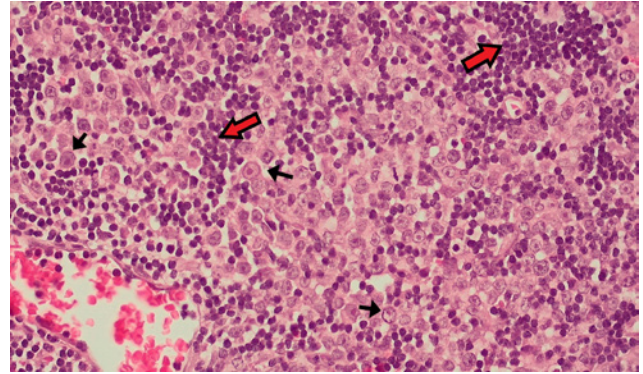
## DISCUSSION

Eyelid tumors are common in middle-aged and older dogs (Aquino, 2007; Wilcock, 2008). In a retrospective study by Kaya et al. (2018), it was shown that the age range of tumor cases was situated in the middle and older age groups. In the present case, the dog was seven months old, and the histiocytic sarcoma complex was diagnosed at a young age.

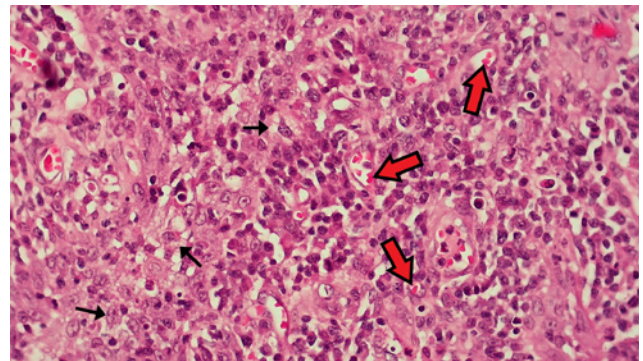
Eyelid involvement in cutaneous histiocytomas and attachment organs, and intraocular involvement in systemic histiocytosis have been reported (Scherlie et al. 1992). Cutaneous histiocytomas regress spontaneously, and reactive forms (cutaneous and systemic histiocytosis) usually respond to immunosuppressive therapy. However, histiocytic sarcoma complex is a malignant neoplasm of histiocytic origin with a poor prognosis (Naranjo et al. 2007).

In a study by Liu et al. (2019), a histiocytic sarcoma complex was detected on the eyelid of a 72-year-old person. In a case report by Rahj et al. (2018), a disseminated histiocytic sarcoma with intraocular involvement was described in a ten-year-old, female Rottweiler. The results of a study by Naranjo et al. (2007) conducted on 26 dogs revealed that the affected tissues of patients diagnosed with histiocytic sarcoma were anterior and posterior uvea, sclera, choroid, vitreous, and orbit. Although the dogs initially showed ocular clinical signs, most of the patients died due to complications arising from disseminated histiocytic sarcoma (Naranjo et al. 2007).

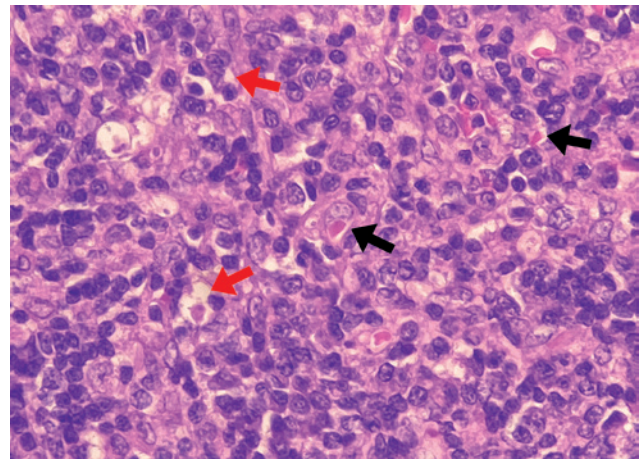
Histiocytic sarcoma cases have been reported in



**Figure 2.** Atypical histiocytes (black arrows) form the tumor and dense lymphocyte infiltrates (red arrows) between these cells (x200, HE).



**Figure 3.** Intracytoplasmic vacuole structures (black arrows) and newly formed blood vessels (red arrows) in atypical histiocytes (x200, HE).



**Figure 4.** Phagocytosed erythrocytes (black arrows) and intracytoplasmic vacuole formations (red arrows) in the tumor cells (x400, HE).

the spleen, liver, lung, subcutis, skeletal muscles and even the brain, but to the authors' knowledge, no case of HSC in the palpebral conjunctiva has been reported so far (Affolter and Moore, 2002; Şahinduran et al., 2016). HSC can be localized or disseminated in dogs. Both types can show aggressive behavior, but it has been reported that localized HSC has a better prognosis than disseminated HSC (Fulmer and Mauldin,

2007). While the term ‘localized’ refers to the development of the tumor in one region, regional lymph nodes and other distant metastases refer to the term ‘disseminated’. Histologically, there are tumoral cases in which large round cells predominate and cases in which spindle-shaped tumor cells predominate (Goldschmidt and Goldschmidt, 2017). In the present report, the tumor cells were mostly round oval-shaped cells with prominent cytoplasm, containing erythrocytes and vacuoles. It has been reported that the origin of localized HSC cases in dogs is mostly the presence of myeloid dendritic antigen-presenting cells (Affolter and Moore, 2002). However, further studies are required to determine the exact origin of the tumor.

## CONCLUSION

Histopathological evaluation is essential for the diagnosis of localized and disseminated histiocytic sarcomas in dogs. To the authors’ knowledge, this is the first case report of histiocytic sarcoma complex in the palpebral conjunctiva in a dog. No other masses were detected in other parts of the patient’s body, and its general condition was good. During the three-year post-operative follow-up period, no recurrence of the mass was observed. It was concluded that the early diagnosis of histiocytic sarcoma complex in the palpebral conjunctiva of the young dog without breed predisposition, and the surgical removal of the mass prevented possible recurrences and increased the patient’s welfare.

## REFERENCES

Affolter, V.K., Moore, P.F. (2002). Localized and disseminated histiocytic sarcoma of dendritic cell origin in dogs. *Veterinary Pathology* 39, 74-83.

Aquino, S.M. (2007). Management of eyelid neoplasms in the dog and cat. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 22(2), 46-54. DOI: 10.1053/j.ctsap.2007.03.001

Dubielzig R.R. (2017). Tumors of the eye. In: Meuten D.J. (Editor). *Tumors in Domestic Animals*. Fifth edition, John Wiley & Sons, Inc., USA, p. 892-922.

Falmer, A.K., Mauldin, G.E. (2007). Canine histiocytic neoplasia: an overview. *Canadian Veterinary Journal* 48(10), 1041-1043.

Finn, M., Krohne, S., Stiles, J. (2008). Ocular melanocytic neoplasia. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians* 30(1), 19-25.

Gelatt, K.N. (1975). Histiocytoma of the eyelid of a dog. *Veterinary Medicine: Small Animal Clinician* 70, 305.

Goldschmidt, M.H., Goldschmidt, K.H. (2017). Epithelial and melanocytic tumors of the skin. In: Meuten D.J. (Editors). *Tumors in Domestic Animals*. Fifth edition John Wiley & Sons Inc, Ames, Iowa. p.168-170.

Hedlund, C.S. (2007). Surgery of the eye. In: Fossum T.W. (Editor). *Small Animal Surgery*. Third edition, Mosby Elsevier, USA, p. 260-289.

Kaya, D., Güzel, Ö., Sevim, G., Demir, A., Olğun Erdikmen, D., Yüzbaşıoğlu Öztürk, G., Erdoğan Bamaç, Ö. (2018). Köpeklerde Göz Kapağı Tümörleri: 47 Olguda Retrospektif Çalışma (2006-2017). *Kocatepe Veterinary Journal* 11 (3), 286-291. DOI: 10.30607/kvj.429210.

Liu, D.J., Rullo, J., Kratky, V., Farmer, J. (2019). Histiocytic sarcoma of the eyelid. Case report. *Saudi Journal of Ophthalmology* 33, 300-303. DOI: 10.1016/j.sjopt.2019.07.001.

Moore, P.F. (1984). Systemic histiocytosis of Bernese Mountain dogs. *Veterinary Pathology* 21, 554-563.

Naranjo, C., Dubielzig, R.R., Friedrichs, K.R. (2007). Canine ocular histiocytic sarcoma. *Veterinary Ophthalmology* 10, 3. 179-185. DOI: 10.1111/j.1463-5224.2007.00534.x

Paterson, S., Boydell, P., Pike, R. (1995). Systemic histiocytosis in the Bernese Mountain dog. *Journal of Small Animal Practice* 36, 233-236.

Rajh, S., Acevedo, K.F., Williams, G., Pargass, I., Bally, A., Suepaul, R. (2018). A case report of disseminated canine histiocytic sarcoma in Trinidad and Tobago. *Veterinary Science* 5, 9. DOI:10.3390/vetsci5010009

Scherlie, P.H., Jr, Smedes, S.L., Feltz, T., Dougherty, S.A., Riis, R.C. (1992). Ocular manifestation of systemic histiocytosis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 201(8), 1229-1232.

Scurrall, E., Trott, A., Rozmanec, M., Belford, C.J. (2013). Ocular histiocytic sarcoma in a cat. *Veterinary Ophthalmology* 16 Suppl 1, 173-176. DOI:10.1111/vop.12052

Wilcock B.P. (2008). General pathology of the eye. In: Maggs, D., Miller, P., Ofri, R. (Editors). *Slatter’s Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Fourth edition, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, p. 62-80.

Şahinduran, Ş., Özmen, Ö., Küçükler, S. (2016). A case of splenic histiocytic sarcoma in a dog. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1(1), 77-81.





## Duurzaamheid in de operatiezaal: waar staan Vlaamse dierenartsen in het scheiden van afval en het hergebruik van materiaal?

*Sustainability in the surgery room: attitude and practices of Flemish veterinarians regarding waste sorting and reuse of material*

T. Haverkort, H. Haardt, A. Martens

Vakgroep Heelkunde, Anesthesie en Orthopedie van de Grote Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

haverkorttamara@gmail.com

### SAMENVATTING

De grote hoeveelheid afval die in operatiezalen wordt geproduceerd, is een belangrijk probleem met significante gevolgen, zoals de bijdrage tot de huidige klimaatverandering. Het doel van deze studie was informatie te verkrijgen over de houding en gebruiken van Vlaamse dierenartsen omtrent duurzaamheid in de operatiezaal. Dit werd gedaan middels een enquête met 22 respondenten. Uit de enquête bleek dat de meeste respondenten (86%) verduurzaming (zeer) belangrijk vinden. Wat betreft afvalsortering hanteren de meeste respondenten naast restafval de volgende afvalstromen: gele naaldcontainers (95%), papier (82%), plastic (73%), glas (64%) en medisch afval (55%). Slechts een beperkt percentage van de respondenten hergebruikt materialen: operatiedoeken (18%), operatieschorten (57%), operatiemutsen (28%) en urinesondes (18%). De belangrijkste redenen voor het beperkt hergebruik van materiaal zijn de vrees dat het niet steriel genoeg is (50%), het niet beschikken over het juiste toestel voor hersterilisatie (50%) en de tijd die aan hersterilisatie besteed wordt (36%). Een eerste aanbeveling voor verduurzaming is uitgebreidere afvalsortering. Door meer afvalstromen te hanteren naast restafval, kan meer gerecycleerd worden. Daarnaast kan meer materiaal hergebruikt worden. De hoeveelheid afval kan gereduceerd worden door bijvoorbeeld operatieschorten te hergebruiken. Tenslotte kan ingezet worden op educatie om de kennis en bewustwording betreffende het belang van verduurzaming en correct afvalbeleid te vergroten.

### ABSTRACT

The production of large amounts of waste in surgery rooms is a major problem with significant consequences, such as the contribution to climate change. The aim of this study was to obtain information on the attitude and practices of Flemish veterinarians regarding sustainability in the surgery room. This was investigated in a survey with 22 participants. The results showed that most participants (86%) consider sustainability to be (very) important. In terms of waste sorting, most respondents use the following waste streams beside residual waste: yellow needle containers (95%), paper (82%), plastic (73%), glass (64%) and medical waste (55%). Only a limited percentage of the respondents reuse materials: surgical drapes (18%), surgical gowns (57%), surgical caps (28%) and urinary catheters (18%). Important reasons for the limited reuse of materials include the fear that it is not sterile enough (50%), not having the right device for reesterilization (50%) and the time spent on reesterilization (36%). A first recommendation for sustainability is more extensive waste sorting. By handling more waste streams besides residual waste, more can be recycled. Furthermore, more material should be reused. The amount of waste can be reduced by reesterilization of surgical aprons, for example. Finally, education will lead to an increased knowledge and awareness regarding the importance of sustainability and correct waste policy.

## INLEIDING

In de voorliggende studie werd duurzaamheid in de diergeneeskundige operatiezaal onderzocht, met focus op afvalproductie. Er wordt een grote hoeveelheid afval in operatiezalen geproduceerd. Humane ziekenhuizen in westerse landen genereren gemiddeld een relatief groot deel van de vaste afvalstoffen en de jaarlijkse broeikasgasemissie van het land (Lui et al., 2014; Stall et al., 2013). Zo genereerde de Canadese gezondheidssector in 2001 gemiddeld 1% van het vast afval van het land en 2,1% van haar jaarlijkse broeikasgasemissies (Hancock, 2001). In 2007 zorgde de gezondheidssector van de Verenigde Staten (VS) voor 8% van de totale broeikasgasemissie en 7% van de totale CO<sub>2</sub>-emissie van de VS (US Environmental Protection Agency, 2009). Operatiezalen zijn naar schatting verantwoordelijk voor 20-33% van de totale hoeveelheid afval geproduceerd in ziekenhuizen (Kagoma et al., 2012; Tieszen en Gruenberg, 1992). In tegenstelling tot de humane gezondheidssector, zijn voor de diergeneeskunde geen cijfers bekend betreffende de bijdrage tot de totale broeikasgasemissie of CO<sub>2</sub>-emissie van een land.

Het correcter sorteren van afval laat toe om meer te recyclen, wat zorgt voor een kleinere milieu-impact. Daarnaast biedt het ook een financieel voordeel. In een kwantitatieve studie van Babu et al. (2019) werd de milieu-impact van recyclage van “blue wrap” gedurende 39 dagen onderzocht in tien operatiezalen. “Blue wrap” is verpakkingsmateriaal van polypropyleen, bedoeld voor chirurgische dozen en instrumenten. Na correcte sortering kan de “blue wrap” in balen worden geperst en verkocht aan recyclers, die het materiaal pelletiseren en omzetten in andere plastic producten. Door 555 kg “blue wrap” te recyclen, werd een energiebesparing behaald van 158.700 kWh aan elektriciteit (namelijk 713.076 liter olie omgerekend naar energie in kWh). Doordat door recyclage minder transportkosten en afvalverwijderingskosten worden gemaakt, was er ook een kostenbesparing van omgerekend 30.633 euro. Ook wat betreft broeikasgassen zorgt meer recyclage voor een kleinere milieu-impact. Zo bleek uit een Schotse kwantitatieve audit op basis van twintig chirurgische procedures dat dankzij recycling van papier en karton (54 kg gerecycleerde afvalzakken) in totaal 25 kg CO<sub>2</sub>-uitstoot kon worden bespaard (McKendrick et al., 2017). Ook meer hergebruik van wegwerpmateriaal kan bijdragen tot een kleinere milieu-impact en moet daarom zorgvuldig overwogen worden (Gautam en Sahney, 2020).

Het is belangrijk om te vermelden dat het reduceren van de hoeveelheid afval en het hergebruik van materiaal efficiëntere manieren zijn om de ecologische voetafdruk te verkleinen dan recyclen, en dus een grotere milieu-impact hebben als verduurzamende maatregelen. Het proces van recyclage verbruikt namelijk veel energie. Daarnaast leidt incorrecte afvalscheiding tot onzuivere afvalstromen, waardoor

regelmatig ladingen afval alsnog verbrand moeten worden (Harding, 2020).

In de Europese Unie geldt de *Uitvoeringsverordening (EU) 2020/1207 van de Commissie van 19 augustus 2020 tot vaststelling van bepalingen ter uitvoering van Verordening (EU) 2017/745 van het Europees Parlement en de Raad wat betreft gemeenschappelijke specificaties voor de herverwerking van hulpmiddelen voor eenmalig gebruik* (2020). In deze verordening staat onder andere dat bepaalde hulpmiddelen voor eenmalig gebruik niet geschikt zijn om te herverwerken, wegens risico's zoals microbiologische besmetting en toxische reacties. Voor hulpmiddelen die wel herverwerkt kunnen worden, moet het maximale aantal herverwerkingscycli worden bepaald dat de hulpmiddelen kunnen ondergaan zonder afbreuk te doen aan prestatie en veiligheid. Zorginstellingen zijn verantwoordelijk voor de prestaties en veiligheid van herverwerkte hulpmiddelen en moeten daarom beschikken over een kwaliteitsmanagementsysteem en een systeem dat de traceerbaarheid van herverwerkte hulpmiddelen waarborgt (Uitvoeringsverordening (EU) 2020/1207). Het is belangrijk om te weten dat er in de diergeneeskunde minder regelgeving bestaat betreffende hergebruik van medische hulpmiddelen dan in de humane geneeskunde.

Het hergebruik van operatieschorten is duurzamer (Vozzola et al., 2020) en financieel voordeliger (Baykasoğlu et al., 2009) dan eenmalig gebruik van wegwerpschorten. Uit een studie van Vozzola et al. (2020), waarin ervan uitgegaan werd dat de herbruikbare schorten zestig keer gebruikt zouden worden alvorens te worden weggegooid, bleek dat herbruikbare operatieschorten een kleinere milieu-impact hebben dan wegwerpoperatieschorten. Het gebruik van herbruikbare operatieschorten in plaats van eenmalig gebruikte wegwerpoperatieschorten zou leiden tot een lager energieverbruik (64%), minder waterverbruik (83%), minder uitstoot van broeikasgassen (66%) en minder productie van vast afval (84%). Hergebruik biedt daarnaast een financieel voordeel. Baykasoğlu et al. (2009) voerden een kosten-batenanalyse uit, waarbij wegwerp- en herbruikbare operatieschorten en -doeken werden vergeleken in een Turks ziekenhuis. Uit deze studie bleek dat herbruikbare operatieschorten en -doeken goedkoper zijn. Een set met een herbruikbare schort en doek kost omgerekend 0,38 euro per gebruik (uitgaande van dertig keer gebruiken) en een wegwerpoperatieschort kost omgerekend 3,60 euro (hoge kwaliteit) tot 1,64 euro (medium kwaliteit). Echter, op andere criteria, zoals protectie (de mate van bescherming tegen microbiële penetratie en vocht) en comfort, scoorden wegwerpschorten en -doeken beter.

Naast het werken met herbruikbare materialen in operatiezalen worden in sommige gevallen ook wegwerpmaterialen opnieuw gesteriliseerd om ze te kunnen hergebruiken. Uit meerdere studies blijkt dat handsets van bipolaire “vessel sealing”-instrumenten

(zoals LigaSure®) meermaals veilig hergebruikt kunnen worden (Kuvaldina et al., 2018; Gardeweg et al., 2019). Ondanks bovenstaande vaststelling wordt slechts in 30% van de ziekenhuizen van National Health Service in het Verenigd Koninkrijk gebruik gemaakt van herbruikbare operatieschorten en is ook het hergebruik van wegwerpmateriaal in de geneeskunde beperkt (Textile Services Association, 2021).

Enquêtes die in de humane geneeskunde werden uitgevoerd om de barrières voor het hergebruik van materiaal in de gezondheidszorg te onderzoeken, tonen aan dat er de vrees bestaat voor onvoldoende steriliteit bij hergebruik (Harding, 2020). Daarnaast beschikt men niet altijd over de juiste apparatuur om te steriliseren. Immers, voor de sterilisatie van chirurgische instrumenten en medische hulpmiddelen die niet tegen de hitte en vochtigheid van een autoclaaf bestendig zijn (bijvoorbeeld endoscopen, chirurgische handvaten van rubber of plastic, elektrocauter, urinesondes, etc.) is een gassterilisator op basis van ethyleenoxide of waterstofperoxide gasplasma nodig (Verwilghen, 2018). Handvaten van metaal kunnen wel in een autoclaaf, alsook herbruikbare operatieschorten.

Tot op heden is er geen onderzoek gedaan naar de houding van dierenartsen tegenover verduurzaming in de operatiezaal. Voor deze studie is een enquête gemaakt om te peilen naar gebruiken in de dierenartsenpraktijk betreffende afvalsortering en hergebruik van materiaal. Daarnaast werd ook gepeild naar de houding van dierenartsen tegenover verduurzaming en mogelijke barrières die verduurzaming tegengaan. De doelgroep bestond uit Vlaamse praktiserende dierenartsen die in een operatiezaal ingrepen uitvoeren bij paarden en/of gezelschapsdieren.

## MATERIAAL EN METHODEN

De enquête, gemaakt met behulp van Google Forms, bestond uit 22 vragen, onderverdeeld in vijf secties: algemene informatie, afvalscheiding, hergebruik van materiaal, houding tegenover verduurzaming in de operatiezaal en tot slot houding tegenover duurzaamheid buiten het werk. Onder algemene informatie viel persoonlijke informatie (gender, eenmans- of groepspraktijk, diersoort waarbij de chirurgie wordt uitgevoerd, etc.). Er werd gevraagd of de dierenarts voornamelijk gezelschapsdieren (gedefinieerd als >80% gezelschapsdieren), voornamelijk paard (gedefinieerd als >80% paard) of gemengd (paard en gezelschapsdieren, paard en een andere diersoort) opereert. In de sectie over afvalsortering werd onder andere gevraagd met welke afvalstromen gewerkt wordt. In de sectie over hergebruik van materiaal werd voor specifieke materialen gevraagd of ze al dan niet gesteriliseerd worden door de dierenarts. In de sectie over houding tegenover verduurzaming werd onder

andere gevraagd hoe belangrijk verduurzaming wordt gevonden, wat daarvoor de redenen zijn en wat eventuele zorgen zijn aangaande hergebruik van materiaal. In de laatste sectie werd gepeild naar de mate waarin de dierenarts ook buiten het werk met duurzaamheid bezig is.

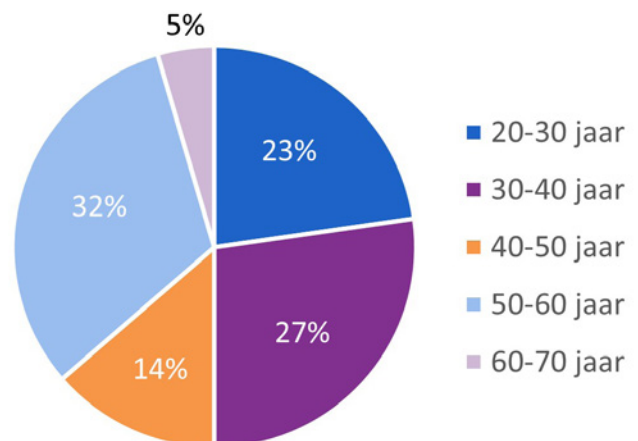
In oktober 2022 werd de enquête per email verstuurd door de Orde der Dierenartsen naar al haar leden. De enquête heeft twee maanden opengestaan. De antwoorden op de enquêtevragen werden verwerkt met data-analyse van Google Forms. Door de lage respons (22 respondenten) was het niet betrouwbaar om significante correlaties te berekenen. Wel werd op verkennende wijze gekeken naar verschillen in afvalsortering en hergebruik van materiaal tussen groepen respondenten (bijvoorbeeld man versus vrouw, groep die verduurzaming belangrijk vindt versus groep die dat niet vindt, etc.).

De volledige enquête is beschikbaar in de bijlage van de Masterproef Duurzaamheid in de operatiezaal: hoe ver staan we in de humane geneeskunde en de diergeneeskunde? (Haverkort, 2023).

## RESULTATEN

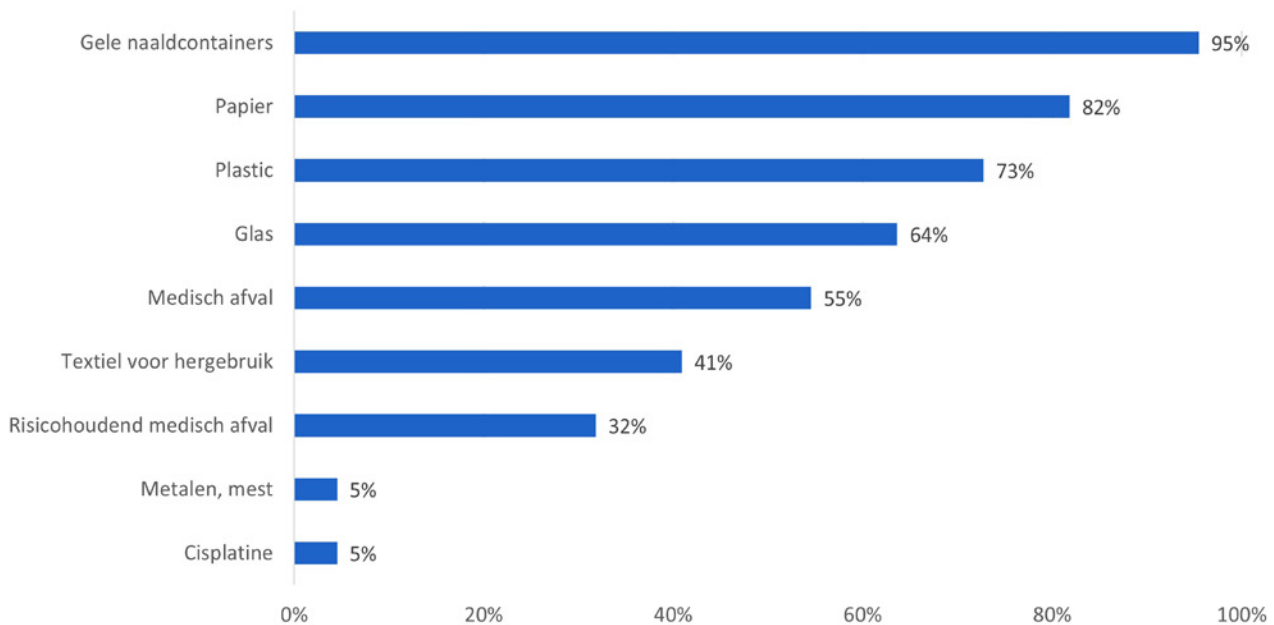
### Algemene informatie over de respondenten

In totaal waren er 22 respondenten, waarvan een duidelijke meerderheid vrouw (16/22, 73%). De leeftijdsverdeling wordt weergegeven in Figuur 1. De meeste respondenten waren 50-60 jaar, gevolgd door 30-40 jaar en 20-30 jaar. Geen van de respondenten was ouder dan 70 jaar. Twee derde van de dierenartsen zijn werkzaam in een groepspraktijk (dierenartsenpraktijk, dierenkliniek of dierenartsencentrum). Van de dierenartsen voert 82% (18/22) voornamelijk chirurgie uit bij gezelschapsdieren.



**Figuur 1.** Leeftijdsverdeling van de 22 respondenten van de enquête.





**Figuur 2.** Percentage dierenartsen dat een bepaalde afvalstroom hanteert in de operatiezaal (22 respondenten). Medisch afval is biologisch afval. Risicohoudend medisch afval kan een microbiologische of virale besmetting, een vergiftiging of een verwonding met zich meebrengen (voorbeelden: bloed, anatomisch afval, pathologisch afval). Cisplatine (in de enquête genoemd als antwoordoptie) is een cytostaticum voor de behandeling van sarcoïden.

### Afvalscheiding

De mate waarin de respondenten gebruik maken van verschillende afvalstromen naast restafval wordt weergegeven in Figuur 2. Meer dan 80% van de respondenten gebruikt de afvalstroom ‘papier’ en heeft gele naaldcontainers. Tussen de 50% en 80% van de respondenten sorteert daarnaast medisch afval, glas en plastic in gescheiden afvalstromen. Een minderheid van de respondenten (<50%) hanteert als afvalstromen textiel voor hergebruik, risicohoudend medisch afval, metalen, mest en chemotherapeutica, zoals cisplatine. Een volgende vraag was of de dierenartsen hard en zacht plastic apart scheiden, of als één afvalstroom weggooien. Vijfennegentig procent van de respondenten (21/22) gooit zowel hard als zacht plastic bij Plastic flessen en flacons, Metalen verpakkingen en Drinkkartons (PMD).

Om te kunnen inschatten hoe consequent de dierenartsen aan afvalscheiding doen, werden concrete vragen gesteld over het verschil tussen grote en kleine verpakkingen. Bij grote verpakkingen bestaande uit plastic en papier, zoals autoclaveringszakken, scheidt ca. 48% van de dierenartsen (10/21) ‘regelmatig’ het plastic en papier, terwijl ca. 33% (7/21) het ‘nooit’ doet (Figuur 3). Bij kleine verpakkingen, zoals de verpakking van een spuit, is de verhouding omgekeerd: 46% van de respondenten (10/22) scheidt het plastic en papier ‘nooit’, terwijl 32% (7/22) dit ‘regelmatig’ doet. Wat betreft dozen (lege kartonnen verpakkingen) worden grote dozen, bijvoorbeeld van spuiten, door ca. 91% van de dierenartsen (20/22) ‘regelmatig’ bij papierafval weggegooid (in plaats van restafval),

de overige dierenartsen doen dit ‘nooit’ (Figuur 4). Bij kleine papieren/kartonnen verpakkingen (die eveneens bij papierafval horen), van bijvoorbeeld een flesje medicatie, wordt iets minder correct aan afvalscheiding gedaan: ca. 82% van de dierenartsen (18/22) gaf aan dit ‘regelmatig’ weg te gooien bij papierafval.

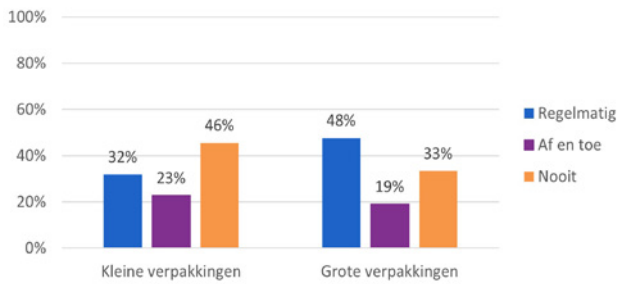
### Hergebruik van materiaal

De mate waarin medisch materiaal wordt gesteriliseerd en hergebruikt, wordt weergegeven in Figuur 5. De meest hergebruikte materialen zijn instrumenten voor elektrochirurgie en operatieschorten. Afdekdoeken en tafeldoeken worden daarentegen weinig hergebruikt. Spuiten worden door niemand hergebruikt.

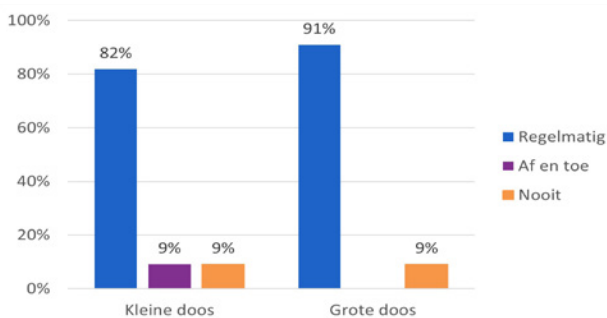
### Houding tegenover verduurzaming in de operatiezaal

In totaal gaf 86% van de dierenartsen (19/22) aan verduurzaming in operatiezalen belangrijk tot zeer belangrijk te vinden.

Indien de respondenten het belangrijk vinden om te verduurzamen, werd gevraagd waarom dit zo was (gesloten meerkeuzevraag). De antwoordopties waren ecologische en sociale redenen (antwoordoptie 1), financiële redenen (antwoordoptie 2) en redenen betreffende het imago van de praktijk (antwoordoptie 3). De ondervraagden mochten meerdere antwoordopties selecteren. De antwoorden worden weergegeven in Figuur 6. Alle respondenten duiden antwoordoptie 1 aan, die in de enquête als volgt werd geformuleerd: ‘Voor toekomstige generaties, tegen klimaatopwar-



**Figuur 3.** Mate waarin de respondenten (22) plastic en papier scheiden bij verschillende groottes verpakkingen. Een voorbeeld van een kleine verpakking is de verpakking van een spuit en een voorbeeld van grote verpakkingen zijn autoclaveringszakken.



**Figuur 4.** Mate waarin de respondenten (22) verschillende groottes kartonnen verpakkingen bij papierafval weggoeien. Een voorbeeld van een kleine verpakking is een kartonnen doosje van een flesje medicatie en een voorbeeld van een grote verpakking is een grotere kartonnen doos van spuiten.

ming, voor behoud van biodiversiteit, om de leefomgeving schoon te houden, voor onze gezondheid.' Iets meer dan de helft van de dierenartsen koos daarnaast antwoordoptie 2, geformuleerd als: 'Het is financieel gunstig voor de praktijk om minder te verspillen en meer te hergebruiken, zodat minder materiaal ingekocht hoeft te worden.' Slechts een minderheid koos antwoordoptie 3, namelijk: 'Het is goed voor het imago van de praktijk, klanten vinden verduurzaming belangrijk.'

Het is moeilijk te stellen of er een verschil is wat betreft afvalsortering tussen dierenartsen die verduurzaming van de operatiezaal belangrijk vinden of niet, gezien slechts drie respondenten aangaven dat ze duurzaamheid onbelangrijk vinden (1/22 respondenten) of er nog nooit over nagedacht hebben (2/22 respondenten).

Een volgende vraag was hoe belangrijk de dierenarts klimaatverandering vindt. Quasi alle respondenten (95%, 21/22) gaven aan dit 'zeer belangrijk' tot 'belangrijk' te vinden, net zoals de meesten het hergebruik van materialen in de operatiezaal (zeer) belangrijk vinden (91%, 20/22).

In figuur 7 worden de barrières weergegeven die de respondenten ondervinden betreffende verduurza-

ming in de operatiezaal. De meest genoemde zorgen zijn dat het materiaal niet steriel of hygiënisch genoeg is na hersterilisatie en dat het juiste toestel om bepaalde zaken te hersteriliseren niet aanwezig is. Slechts drie respondenten gaven aan dat ze geen zorgen hebben, wat betreft het hergebruik van materiaal.

Quasi alle respondenten (95%, 21/22) gaven aan het '(zeer) belangrijk' te vinden dat er aan afvalsortering wordt gedaan in de operatiezaal. Ook spreekt de meerderheid (ca. 59%, 13/22) van de respondenten wel eens met collega-dierenartsen of assistenten/paraveterinair over de hoeveelheid afval die geproduceerd wordt of over duurzaamheid in de operatiezaal. Op de vraag of ze wel eens een collega erop aanspreken als gezien wordt dat de collega niet correct afval scheidt, antwoordde 68% van de respondenten (15/22) dit wel eens te doen. Van de zeven dierenartsen die 'nee' antwoordden, gaven er vijf (ca. 71%) aan in een eenmanszaak te werken en dus geen collega's te hebben. Verder werd door twee van de zeven dierenartsen als reden opgegeven: 'Ik stoort mij wel aan incorrecte afvalscheiding, maar durf niet goed mijn collega aan te spreken.'

De volgende vraag was of de dierenarts wel eens verder informatie heeft opgezocht over hoe dierenartsen duurzamer kunnen werken in een operatiezaal, bijvoorbeeld artikelen over verduurzaming. Negen-tig procent van de respondenten doet dit niet. Van de ondervraagde dierenartsen is 41% (9/22) wel bereid om (met zijn/haar praktijk) deel te nemen aan een onderzoek over duurzaamheid in de operatiezaal, terwijl 23% (5/22) dit niet wil doen en 36% (8/22) erover twijfelt.

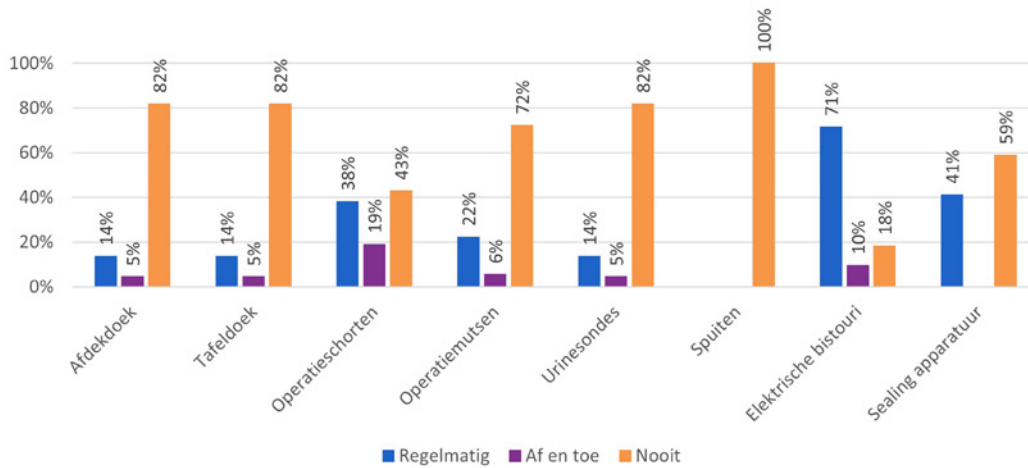
## Het privéleven

Op de vraag of de dierenarts zich in het privéleven bezighoudt met duurzaamheid (cf. afvalscheiding en minder afval produceren, bijvoorbeeld als gezin), antwoordde de meerderheid (59%, 13/22) dat ze dat doet. De rest antwoordde dat ze dat doet maar dat het beter kan (41%, 9/22). Niemand duidde de optie 'Nee' aan.

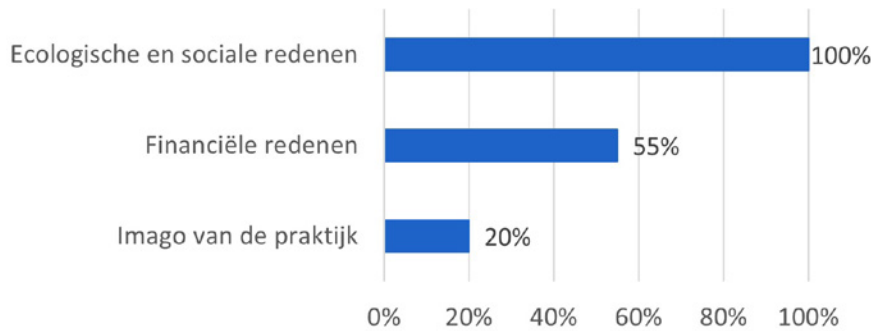
## DISCUSSIE

### Afvalsortering in veterinaire operatiezalen

De enquête toont aan dat Vlaamse dierenartsen duurzaamheid belangrijk vinden, in het bijzonder duurzaamheid in de operatiezaal. Ondanks het belang dat gehecht wordt aan duurzaamheid, is er nog veel ruimte voor verbetering op het gebied van afvalsortering. Enkel de gele naaldcontainers worden consequent door bijna alle respondenten (95%) gebruikt. Opvallend is dat afvalstromen, zoals papier, glas en textiel, die op basis van wetgeving door alle bedrijven in Vlaanderen moeten worden gehanteerd, toch door een groot aandeel van de bevroegde dierenartsen niet



**Figuur 5.** Mate waarin verschillende wegwerpmaterialen door de respondenten hergebruikt worden (22 respondenten voor afdekdoeken, tafeldoeken, urinesondes en spuiten; 21 respondenten voor operatieschorten en elektrische bistouri; 18 respondenten voor operatiemutsen; 17 respondenten voor “sealing”-apparatuur). Bij elektrische bistouri wordt aangegeven dat ook andere elektrochirurgische instrumenten zoals een elektrocauter of “sealing”-apparatuur (bijvoorbeeld LigaSure®) worden bedoeld.



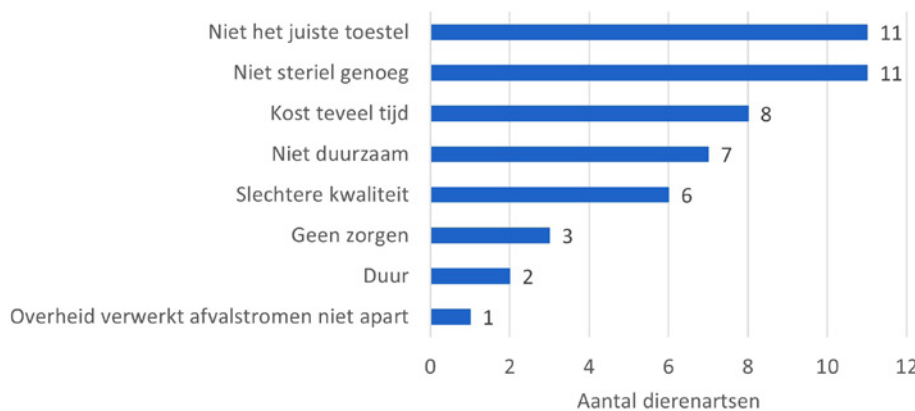
**Figuur 6.** Redenen waarom verduurzaming in de operatiezaal belangrijk gevonden wordt. Respondenten konden één of meer van de volgende drie antwoordopties aanduiden:

**Ecologische en sociale redenen:** ‘Voor toekomstige generaties, tegen klimaatopwarming, voor behoud van biodiversiteit, om de leefomgeving schoon te houden, voor onze gezondheid.’

**Financiële redenen:** ‘Het is financieel gunstig voor de praktijk om minder te verspillen en meer te hergebruiken, zodat minder materiaal ingekocht hoeft te worden.’

**Imago van de praktijk:** ‘Het is goed voor het imago van de praktijk, klanten vinden verduurzaming belangrijk.’

In de figuur wordt per antwoordoptie aangegeven hoe vaak die werd aangeduid.



**Figuur 7.** Zorgen die de 22 respondenten hebben over hergebruik van materiaal. De respondenten konden meerdere antwoordmogelijkheden kiezen. Met ‘niet het juiste toestel’ wordt bedoeld dat de respondent bijvoorbeeld geen gassterilisator heeft. Met ‘niet duurzaam’ wordt bedoeld dat het sterilisatieproces ook energie kost. Onder kwaliteit valt ook de gebruiksvriendelijkheid.



consequent worden gebruikt. In Vlaanderen geldt het *Vlaams Reglement betreffende het duurzaam beheer van materiaalringlopen en afvalstoffen* (VLAREMA, artikel 4.3.2). Dit is een regelgevend kader dat Vlaamse bedrijven verplicht om afval te sorteren, waarbij 24 afvalstromen minimaal gehanteerd moeten worden. Ook dierenartspraktijken vallen onder deze regelgeving en zouden dus verplicht onder andere papier, PMD, glas en textiel moeten sorteren. Het is noemenswaardig dat deze wetgeving dateert van 2012 (weliswaar met minder afvalstromen; sinds 2024 zijn er 24 afvalstromen met als laatste twee toegevoegde afvalstromen keukenafval en etensresten). De voor dierenartspraktijken meest relevante afvalstromen zijn dus al jarenlang verplicht, maar toch wordt dit door velen niet geleefd.

De selectieve inzameling van niet-risicohoudend medisch afval levert op het vlak van verduurzaming niet veel op, gezien dit, net als restafval, verbrand wordt. Risicohoudend medisch afval bestaat uit afvalstoffen die een microbiologische of virale besmetting, een vergiftiging of een verwonding met zich mee kunnen brengen. Voorbeelden zijn bloed, anatomisch afval en pathologisch afval. Het apart ophalen van risicohoudend medisch afval is eerder van belang vanuit veiligheidsoverwegingen en niet vanwege duurzaamheid, want ook risicohoudend medisch afval wordt in veel gevallen verbrand. Mogelijke redenen waarom risicohoudend medisch afval vaak bij restafval wordt weggegooid, zijn het gebrek aan prioriteit, motivatie of gevoel van urgentie, gebrek aan controle van afvalsortering, gebrek aan kennis over het belang van correcte afvalscheiding en over wat bij risicohoudend medisch afval weggegooid moet worden, en onvoldoende faciliteiten zoals containers voor de verschillende afvalstromen (Azouz, 2019; Duong, 2023; McGain, 2012). De reden waarom chemotherapie zoals cisplatine quasi niet als aparte afvalstroom wordt aangeduid, is vermoedelijk omdat deze producten door veel van de respondenten niet worden gebruikt.

Belangrijk om te vermelden is dat plastic op zich eigenlijk geen aparte afvalstroom is. In de volksmond wordt dit vaak zo genoemd (ook in de enquête), maar plastic wordt in Vlaanderen ingezameld bij de afvalstroom Plastic flessen en flacons, Metalen verpakkingen en Drankkartons (PMD). Hierbij wordt geen onderscheid gemaakt tussen de verschillende soorten plastic, hoewel bepaalde materialen, zoals harde kunststoffen, bijvoorbeeld emmers, niet bij PMD mogen. Er bestaan veel verschillende soorten plastic, ook onder operatie-afval. Voorbeelden zijn polyethyleen (over het algemeen goed recycleerbaar), polypropyleen (recycleerbaar), polyvinylchloride (bijvoorbeeld intraveneuze buizen en zakken, kan moeilijk recycleerbaar zijn), polystyreen (kan gerecycleerd worden, maar is niet evident wegens additieven) en gemengd plastic (kan recyclageprocessen bemoeilijken).

De resultaten suggereren dat bij een grotere ver-

pakking correcter aan afvalscheiding wordt gedaan dan bij een kleinere verpakking. Ook uit de enquête van Nemat et al. (2020) in vijftien huishoudens in een Zweedse stad bleek dat kleinere, kartonnen verpakkingen van yoghurt en room vaker incorrect bij restafval worden weggegooid dan grotere, kartonnen verpakkingen. Het is echter moeilijk met zekerheid te stellen dat er sprake is van een correlatie tussen de grootte van een verpakking en de correctheid van afvalsortering, omdat ook andere factoren dan de grootte een rol zouden kunnen spelen in het al dan niet correct sorteren, zoals beschikbaarheid van sorteerfaciliteiten, het op een bepaalde manier omgaan met afval uit culturele gewoonte, tijdsdruk en kennis (beschikbaarheid van informatie).

### Praktijken betreffende sterilisatie en hergebruik

Om de diergeneeskundige praktijken betreffende hergebruik, die uit de enquête naar voren komen, te kaderen, is het nodig de context te schetsen. In de jaren 1950 begon zowel in de humane geneeskunde als in de diergeneeskunde een evolutie, waarbij meer en meer wegwerpmaterialen (plastic) gebruikt werden (Greene, 1986). Dit had ook een duidelijke impact op de milieubelastende afvalberg en om die reden is het nuttig het hergebruik van wegwerpmateriaal (zorgvuldig) te heroverwegen (Gautam en Sahney, 2020). In de literatuurstudie van Gautam en Sahney (2020) worden de perceptie van artsen, chirurgen en patiënten, en de gebruiken betreffende hergebruik van wegwerpmateriaal in verschillende landen wereldwijd, in beschouwing genomen. Uit hun onderzoek blijkt dat een vast protocol nodig is met voorschriften betreffende hersterilisatie van medische hulpmiddelen voor eenmalig gebruik en dat interprofessionele samenwerking van belang is om dit op een veilige manier te doen. Uit een enquête van Grantcharov et al. (2018) bleek dat 77% van de ondervraagden zich er niet van bewust was dat er richtlijnen bestaan voor het hergebruik van wegwerpmateriaal. Niet alleen in de Verenigde Staten bestaan deze richtlijnen, in de Europese Unie geldt de *Uitvoeringsverordening (EU) 2020/1207 over herverwerking van hulpmiddelen voor eenmalig gebruik (2020)*.

Uit de enquête van het voorliggende onderzoek blijkt dat alleen handvaten van elektrochirurgische toestellen (elektrische bistouri of “vessel sealing devices” zoals LigaSure® of Enseal®) door de meeste respondenten regelmatig worden gehersteriliseerd, maar alle andere materialen worden vrijwel nooit hergebruikt. Handvaten van elektrochirurgische toestellen zijn veel duurder dan ander wegwerpmateriaal zoals een operatieschort, wat zou kunnen verklaren waarom deze handvaten vaker hergebruikt worden.

Wat betreft wegwerpoperatieschorten blijkt uit de enquête dat de meeste respondenten deze regelmatig of af en toe hergebruiken. Dit biedt perspectief. Wegwerpoperatieschorten worden meestal gemaakt van Spun-

bond Meltblown Spunbond (SMS), een “non-woven” materiaal (gemaakt uit polypropyleen) (Ajmeri en Joshi, 2011). “Non-woven” materialen staan erom bekend dat het wegwerpmaterialen zijn. Derhalve wordt er ook niet vermeld hoe vaak een wegwerperatieschort potentieel veilig hergebruikt zou kunnen worden. Herbruikbare operatieschorten worden meestal gemaakt van katoen, polyester of een combinatie van polyester en katoen (Ajmeri en Joshi, 2011). Er is op dit moment slechts weinig objectieve, up-to-date informatie over de haalbaarheid van het steriliseren van operatieschorten (zowel wegwerperoperatieschorten als operatieschorten bedoeld voor hergebruik), en de vrees voor onvoldoende hygiëne (gebrekkige steriliteit na hersterilisatie) zou moeten kunnen bevestigd of weerlegd worden door middel van objectieve studies. In literatuuroverzichten worden regelmatig minder recente studies aangehaald, die gebaseerd zijn op materialen die destijds werden gebruikt voor herbruikbare schorten, maar die inmiddels verbeterd zijn (Overcash, 2012). Uit meerdere onderzoeken blijkt dat eenmalig gebruikte wegwerpschorten betere protectie bieden tegen bloed en bacteriële penetratie dan herbruikbare schorten (Rutala en Weber, 2001). Echter, in een studie van McQuerry et al. (2021) waarin eenmalig gebruikte wegwerpschorten met herbruikbare schorten vergeleken werden, werd vastgesteld dat herbruikbare schorten betere protectie bieden.

Naast de keuze tussen herbruikbare operatieschorten en eenmalig gebruik van wegwerperoperatieschorten kan men ook de vraag stellen of wegwerpschorten op een veilige manier gesteriliseerd en hergebruikt kunnen worden. In een pilootstudie van Beekhuis (2023) werd aangetoond dat een wegwerperoperatieschort minstens drie keer hergebruikt kan worden na hersterilisatie in een autoclaaf, met behoud van bacteriële bescherming.

### Houding en zorgen van dierenartsen

Zoals uit de enquêteresultaten blijkt, vinden de meeste dierenartsen verduurzaming van de werking van de operatiezaal en klimaatverandering zeer belangrijk. De meerderheid van de respondenten heeft hier ecologische, sociale en financiële redenen voor.

Hergebruik van materiaal wordt door de meeste dierenartsen belangrijk tot zeer belangrijk gevonden. Dit staat in contrast met het feit dat de respondenten de meeste materialen niet hersteriliseren. Een verklaring hiervoor is vooral de perceptie dat hersterilisatie niet hygiënisch genoeg zou zijn en het feit dat de meeste respondenten niet het juiste toestel hebben voor hersterilisatie. Ook uit een onderzoek van Harding (2020) bleek dat er onder ziekenhuispersoneel zorgen bestaan over de steriliteit van materiaal na hersterilisatie. Echter, uit kwantitatief onderzoek blijkt dat wegwerp-sfincterotomen (i.e. instrumenten gebruikt om een sluitspier (sfincter) in te snijden), veilig hergebruikt zouden kunnen worden (Kozarek et al., 1997).

Op met  $10^5$  tot  $10^6$  *Mycobacterium chelonae* gecontamineerde sfincterotomen werden na sterilisatie met ethyleenoxide geen residuele organismen aangetroffen en na acht keer gebruiken bleef 70% van de sfincterotomen intact.

In een studie van Kuvaldina et al. (2018) werd de invloed van het meermaals hergebruik en het hersteriliseren van een bipolair “vessel sealing”-instrument (LigaSure<sup>®</sup>) bedoeld als wegwerpmateriaal, onderzocht. Er werd geconcludeerd dat LigaSure<sup>®</sup> handsets vanaf tien cycli van hersterilisatie en hergebruik falen door een minder goede weefselappositie. Bij een beperkt aantal cycli van hersterilisatie en hergebruik bereiken bipolaire “vessel sealing”-wegwerpinstrumenten (LigaSure<sup>®</sup> en Caiman<sup>®</sup>) een vergelijkbare barstdruk, i.e. de druk die gefuseerde renale arteriën kunnen weerstaan voordat ze openbarsten, als instrumenten bedoeld voor hergebruik (zoals de herbruikbare MarSeal<sup>®</sup>) (Gardeweg et al., 2019). Uit deze studies kan geconcludeerd worden dat dierenartsen op een veilige manier meermaals bipolaire “vessel sealing”-instrumenten kunnen hergebruiken; uit de voorliggende enquête blijkt dat de meeste dierenartsen dit al doen.

Een minderheid van de respondenten gaf als zorgen betreffende hersterilisatie aan: ‘Het kost (te) veel tijd’, ‘Het is niet duurzaam om materialen opnieuw te steriliseren, bijvoorbeeld omdat het sterilisatieproces ook energie kost’ en ‘De kwaliteit/gebruiksvriendelijkheid van het materiaal vermindert’. De reden dat hersterilisatie te veel tijd zou kosten, kan weerlegd worden met de studie van Baykasoğlu et al. (2009), die in hun vergelijking van wegwerpschorten met herbruikbare schorten ook de werktijd mee in rekening namen. De tijd besteed aan hersterilisatie (als kostenelement, waarbij rekening werd gehouden met zowel werktijd als uurloon) bleek slechts een relatief klein deel (kostenpercentage van 13,7%) van de totale kosten van herbruikbare operatieschorten en -doeken. Voor wegwerpschorten wordt uiteraard geen werktijd besteed aan hersterilisatie, maar de aankoopprijs is dermate hoger, dat de totale kosten van wegwerpschorten ruim viermaal (medium kwaliteit wegwerpschorten) tot tienmaal (hoge kwaliteit wegwerpschorten) zo hoog zijn als die van herbruikbare schorten. De vrees dat hersterilisatie niet duurzaam is, wordt in een studie van Overcash (2012) weerlegd. De voordelen van herbruikbare operatieschorten en -doeken zijn minder verbruik van energie en water, een kleinere CO<sub>2</sub>-voetafdruk en minder productie van vast afval (Overcash, 2012). Wegwerperoperatieschorten en -doeken verbruiken 200-300% meer energie en 250-300% meer water dan operatieschorten en -doeken van herbruikbaar textiel. Ook heeft wegwerpmateriaal een CO<sub>2</sub>-voetafdruk die 200-300% groter is en leidt het tot de productie van 750% meer vast afval dan bij hergebruik (320 kg vast afval per 1000 keer gebruik maken van wegwerpschorten ten opzichte van 38 kg vast afval per 1000 keer gebruik maken van herbruikbare schorten) (Overcash,

2012). Een kritische kanttekening zou geplaatst kunnen worden bij de levensduur van 1000 hergebruikscycli van herbruikbare operatieschorten. Dit lijkt onwaarschijnlijk hoog in vergelijking met een studie van Harding et al. (2020) waarin uitgegaan wordt van bijvoorbeeld 60 cycli. De genoemde voordelen van herbruikbare schorten gelden niet op het niveau van de individuele dierenarts (hij/zij verbruikt immers energie bij hersterilisatie van de operatieschorten), maar op het niveau van de hele productieketen (waarbij de productie van vele wegwerpschorten milieubelastend is). De vrees dat de kwaliteit/gebruiksvriendelijkheid van wegwerpmateriaal na hersterilisatie achteruitgaat, is in sommige gevallen terecht. Zo blijkt uit een studie van Granados et al. (2001) dat wegwerpkatheters na hersterilisatie stijver worden en het oppervlak ruwer.

In de voorliggende enquête werden ook de kosten van het sterilisatieproces als zorg genoemd in het kader van hergebruik van materiaal. Uit de literatuur blijkt echter dat het goedkoper is om materiaal te hergebruiken. Zo voerden Adler et al. (2005) een kwantitatieve studie uit in een ziekenhuis met 255 procedures per jaar waarbij gedurende vijf jaar de milieupact werd vergeleken tussen wegwerp en herbruikbare laparoscopische instrumenten. Er werd over die tijdspanne 812 kg afval gegenereerd door wegwerpinstrumenten. Het uitvoeren van een laparoscopische cholecystectomie met wegwerpinstrumenten is 19 keer zo duur als met herbruikbare instrumenten, een verschil dat voornamelijk wordt veroorzaakt door de aankooprijzen. Het is echter moeilijk om algemene conclusies te trekken, omdat de kosten verschillen per product en ook afhankelijk zijn van bijvoorbeeld de energieprijzen.

De huidige studie heeft echter enkele beperkingen. Allereerst zou een grotere groep respondenten een representatiever en waarheidsgetrouwer beeld hebben gegeven van de Vlaamse praktiserende dierenartsen. Bovendien kan er sprake zijn van een bias die wordt geïntroduceerd door zelfselectie van respondenten, waarbij alleen degenen die al geïnteresseerd zijn in duurzaamheid op de enquête antwoordden.

Een andere beperking is dat in de enquête enkel het onderscheid gemaakt werd tussen hard en zacht plastic en dit niet verder werd opgesplitst in bijvoorbeeld polyethyleen, polypropyleen, polyvinylchloride, polystyreen en gemengd plastic, die een verschillende recycleerbaarheid hebben. De vraag kan echter gesteld worden of de respondenten zelf het verschil zouden kennen tussen de verschillende soorten plastic, wat de resultaten mogelijk weinig betrouwbaar zou maken.

In het algemeen waren sommige antwoorden moeilijk te interpreteren, wat vermeden had kunnen worden door een betere analyse van de vragen voordat de enquête gedeeld werd. Een voorbeeld is de vraag betreffende het aanspreken van collega's op het incorrect scheiden van afval, waarop 32% 'Nee' heeft

geantwoord. Echter, 36% van de respondenten heeft geen collega's. Het is dus onmogelijk om te zeggen of de 32% die 'Nee' antwoordden, geen collega's heeft of dat ze hun collega's inderdaad niet op incorrecte afvalscheiding zouden wijzen.

### Aanbevelingen voor verduurzaming

Op basis van deze studie kunnen meerdere aanbevelingen gemaakt worden tot verduurzaming van de operatiezaal. Dierenartsen zouden correcter afval moeten scheiden en meer afvalstromen moeten hantieren. Naast restafval zou nog meer gebruik moeten gemaakt worden van de afvalstromen PMD (waaronder verschillende soorten plastic vallen), glas, medisch afval en textiel voor hergebruik, zoals voor Vlaamse bedrijven verplicht wordt in het *Vlaams Reglement betreffende het duurzaam beheer van materiaalkringlopen en afvalstoffen*, artikel 4.3.2 (2024).

Ook op het gebied van hergebruik van materiaal zijn er mogelijkheden tot verbetering. Materialen die vaker gehersteriliseerd zouden kunnen worden, zijn onder andere operatiedoeken, -schorten en -mutsen, urinesondes en "sealing"-apparatuur. Er kan een onderscheid gemaakt worden tussen het hersteriliseren van herbruikbare materialen en het hersteriliseren van wegwerpmateriaal. In de toekomst moet verder onderzoek gedaan worden naar het hersteriliseren van wegwerpmateriaal. Daarnaast kan onderzocht worden in welke mate de mogelijkheden betreffende hersterilisatie van operatieschorten verschillen van hersterilisatie van operatiedoeken, gezien bij operatieschorten vaak sprake is van minder bloedcontaminatie dan bij operatiedoeken en bloedcontaminatie een belemmering vormt in het sterilisatieproces.

Wat betreft de houding van dierenartsen tegenover afvalscheiding en hergebruik is educatie van belang om dierenartsen bewuster te maken van de nood aan verduurzaming en om bepaalde zorgen (zoals de onnodige vrees voor gebrekkige steriliteit) weg te nemen.

Wegens de beperkte literatuur over verduurzaming in de diergeneeskunde, werd voor deze studie vooral humane literatuur geraadpleegd. Studies in de diergeneeskunde zouden echter nuttig zijn om concretere aanbevelingen voor verduurzaming te kunnen doen. Vervolgonderzoeken betreffende de reductie van diergeneeskundig operatieafval door maatregelen die voor betere afvalsortering en meer hergebruik zorgen, zouden dus interessant zijn. Interventiestudies waarbij een bepaalde barrière (zoals gebrek aan kennis over wat er al dan niet gerecycleerd kan worden, of de vrees dat hersterilisatie niet steriel genoeg is) weggenomen wordt, zouden namelijk kunnen tonen hoe efficiënt een bepaalde maatregel in de diergeneeskundige praktijk is. Zo zouden maatregelen ingesteld kunnen worden die aansluiten bij bovengenoemde aanbevelingen.



## CONCLUSIE

Uit de enquête kan geconcludeerd worden dat dierenartsen duurzaamheid in de operatiezaal belangrijk vinden, maar dat er nog onvoldoende naar gehandeld wordt. Op basis van de barrières die uit de enquête naar voren komen, kunnen meerdere aanbevelingen voor verduurzaming worden opgesteld. Ten eerste een correctere afvalsortering, zodat meer gerecycleerd kan worden. Ten tweede meer hergebruik van materiaal om de hoeveelheid afval te reduceren. Ten derde educatie om kennis en bewustwording te verhogen. Er zijn nog meer data en onderzoek in de diergeneeskunde nodig om betrouwbare richtlijnen voor verduurzaming in de operatiezaal te bekomen.

## LITERATUUR

- Adler S., Scherrer M., Rückauer K.D., Daschner F.D. (2005). Comparison of economic and environmental impacts between disposable and reusable instruments used for laparoscopic cholecystectomy. *Surgical Endoscopy* 19, 268-272.
- Ajmeri J.R., Joshi A.C. (2011). Nonwoven materials and technologies for medical applications. In: Bartels V.T. (editor). *The textile institute. Handbook of Medical Textiles*. First edition, Woodhead Publishing, Cambridge, 106-131.
- Azouz S., Boyll P., Swanson M., Castel N., Maffi T., Rebecca A.M. (2019). Managing barriers to recycling in the operating room. *The American Journal of Surgery* 217, 634-638.
- Babu M.A., Dalenberg A.K., Goodsell G., Holloway A.B., Belau M.M., Link M.J. (2019). Greening the operating room: results of a scalable initiative to reduce waste and recover supply costs. *Neurosurgery* 85, 432-437.
- Baykasoğlu A., Dereli T., Yilankırkan N. (2009). Application of cost/benefit analysis for surgical gown and drape selection: A case study. *American Journal of Infection Control* 37, 215-226.
- Beekhuis I. (2023). Duurzaamheid in de operatiezaal: hoe vaak kan men een single-use operatieschort hergebruiken met behoud van bacteriële bescherming? *Masterproef, Master of Veterinary Medicine in de Diergeneeskunde*, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, België.
- Duong D. (2023). Improper disposal of medical waste costs health systems and the environment. *Canadian Medical Association Journal* 195, 518-519.
- Europese Unie (2020). Uitvoeringsverordening (EU) 2020/1207 van de Commissie van 19 augustus 2020 tot vaststelling van bepalingen ter uitvoering van Verordening (EU) 2017/745 van het Europees Parlement en de Raad wat betreft gemeenschappelijke specificaties voor de herverwerking van hulpmiddelen voor eenmalig gebruik.
- Gardeweg S., Bockstahler B., Duprè G. (2019). Effect of multiple use and sterilization on sealing performance of bipolar vessel sealing devices. *Plos ONE* 14, 0221488.
- Gautam D., Sahney R. (2020). Reprocessing and Reuse of single-use medical devices and the role of Interprofessional collaboration: a literature review. *Current Medicine Research and Practice* 10, 70-74.
- Granados D.L., Jiménez A., Cuadrado T.R. (2001). Assessment of parameters associated to the risk of PVC catheter reuse. *Journal of Biomedical Materials Research* 58, 505-510.
- Grantcharov P., Ahmed S., Wac K., Rivas H. (2018). Reprocessing and reuse of single-use medical devices: perceptions and concerns of relevant stakeholders toward current practices. *International Journal of Evidence-Based Healthcare* 17, 53-57.
- Greene V.W. (1986). Reuse of disposable medical devices: historical and current aspects. *Infection Control* 7, 508-513.
- Hancock T. (2001). *Doing Less Harm: Assessing and Reducing the Environmental and Health Impact of Canada's Health Care System*. Branchton, Ontario, Canada. Canadian Coalition for Green Health Care.
- Harding C. (2020). *Verduurzaming van het Operatiekwartier*. Masterthesis, Master Productontwikkeling, Faculteit Ontwerpwetenschappen, Universiteit Antwerpen, België.
- Haverkort T. (2023). *Duurzaamheid in de Operatiezaal: hoe ver staan we in de humane geneeskunde en de diergeneeskunde?* Masterproef, Master of Veterinary Medicine in de Diergeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, België. Te raadplegen op [https://libstore.ugent.be/fulltxt/RUG01/003/145/070/RUG01-003145070\\_2023\\_0001\\_AC.pdf](https://libstore.ugent.be/fulltxt/RUG01/003/145/070/RUG01-003145070_2023_0001_AC.pdf)
- Kagoma Y., Stall N., Rubinstein E., Naudi D. (2012). People, planet and profits: the case for greening operating rooms. *Canadian Medical Association Journal* 184, 1905-1911.
- Kozarek R.A., Sumida S.E., Raltz S.L., Merriam L.D., Iriazary D.C. (1997). In vitro evaluation of wire integrity and ability to reprocess single-use sphincterotomes. *Gastrointestinal Endoscopy* 45, 117-121.
- Kuvaldina A., Hayes G., Sumner J., Behling-Kelly E. (2018). Influence of multiple reuse and resterilization cycles on the performance of a bipolar vessel sealing device (LigaSure) intended for single use. *Veterinary Surgery* 47, 951-957.
- Lui J.T., Rudmik L., Randal D. (2014). Reducing the preoperative ecological footprint in otolaryngology. *Otolaryngology – Head and Neck Surgery (United States)* 151, 805-810.
- McGain F., White S., Mossenson S., Kayak E., Story D. (2012). A survey of anesthesiologists' views of operating room recycling. *Anesthesia & Analgesia*. 114, 1049-1054.
- McKendrick D.R., Snedden L.J., Bunch R., McGregor H. (2017). Pragmatic recycling of paper and cardboard in the operating theatre: an audit. *Journal of Perioperative Practice* 27, 43-49.
- McQuerry M., Easter E., Cao A. (2021). Disposable versus reusable medical gowns: A performance comparison. *American journal of infection control* 49, 563-570.
- Nemat B., Razzaghi M., Bolton K., Rousta K. (2020). The potential of food packaging attributes to influence consumers' decisions to sort waste. *Sustainability* 12, 2234.
- Overcash M. (2012). A Comparison of reusable and disposable perioperative textiles. *Anesthesia & Analgesia* 114, 1055-1066.
- Rutala W.A., Weber D.J. (2001). A Review of single-use and reusable gowns and drapes in health care. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 22, 248-257.
- Stall N.M., Kagoma Y.K., Bondy J.N., Naudie D. (2013). Surgical waste audit of 5 total knee arthroplasties. *Canadian Journal of Surgery* 56, 97-102.

Textile Services Association (2021). *The Case for Reusable Gowns 3.0*.

Tieszen M.E., Gruenberg J.C. (1992). A quantitative, qualitative, and critical assessment of surgical waste. *Journal of the American Medical Association* 267, 2765.

US Environmental Protection Agency (2009). Inventory of US greenhouse gas emissions and sinks: 1990–2007 (The Agency, Washington) EPA 430-R-09-004.

Vlaamse Overheid (2024). Vlaams Reglement betreffende het duurzaam beheer van materiaalcringlopen en afvalstoffen. Artikel 4.3.2. Geraadpleegd op 9 januari 2024 van <https://navigator.emis.vito.be/detail?wold=44296>

Verwilghen D. (2018). Instrument preparation, antisepsis, and disinfection. In: Auer J.A., Stick J.A. (editors). *Equine*

*Surgery*. Fifth edition, Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, p. 132.

Vozzola E., Overcash M., Griffing E. (2020). An environmental analysis of reusable and disposable surgical gowns. *Association of Perioperative Registered Nurses Journal* 111, 315- 325.



© 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/>).

## Vind de juiste werker voor je bedrijf

[www.mediaservice.be](http://www.mediaservice.be)

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



1294/BM/00133 © SHUTTERSTOCK

**Mediaservice**   
gericht adverteren

## Septische peritonitis bij hond en kat – Deel 1: Classificatie, klinische presentatie en diagnostiek

### *Septic peritonitis in dogs and cats – Part 1: Classification, clinical presentation and diagnostics*

<sup>1</sup>D. Castelain, <sup>2</sup>D. Paepe, <sup>3</sup>M. Doom, <sup>4</sup>M. Dekkers, <sup>2</sup>H. de Rooster

<sup>1</sup> Vakgroep Interne Geneeskunde, Voortplanting en Populatiegeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9000 Gent

<sup>2</sup> Vakgroep Kleine Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9000 Gent

<sup>3</sup> Gents Universiteitsmuseum (GUM), Universiteit Gent, Ledeganckstraat 35, B-9000 Gent

<sup>4</sup> Vakgroep Morfologie, Beeldvorming, Orthopedie, Revalidatie en Voeding, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9000 Gent

Hilde.derooster@ugent.be

## SAMENVATTING

Bij honden en katten is peritonitis niet alleen een potentiële postoperatieve complicatie, maar ook een frequente indicatie voor abdominale chirurgie. Bijgevolg kan een dierenarts onder tal van omstandigheden worden geconfronteerd met gevallen van peritonitis. Klinische tekenen en afwijkingen op bloedonderzoek zijn vaak specifiek. Medische beeldvorming, veelal echografie, kan de klinische diagnose ondersteunen en helpen bij het identificeren van de onderliggende oorzaak. Analyse van het abdominale vocht, verkregen door abdominocentese, kan helpen om het onderscheid te maken tussen aseptische en septische peritonitis. Gedegenererde neutrofielen met intracellulaire bacteriën op cytologisch onderzoek, een lage pH, alsook een verschil in glucose- en lactaatconcentraties tussen het vocht en bloed, zijn indicatief voor een septisch exsudaat. Bacteriologische cultuur van het vocht blijft echter de gouden standaard voor de definitieve diagnose.

## ABSTRACT

In dogs and cats, peritonitis is not only a potential postoperative complication but also a frequent indication for abdominal surgery. Therefore, a veterinarian may be faced with the treatment of peritonitis under numerous circumstances. Clinical signs and abnormalities in bloodwork are often nonspecific. Medical imaging, usually ultrasound, can support clinical diagnosis and help identify the underlying cause. Analysis of abdominal fluid, obtained by abdominocenteses, can help in distinguishing between aseptic and septic peritonitis. Detection of degenerated neutrophils with intracellular bacteria on cytology, low pH, as well as differences in glucose and lactate concentrations between the fluid and blood, are indicative of a septic exudate. However, bacterial culture of the fluid remains the gold standard for definitive diagnosis.

## INLEIDING

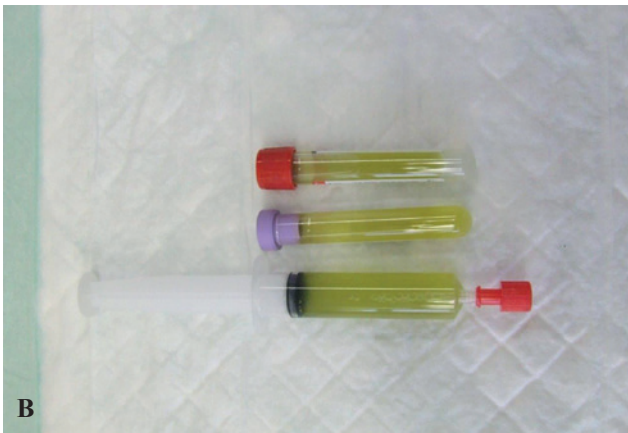
Aan de hand van twee artikels zal een praktijkgericht overzicht gegeven worden van de huidige kennis over septische peritonitis bij hond en kat. In het eerste

deel wordt een overzicht gegeven van de classificatie en pathofysiologie van peritonitis. Daarna wordt dieper ingegaan op de klinische presentatie en diag-





A



B

**Figuur 1. A.** Bij katten kan primaire peritonitis optreden onder de vorm van feliene infectieuze peritonitis (FIP). De humorale afweerreacties van het lichaam op het FIP-virus kunnen leiden tot vasculitis waarbij de ‘natte vorm’ van FIP ontstaat. **B.** Bij aantasting van het buikvlies ontwikkelen de katten een opgezette buik waaruit felgeel, dradentrekend vrij buikvocht kan worden geaspireerd.

**Tabel 1. Classificatie van peritonitis.**

Classificatie	Subclassificatie	Bron van contaminatie	
Primaire peritonitis	Aseptisch	Mechanisch	Iatrogeen
		Granulomateus	
	Scleroserend	Chemisch	
		Endogene steriele vloeistoffen (gal, urine) of exogene chemische bron	
Secundaire peritonitis	Sceptisch	Gastro-intestinaal stelsel	Iatrogeen
		Urinewegen	
	Reproductiestelsel		
Exogene omgeving	Hepatobiliair systeem	Verandering in permeabiliteit van de orgaanwand (meestal darm of uterus)	
	Pancreas		
		Penetrerend trauma	

nostiek van septische peritonitis. In een vervolgartikel zullen de behandeling en prognose van septische peritonitis besproken worden.

## DEFINITIE EN CLASSIFICATIE VAN PERITONITIS

Peritonitis is een ontsteking van het buikvlies en de abdominale organen. Gerapporteerde sterftcijfers bij honden en katten variëren tussen de 57% en 76%, met weinig verbetering over de laatste jaren, ondanks de vooruitgang in de diagnosestelling en therapie (Cortellini et al., 2015; Dickinson et al., 2015; Bush et al., 2016; Scotti et al., 2019; Anderson et al., 2021; Statsny et al., 2022; Shipov et al., 2022; Uetsu et al., 2022). Septische peritonitis, namelijk peritonitis door een infectie, kan leiden tot sepsis met multi-orgaan-dysfunctiesyndroom en septische shock (Cortellini et al., 2015).

Peritonitis kan worden ingedeeld als primair of secundair, aseptisch of septisch, gelokaliseerd of generaliseerd (Tabel 1).

### Primaire of spontane peritonitis

Primaire of spontane peritonitis wordt gedefinieerd als een ontsteking van het buikvlies in afwezigheid van een duidelijke intra-abdominale bron van besmetting en zonder voorgeschiedenis van een penetrerend letsel. Deze aandoening is vaak gelinkt aan verminderde immuniteit (Swann en Hughes, 2000; Culp et al., 2009). Primaire peritonitis is zeldzaam bij honden, maar komt af en toe voor bij katten. Bij katten kan primaire peritonitis optreden onder de vorm van feliene infectieuze peritonitis (FIP) of zonder identificeerbare onderliggende oorzaak (Swann en Hughes, 2000; Costello et al., 2004; Scotti et al., 2019; Anderson et al., 2021) (Figuur 1).

## Secundaire peritonitis

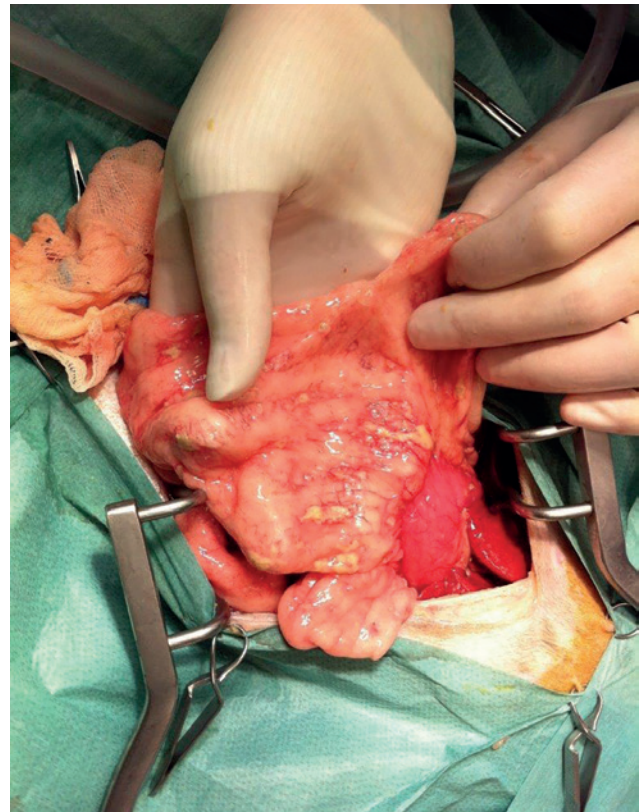
Bij honden en katten komt secundaire peritonitis veel meer voor en is geassocieerd met een reeds bestaande abdominale aandoening (Swann en Hughes, 2000; Culp en Holt, 2010). De ontsteking kan zowel aseptisch (steriel) of septisch zijn. Veel voorkomende oorzaken zijn een penetrerende abdominale wonde, ruptuur van een hol orgaan of chirurgische contaminatie (McGrotty en Doust, 2004).

### Secundaire aseptische peritonitis

Secundaire aseptische peritonitis kan verder worden onderverdeeld in mechanische, granulomateuze, chemische en scleroserende peritonitis. Alle abdominale operaties resulteren per definitie in aseptische peritonitis door blootstelling van het mesothelium aan lucht of uitdroging tijdens celiotomie of laparoscopie. De opgewekte ontsteking is echter meestal mild en subklinisch (Crowe en Bjorling, 1993). Chirurgisch geïnduceerde peritonitis kan worden versterkt door steriele vreemde voorwerpen zoals hechtmateriaal of een achtergebleven kompres (gossypiboma) (Crowe en Bjorling, 1993; Swann en Hughes, 2000). Steriele chemische stoffen veroorzaken ontsteking en leiden tot chemische peritonitis. Bronnen van endogene chemische irritatie zijn maag- en pancreassappen, gal (galperitonitis) en urine (uoperitoneum/uroabdomen) (Crowe en Bjorling, 1993; McGrotty en Doust, 2004). Exogene chemische bronnen zijn meestal van iatrogene oorsprong, zoals intraperitoneale toediening van geneesmiddelen of steriele spoelvlloeistoffen (Crowe en Bjorling, 1993). Aseptische peritonitis veroorzaakt door chemicaliën maakt het abdomen gevoeliger voor de ontwikkeling naar septische peritonitis. Diffuse capillaire schade ter hoogte van het maag-darmstelsel door chemische brandwonden vergemakkelijkt de migratie van bacteriën door de beschadigde darmwand (MacCoy, 1981). Dit effect is het meest uitgesproken bij galperitonitis en wordt nog versterkt door het remmend effect van gal op lokale afweermechanismen (Ludwig et al., 1997). Urine-geïnduceerde chemische peritonitis (Figuur 2) gaat zelden over in septische peritonitis, tenzij er al een bestaande urineweginfectie was (Crowe en Bjorling, 1993). Scleroserende peritonitis is een zeldzame chronische vorm van aseptische peritonitis, waarbij de buikorganen worden omhuld in bindweefsel (Swann en Hughes, 2000).

### Secundaire septische peritonitis

Secundaire septische peritonitis is de meest voorkomende vorm van peritonitis bij zowel honden als katten. Meestal is de bron van besmetting het maag-darmstelsel, door ruptuur of door dehiscentie van chirurgische wonden. Daarom worden bij deze vorm vaak gramnegatieve bacteriën geïsoleerd (McGrotty en Doust, 2004; Horowitz et al., 2015; Chen et al., 2021). Het urineweg- en voortplantingsstelsel, het hepatobili-



**Figuur 2.** Reactief omentum bij een hond met een uroabdomen na een aanrijding. Cultuur van het vrij buikvocht was negatief.



**Figuur 3.** Adhesies ontstaan tussen het omentum en het jejunum bij een hond met perforatie van de darmwand ter hoogte van een adenocarcinoma met centrale necrose. Let op de afwijkende kleur van het reactief omentum.

aire systeem en de pancreas, evenals de externe omgeving (door penetrerend abdominaal letsel) zijn andere potentiële infectiebronnen.

### Gelocaliseerde en gegeneraliseerde peritonitis

Lokale verdedigingsmechanismen in het abdomen proberen de oorzaak van de septische peritonitis te elimineren, waardoor het proces soms beperkt blijft tot gelocaliseerde peritonitis (MacCoy, 1981). Processen zoals drainage via de diafragmatische lymfe-



vaten evenals het afdoden van de micro-organismen door macrofagen en neutrofielen treden in werking. Bovendien fungeert fibronectine in het peritoneale vocht als een niet-specifiek pathogeenbindende molecule, waarbij fibrine micro-organismen in een polymeriserende matrix vangt (Dunn et al., 1985). Ook het omentum speelt een belangrijke rol in het afweermecanisme door de vorming van adhesies en leukocytenaggregaten, de zogenaamde “milky spots” (Liebermann-Meffert, 2000) (Figuur 3). In een experimentele studie bij honden werd aangetoond dat de macrofagen en neutrofielen ter hoogte van het omentum binnen enkele minuten contaminanten kunnen verwijderen (Huyghe et al., 2015). Als de lokale afweermecanismen niet succesvol zijn, zal het lokale ontstekingsproces evolueren naar gegeneraliseerde peritonitis (MacCoy, 1981).

## PATHOFYSIOLOGIE VAN PERITONITIS

Bij het ontstaan van peritonitis leidt schade aan mesothelcellen tot het vrijkomen van histamine, lysosomale enzymen en kinines. Deze cascade van reacties zorgt voor een verhoogde vasculaire permeabiliteit met daaropvolgende lekkage van eiwitrijk vocht en een toestroom van ontstekingscellen in de buikholte (MacCoy, 1981; Ludwig, 2004). Het vocht- en eiwitverlies kan massaal zijn gezien het grote peritoneale oppervlak. Dit kan leiden tot hypovolemie en hypotensie, wat gecompenseerd wordt door een toename van het hartdebiet en perifere vasoconstrictie. Wanneer deze compensatiemechanismen falen, resulteert de daling van de bloeddruk in verminderde bloedtoevoer naar de organen, wat op zijn beurt leidt tot anaerobe glycolyse en verdere schade van de capillairen en darmwanden. De systemische ontstekingsreactie leidt tot de afbraak van de endotheliale glycocalyx en verdere schade aan de microcirculatie (Shaw et al., 2021). Bovendien kunnen darmbacteriën en bacteriële toxines daardoor in de bloedbaan terechtkomen en bacteriëmie veroorzaken (MacCoy, 1981). Door deze reacties kunnen meerdere organen betrokken geraken, met het multi-orgaandysfunctiesyndroom tot gevolg (Swann en Hughes, 2000), gekenmerkt door onder andere acute hepatopathie, acute nierschade (AKI), diffuse intravasale stolling (DIS), acuut respiratoir distress-syndroom, etc.

## SEPTISCHE PERITONITIS

### Risicofactoren

Er zijn verschillende risicofactoren bekend voor secundaire septische peritonitis. Veel van deze risicofactoren zijn iatrogen en benadrukken het belang van preventieve maatregelen en opvolging van medicamenteus of chirurgisch behandelde kleine huisdieren om ernstige complicaties te voorkomen.

Orale opname van vreemde voorwerpen, neoplastische veranderingen ter hoogte van het maagdarmlkanaal alsook migratie van bacteriën doorheen de darmwand kunnen leiden tot het ontstaan van septische peritonitis. Daarnaast kunnen zowel chirurgisch geïnduceerde contaminatie als dehiscentie van chirurgische wonden leiden tot het ontstaan van septische peritonitis. Risicofactoren voor de lekkage na gastro-intestinale chirurgie zijn onder andere de aanwezigheid van preoperatieve peritonitis (Allen et al., 1992; Ralphs et al., 2003; Grimes et al., 2011; Fink et al., 2018), een linksverschuiving (Allen et al., 1992; Ralphs et al., 2003), intraoperatieve hypotensie (Grimes et al., 2011), laag serum eiwit- en/of albumineconcentratie (Ralphs et al., 2003; Grimes et al., 2011; Fink et al., 2018), de omvang van de chirurgie (Wylie en Hosgood, 1994) en de indicatie voor abdominale chirurgie op zich (Allen et al., 1992; Ralphs et al., 2003; Fink et al., 2018). Katten lijken minder vatbaar te zijn voor darmdehiscentie dan honden (Ralphs et al., 2003; Hiebert et al., 2021).

Toediening van niet-steroïdale ontstekingsremmende geneesmiddelen (NSAIDs), zelfs cyclo-oxygenase-2 selectieve geneesmiddelen aan gebruikelijke doseringen, is een risicofactor voor maag- en duodenumperforaties bij honden en katten (Dayer et al., 2013; Dobberstein et al., 2022; Pfeifer et al., 2022). Verder kunnen een stomp of penetrerend abdominaal trauma en een spontane of iatrogene ruptuur van abdominale abcessen, zoals pancreasabcessen, leiden tot septische peritonitis.

Septische peritonitis kan ook afkomstig zijn van een bron in het voortplantingsstelsel. Zo kunnen prostaatabcessen en pyometra, zowel door een spontane of iatrogene ruptuur, of een lekkage vanuit het ostium abdominale, besmetting van de bursa ovarica of transmurale migratie van bacteriën vanuit de baarmoeder leiden tot septische peritonitis (Rubio et al., 2014).

### Klinische tekenen

De klinische tekenen bij het voorkomen van septische peritonitis zijn weinig specifiek en variëren naargelang de ernst van de ziekte en de omvang van het ontstekingsproces. Verder kunnen de klinische tekenen te wijten zijn aan de onderliggende pathologie, hypovolemie of shock, of aan orgaandysfunctie geassocieerd met septische peritonitis. De meeste honden worden aangeboden omwille van vage klachten, zoals hyporexie, anorexie, braken, depressie of lusteloosheid (Swann en Hughes, 2000; Costello et al., 2004; Culp en Holt, 2010). Lethargie en anorexie zijn de meest voorkomende klinische tekenen bij katten met septische peritonitis (Anderson et al., 2021). Honden en katten met septische peritonitis kunnen koorts hebben, hypotherm of normotherm zijn. De ‘bidhouding’ is een duidelijk teken van abdominaal ongemak (Crowe en Bjorling, 1993). Veel dieren met septische peritonitis hebben diffuse abdominale pijn, hoewel deze pijn niet altijd duidelijk waar te nemen is bij ab-



dominante palpatie. Met name katten lijken weerstand te bieden tegen het uiten van pijn tijdens buikpalpatie (Costello et al., 2004). In de eerder zeldzame gevallen met veel abdominale effusie kan abdominale distensie met positieve undulatie aanwezig zijn, wat secundair kan leiden tot tachypnee en dyspnee (MacCoy, 1981; Crowe en Bjorling, 1993). Bij ernstig aangetaste honden en katten kan shock of acute collaps optreden door de circulatoire veranderingen en systemische ontstekingsreactie (MacCoy, 1981; Swann en Hughes, 2000). Katten in shock vertonen vaak bradycardie (Costello et al., 2004).

## Diagnose

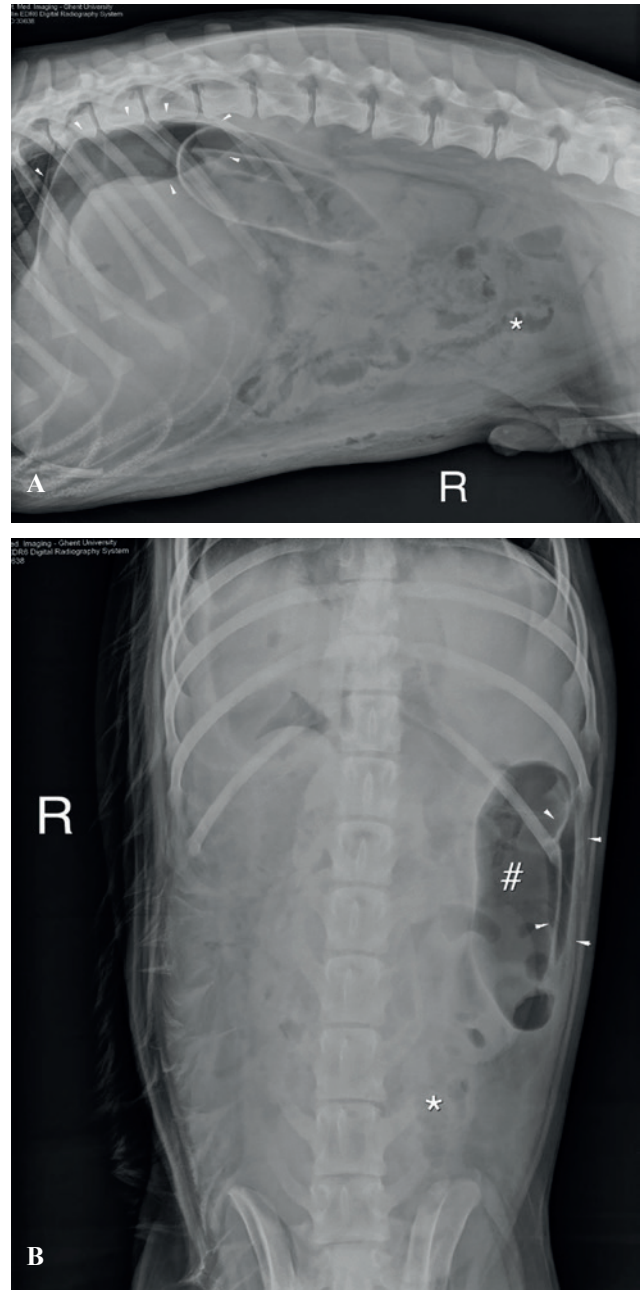
Tijdens de spoedconsultatie zijn een grondige buikpalpatie (inclusief undulatietest) en “point-of-care”-echografie (POCUS) vaak voldoende om de pathologie in de buik te lokaliseren en peritoneaal vocht te identificeren.

## Bloedonderzoek

Ook de bevindingen tijdens het bloedonderzoek zijn variabel en niet-specifiek. Serumbiochemie kan soms helpen bij het diagnosticeren van het type peritonitis en de onderliggende oorzaak. Zo worden er bij uroperitoneum een verhoogd ureum, creatinine (azotemie) en kalium waargenomen. Bij galperitonitis is de concentratie van totaal bilirubine gestegen. Anemie en leukocytose zijn regelmatig aanwezig. De neutrofielentelling kan echter normaal, verhoogd of zelfs verlaagd zijn, al dan niet met een linksverschuiving (i.e. een toename van staafkernige neutrofielen) (Crowe en Bjorling, 1993; Swann en Hughes, 2000; Bonczynski et al., 2003; McGrotty en Doust, 2004; Culp en Holt, 2010). Hypoalbuminemie kan ook gezien worden als gevolg van verlies via het gastro-intestinale stelsel of via bloedvaten door vasculitis. Ook verminderde synthese van albumine als gevolg van acute inflammatie (negatief acute fase eiwit) en een verminderde voedingstoestand kunnen hierbij een rol spelen (Craft en Powell, 2012; Fink et al., 2018). Trombocytopenie is ook een mogelijke bevinding. Evaluatie van de bloedstolling (stollingstijden, fibrinogeen, D-dimeren) is aangewezen indien stollingsstoornissen zoals DIS worden vermoed (Crowe en Bjorling, 1993). Grote hoeveelheden eiwit kunnen verloren gaan in het vrij buikvocht, wat kan leiden tot panhypoproteïnemie (McGrotty en Doust, 2004). Het verlies van circulerend volume kan ook leiden tot prerenale azotemie (Culp en Holt, 2010). Door de overgang naar anaerobe glycolyse in combinatie met onvoldoende compensatiemechanismen van de zuur-basebalans (bijvoorbeeld een verminderde renale doorbloeding met verminderde excretie van zuurmetabolieten) kan acidose optreden, wat via bloedgasanalyse kan aangetoond worden.

## Beeldvorming

Medische beeldvorming is essentieel voor zowel het diagnosticeren van septische peritonitis als het opsporen van de onderliggende oorzaak. Op röntgenfoto's verschijnt abdominale effusie als een diffuse, homogene toename in wekedelenopaciteit, vaak be-



**Figuur 4. A.** Uitgesproken pneumoabdomen (witte pijlhoofden) bij een hond met een mid-jejunaal perforatief vreemd voorwerp. Op de laterale projectie is er een duidelijke gasopaciteit aanwezig in het craniodorsale aspect tussen het diafragma en de maag. Ook de contour van de linkernier is zichtbaar door een omringende gasopaciteit. **B.** Op de ventrodorsale opname bevindt het gas zich aan de linkerkant van het abdomen (witte pijlhoofden), naast een sterk met gas gedilateerde darmulus (#). Er is een gegeneraliseerd verminderd serosaal detail met een gegolfd aspect van een dunnedarmulus (\*).

**Tabel 2. Classificaties van effusies, gebaseerd op eiwit, celgetal en cytologie (naar: Alleman 2003).**

	Totaal eiwit (g/dL)	Gekernde cellen/ $\mu$ L	Predominante celtypes	Bijzondere eigenschappen
Puur transudaat	<2,5	<1000	Mononucleaire	Lage cellulariteit
Gemodificeerd transudaat	2,5-5	1000-8000	Mononucleaire	Celtype varieert met etiologie
Septisch exsudaat	>3	>3000	Neutrofielen	Degeneratieve neutrofielen
Niet-septisch exsudaat	>3	>3000	Neutrofielen	Niet-degeneratieve neutrofielen
Hemorragische effusie	>3	Variabel	Vergelijkbaar met bloed	Erytrofagie of hemosiderin in macrofagen
Neoplastische effusie	>2,5	Variabel	Niet-bloedcellen	Neoplastische cellen

schreven als een “ground glass”-aspect. Deze bevinding is echter niet pathognomonisch en komt ook voor bij jonge of slecht geconditioneerde dieren met weinig intra-abdominaal vet. De aanwezigheid van een pneumoperitoneum bij patiënten zonder eerdere chirurgie suggereert een mogelijke perforatie van een hol orgaan, maar kan ook veroorzaakt worden door gasproducerende anaerobe bacteriën (Figuur 4). Perforatie van het maagdarmkanaal of penetrerend trauma vereist dringende chirurgische interventie. Bij recente buikoperaties kan de aanwezigheid van vrij gas de interpretatie bemoeilijken (Boysen et al., 2003; Walters, 2003; McGrotty en Doust, 2004).

Echografie is gevoeliger dan radiografie voor het detecteren van kleine of gelokaliseerde hoeveelheden effusie (Walters, 2003), het opmerken van vrij abdominaal gas en het bepalen van de oorzaak en locatie van de pathologie (Boysen et al., 2003; McGrotty en Doust, 2004). Veranderingen in de dikte van de darmwand (focaal of diffuus), de aanwezigheid van vreemde voorwerpen of massa's, identificatie van lucht in de buikholt gebieden met hyperechogeen vet (steatitis) en vochtophopingen dragen allemaal bij tot de diagnose van peritonitis (Boysen et al., 2003; McGrotty en Doust, 2004) (Figuur 5). Bovendien maakt echobegeleiding, zelfs bij kleine en/of gelokaliseerde vochtophopingen, een diagnostische abdominocentese mogelijk (Walters, 2003; Whitehouse en Weigelt, 2009).

Er is beperkte informatie beschikbaar over de toegevoegde waarde van abdominale computertomografie (CT-scan) bij honden en katten met verdenking van septische peritonitis (Gremillet et al., 2022). In veel gevallen is de diagnose reeds gebeurd met behulp van radiografieën, echografie en abdominocentese, waardoor een CT-scan overbodig is.

#### *Abdominocentese en analyse van het buikvocht*

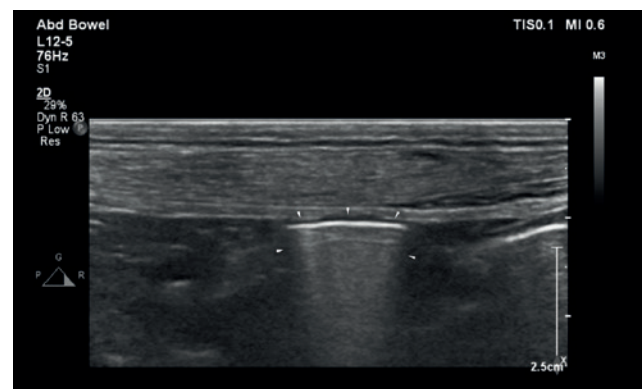
Abdominocentese is een snelle en nauwkeurige diagnostische tool voor de evaluatie van honden en katten met peritonitis (Bonczynski et al., 2003; Connally, 2003; Walters, 2003; Martiny en Goggs, 2019). Terwijl klinische tekenen, bloedonderzoek en medische beeldvorming dikwijls niet volstaan om de therapeutische aanpak te bepalen, maakt analyse van het vrij buikvocht vaak duidelijk of er al dan niet chirurgisch moet ingegrepen worden (Boysen et al., 2003).

Meestal wordt een (echogeleide) abdominocentese uitgevoerd om een staal van het abdominale vocht te verkrijgen (Walters, 2003). Omdat door het aanprikken vrije lucht in het abdomen kan terechtkomen, wat kan interfereren met de interpretatie van abdominale radiografieën of echografie, gaat medische beeldvorming idealiter vooraf aan een abdominocentese.

Bij het uitvoeren van een abdominocentese is het belangrijk om dit volgens een vast protocol te doen. De patiënt wordt in laterale decubitus geplaatst en, indien de blaas redelijk gevuld is en daardoor de staalname zou kunnen hinderen, wordt die geledigd om het vocht in de abdominale holte goed te kunnen bereiken. Vervolgens wordt het gebied rond de navel geschoren, geschrubd en gedesinfecteerd om een steriele omgeving te creëren.

Bij een blinde abdominocentese wordt een naald of katheter in de middenlijn, 1 tot 3 cm caudaal van de navel, in caudodorsale richting ingebracht. Indien echogeleide abdominocentese uitgevoerd wordt, wordt de naald of katheter ingebracht op de plaats waar het meeste vocht zichtbaar is. Hierna wordt langzaam negatieve druk aangebracht om het vrij vocht te aspireren.

Het bekomen aspiraat wordt enerzijds cytologisch onderzocht om de aanwezige celtypes te identificeren. Anderzijds heeft ook biochemische analyse van het vocht, waarbij parameters zoals lactaat en glucose beoordeeld worden, een enorme meerwaarde. Tot slot



**Figuur 5. Reverberatie-artifact (witte pijlhoofden) zichtbaar in het ventrale aspect van het abdomen van een hond met een gastrisch perforatief vreemd voorwerp tijdens echografie in ruglig. Het reverberatie-artifact is niet omringd door een gastro-intestinale wand.**



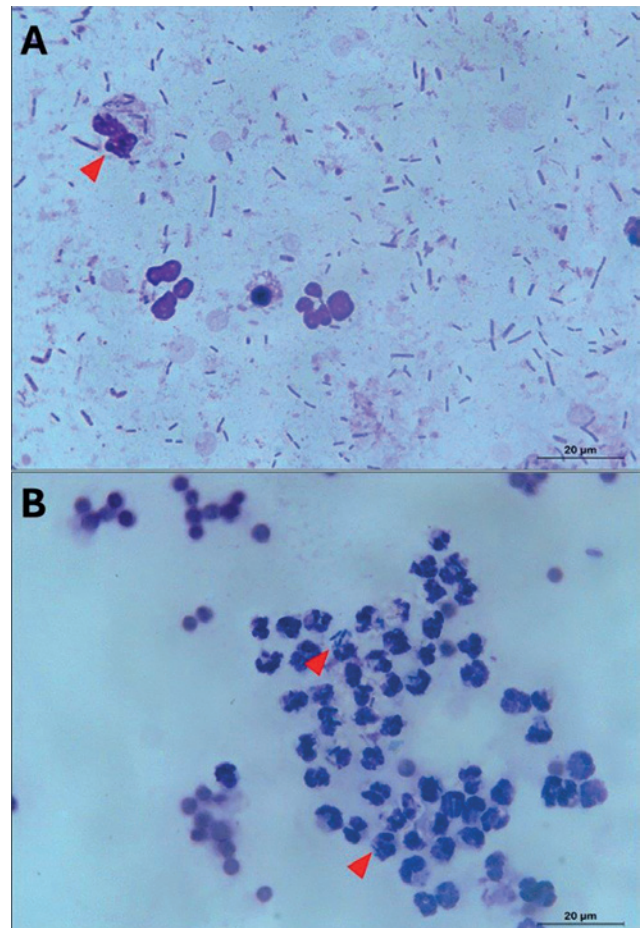
wordt het staal opgestuurd voor cultuur en een gevoeligheidstest (Walters, 2003; McGrotty en Doust, 2004).

Alleman (2003) stelde een classificatieschema op voor peritoneale effusie, gebaseerd op de parameters totaal eiwit, celgetal en cytologisch beeld (Tabel 2). Het staal wordt macroscopisch beoordeeld op kleur en troebelheid. Bij een helder, kleurloos staal kan peritonitis ten gevolge van lekkage van het maagdarmkanaal uitgesloten worden, tenzij de patiënt binnen de drie uur na viscerale perforatie werd bemonsterd (Connally, 2003). Een troebel staal wijst meestal op een hoog celgetal. In geval van uroabdomen kan het vocht soms een urine-achtige geur hebben en vertoont het een hoger kaliumgehalte dan in het bloed; bij galperitonitis wordt een galachtige vloeistof bekomen. Cytologisch onderzoek en biochemische analyse van het staal zijn belangrijk in de diagnose en classificatie van peritonitis. Vanwege vasoactieve en chemotactische producten die een toestroom van eiwitrijk cellulair vocht veroorzaken, wordt de effusie bij peritonitis meestal gecategoriseerd als een exsudaat, gekenmerkt door een eiwitgehalte  $>3$  g/dL en de aanwezigheid van  $>3000$  gekernde cellen/ $\mu$ L (Alleman, 2003; Connally, 2003; McGrotty en Doust, 2004). Naast de aanwezigheid van bacteriën zijn het dominant celtype, de morfologie van de neutrofielen en de glucose- en lactaatgehalten nuttige indicatoren om niet-septische en septische exsudaten te onderscheiden. Deze criteria worden later verder besproken. Hogere concentraties van creatinine en kalium in de effusie in vergelijking met die in het bloed bevestigen de diagnose van uroabdomen terwijl een hogere bilirubineconcentratie in de effusie galperitonitis verraadt.

Bacteriologische cultuur van de peritoneale effusie blijft de gouden standaard voor de diagnose van septische peritonitis, maar levert geen onmiddellijke diagnose op (Bonczynski et al., 2003). “Point-of-care-tests” om bacteriën in urine te detecteren zijn geëvalueerd om bacteriën in peritoneale vloeistof te detecteren en te identificeren, maar worden momenteel niet aanbevolen voor de diagnose van septische peritonitis bij honden (Casna et al., 2021; Human et al., 2021).

Daarentegen is cytologisch onderzoek van de peritoneale vrije vloeistof een snelle diagnostische test met een gemelde sensitiviteit variërend van 57% tot 86% en specificiteit van 100% om intracellulaire bacteriën te identificeren (Mueller et al., 2001; Human et al., 2021; Allen en Evans, 2022). De aanwezigheid van een gelokaliseerd proces, eerdere antimicrobiële behandeling of beperkte ervaring van de cytoloog verminderen echter de nauwkeurigheid van het cytologisch onderzoek (Ludwig, 2004). Het is dus belangrijk om te realiseren dat het ontbreken van detecteerbare bacteriën in peritoneaal vocht geen betrouwbare indicator is voor de afwezigheid van septische peritonitis (Bonczynski et al., 2003).

In septische effusies is het dominante celtype de neutrofiel (Alleman, 2003). Op basis van hun morfologische verschijning kunnen neutrofielen worden in-



**Figuur 6.** Twee cytologische beelden van abdominale effusie van honden met septische peritonitis (100x olie-immersie objectief). **A.** Niet-gecentrifugeerd buikvocht van een hond die aangeboden werd in septische shock. Op de beelden zijn een matig aantal sterk gedegeneerde neutrofielen en talrijke staafvormige bacteriën zichtbaar. De bacteriën zijn zowel losliggend tussen de cellen zichtbaar als gefagocyteerd in de neutrofielen (onder andere zichtbaar ter hoogte van de rode pijl). **B.** Sediment van buikvocht (na afcentrifugeren) van een hond met septische peritonitis als gevolg van een geperforeerde ulcus van het proximale duodenum. Er zijn talrijke matig gedegeneerde neutrofielen zichtbaar. Verschillende neutrofielen bevatten gefagocyteerde bacteriën die overwegend staven zijn (onder andere zichtbaar ter hoogte van de rode pijl).

gedeeld als degeneratief, niet-degeneratief of toxisch. Degeneratieve neutrofielen vertonen zwelling van de kern, karyorrhexis en karyolyse en dus snelle celdood onder invloed van bacteriële toxines (Connally, 2003). Daarentegen is pyknose, kenmerkend voor niet-degeneratieve neutrofielen, een indicatie van langzame celdood in een niet-septische omgeving (Alleman, 2003; Connally, 2003). Tot slot kunnen toxische neutrofielen worden waargenomen in perifeer bloed en abdominale effusies. Deze neutrofielen vertonen afwijkingen in hun celgrootte, cytoplasmatische inhoud, nucleaire vorm en consistentie, en zijn duidelijk zichtbaar op bloeduitstrijkjes gekleurd met romanowsky-kleuring,



zoals bijvoorbeeld diff-quick-kleuring. De veranderingen vinden plaats tijdens de ontwikkelingen in het beenmerg. Hun aanwezigheid is geassocieerd met een slechte prognose (Aroch et al., 2005).

Idealiter gebeurt differentiatie tussen septische en aseptische peritonitis door een geïntegreerde beoordeling van diagnostische parameters in de peritoneale effusie. Een eerste parameter betreft het onderscheid in effusietype, aan de hand van eigenschappen weergegeven in Tabel 2. Andere parameters die wijzen op de aanwezigheid van een septisch exsudaat omvatten de aanwezigheid van gedegenererde neutrofielen met intracellulaire bacteriën, een hoog aantal gekernde cellen (doorgaans  $>9.000$  cellen/ $\mu\text{L}$ ), een verschil in de concentratie van glucose en lactaat tussen bloed en effusie alsook een lage pH-waarde te wijten aan de productie van lactaat als gevolg van neutrofiële glycolyse en bacteriële metaboliëten (Alleman, 2003; Bonczynski et al., 2003) (Figuur 6).

In het oorspronkelijke onderzoek waarin de concentratie van glucose en lactaat in de effusie geëvalueerd werd met behulp van een toestel voor biochemische analyses, werd bijna perfecte diagnostische nauwkeurigheid gevonden voor een lager glucose in de effusie ten opzichte van het bloed (verschil van  $>20$  mg/dL) en een hoger lactaat in het vrij buikvocht in vergelijking met het bloed (verschil  $>2$  mmol/L (Bonczynski et al., 2003). Echter, recentere studies met behulp van "point-of-care" glucometers melden veel lagere tot zelfs onbruikbare gevoeligheden voor het verschil in het glucosepeil tussen effusie en volbloed (Koenig en Verlander, 2015; Shipov et al., 2022). Het meten van het glucoseverschil tussen vrij buikvocht en plasma in plaats van volbloed en het hanteren van een drempelwaarde van 38 mg/dL in plaats van 20 mg/dL, verbetert de diagnostische nauwkeurigheid van de glucosebepaling aanzienlijk (Koenig en Verlander, 2015).

Lactaat is het eindproduct van het anaeroob metabolisme. Indien er weefselhypoxie aanwezig is (zoals beschreven werd in de pathofysiologie), zal de concentratie in het bloed toenemen. Sepsis kan leiden tot hyperlactatemie ten gevolge van orgaandysfunctie, verminderde klaring, hypoperfusie, dysfunctie van de mitochondriën, verhoogde activiteit van de leukocyten of hypoglycemie. Andere factoren die ook tot een verhoogd lactaat leiden, zijn neoplastische processen, steroïden, leveraandoeningen en catecholamines (Cortellini et al., 2015).

De identificatie van intracellulaire bacteriën is niet altijd eenvoudig en de interpretatie van het aantal gekernde cellen wordt bemoeilijkt na een abdominale ingreep omdat het celgetal in het vrij buikvocht dan altijd verhoogd is (Van Hoogmoed et al., 1999). Ook moeten cytologische en biochemische resultaten van vocht, verkregen via abdominale drainage tijdens de postoperatieve periode, met voorzichtigheid worden geïnterpreteerd om overdiagnostiek van septische aandoeningen te vermijden (Szabo et al., 2011; Guieu et al., 2016).

## CONCLUSIE

Honden en katten met septische peritonitis worden vaak aangeboden met vage klinische tekenen, zoals lethargie, anorexie en braken. Bij verdenking van vrij buikvocht is het belangrijk abdominocentese uit te voeren. Cultuur van de abdominale effusie blijft de gouden standaard, maar deze analytische procedure vergt tijd terwijl het voor de overlevingskansen van de honden en katten belangrijk is om zo snel mogelijk de behandeling op te starten. Daarom is cytologie van de effusie een onmisbare stap om onderscheid te maken tussen septische en aseptische (steriele) effusie. Hierbij worden parameters zoals dominant celtype (neutrofielen) en celkenmerken, de aanwezigheid van (intracellulaire) bacteriën, pH, glucose- en lactaatgehalte in het vrij buikvocht versus in het bloed beoordeeld om te bepalen of een chirurgische interventie nodig is of niet. Verder biedt het bloedonderzoek aanvullende informatie over de toestand van het dier, hoewel hematologische bevindingen vaak weinig specifiek zijn. Echografie is een gevoelige beeldvormingstechniek om de oorzaak en locatie van peritonitis te identificeren.

## REFERENTIES

De volledige referentielijst kan opgevraagd worden bij de auteurs.



© 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/>).

## Klassieke varkenspest in België (1921-2015)

### *Classical swine fever in Belgium (1921-2015)*

F. Castryck

Voorheen verbonden aan DGZ-Vlaanderen, Industrielaan 29, B- 8820 Torhout

frans.castryck@telenet.be

## SAMENVATTING

In dit artikel wordt een korte beschrijving gegeven van de geschiedenis van de klassieke varkenspest in België. De eerste melding dateert van 1921 en in 1933 werd de ziekte aangifteplichtig. De sedertdien jaarlijks vastgestelde aantallen worden weergegeven in tabelvorm. De bestrijding startte nog vóór WOII met de introductie van hyperimmuun serum en na de oorlog met het weinig efficiënte gedode kristalvioletvaccin, gevolgd door effectieve levende vaccins. De verspreiding van de ziekte werd sterk begunstigd door de structuur van de varkenshouderij. De zeugen- en biggenkweek gebeurde in kleine bedrijven, terwijl de productie van slachtvarkens voornamelijk in grote stallen geschiedde, geconcentreerd in vrij kleine deelgebieden. De productie groeide in razendsnel tempo. Gevolg hiervan was een belangrijke import van biggen en grote mobiliteit van de dieren, met daarmee gepaard gaand de aanzienlijke mogelijkheid tot snelle verspreiding van de ziekte. Vanaf 1968 werd verplicht gevaccineerd met levende entstoffen op basis van de Chinese stam. Om het aantal uitbraken onder controle te houden, diende het vaccinatieschema geregeld te worden aangepast. In 1982 ging een Europees gekaderd vijfjarenplan van start, waarbij het land in vier zones werd opgesplitst. In zone I bleef de vaccinatie verplicht, in de andere zones werd deze verboden. Eind 1985 moest echter een groot noodentingsgebied worden afgebakend (entzone 1985) zodat opnieuw geënt werd in alle varkensdense gebieden. Op 1 april 1988 werd de vaccinatie op het hele grondgebied verboden. In 1990 en 1993/1994 volgden twee omvangrijke epidemieën. In 1997 was er een beperkte verspreiding vanuit Nederland. Sedertdien werd de ziekte op varkensbedrijven niet meer vastgesteld. België werd in mei 2015 officieel vrij van klassieke varkenspest.

## ABSTRACT

A short survey is given of classical swine fever (hog cholera) in Belgium from 1921 (first diagnosis) to 2015 (officially declared free). Spread of this disease was facilitated by the singular structure for many years of pig production in this country: piglets raised in a great number of small farms, followed by fattening in large units, most often densely located in other regions. The yearly numbers of outbreaks (1933 -1997) are tabulated in Figure 2. Effective vaccinations combined with 'stamping out' measures, resulted in a gradual decline of outbreaks diagnosed. Vaccination was prohibited in 1988. Two large epidemics followed in 1990 and 1993/1994, and a small one in 1997. Belgium has been officially free from classical swine fever since 2015.

## INLEIDING

Varkenspest werd in 1833 in de VSA (Ohio) voor het eerst beschreven. In Europa werd de ziekte al in 1862 herkend in Engeland. Er wordt verondersteld dat varkenspest er vanuit de VSA werd binnengebracht.

Van daaruit verspreidde het virus zich, enerzijds naar de Scandinavische landen en anderzijds naar Frankrijk en naburige landen. De ziekte woekerde nadien in gans Europa. De eerste melding in België dateert van 1921.

## ZIEKTEVERSCHIJNSELEN

Klassieke varkenspest komt enkel bij varkens voor. In 1903 werd aangetoond dat de ziekte veroorzaakt wordt door een virus. Het virus wordt peroraal opgenomen en ondergaat een primaire vermeerdering in de tonsillen. Van hieruit komt het virus in het bloed terecht en bereikt zodoende de gevoelige weefsels, namelijk deze van het reticulo-endotheliale stelsel. Vooral de endotheelcellen van de kleine bloedvaten en de cellen van milt, beendermerg en lymfeklieren worden aangetast.

Na een incubatieperiode van vier à vijf dagen worden de dieren lusteloos en vertonen een hoge temperatuur (tot 41 °C). Er treedt een uitgesproken leukopenie op. Na een week ontstaan veelal puntbloedingen in de huid die het gemakkelijkst waar te nemen zijn op de oren en op de onbehaarde huiddelen (Figuur 1). Naar het einde van de ziekte toe vertonen de dieren een waggelende gang door verzwakking en vaak ook door encefalitis. In acute gevallen treedt sterfte op na negen tot vijftien dagen. Dergelijk typisch verloop komt enkel voor bij niet-gevaccineerde varkens met virulente virusstammen en wordt in de praktijk zelden waargenomen.

## BESTRIJDING

Reeds vóór WOII werd hyperimmuun serum gebruikt. Na WOII kwamen vaccins ter beschikking, namelijk het (dode) kristalvioletvaccin en later ook levende entstoffen. Het serum werd vooral gebruikt bij biggen bij de opzet in de vleesvarkensstal. Het kristalvioletvaccin werd door de praktijkdierenartsen als weinig effectief ervaren. Via de veevoederindustrie werd een Italiaanse levende entstof gedistribueerd die blijkbaar wel een goede werkzaamheid vertoonde.

Klassieke varkenspest werd in België aangifteplichtig in 1933. Het aantal haarden vanaf dat jaar staat vermeld in Tabel 1. Klassieke varkenspest vormde een grote bedreiging voor de ontwikkeling van de

varkenshouderij: tijdens de periode 1955-1970 werden er per jaar 109 à 1.705 gevallen vastgesteld. Dit viel samen met een enorme (r)evolutie vanaf 1960 in deze tak van de veeteelt: tussen de jaren 1965 en 1974 verdriedubbelde de varkensstapel nagenoeg (van 1,8 miljoen tot 5,0 miljoen). De volgende tien jaar bleef de toename beperkt, maar tussen 1985 en 1990 nam die opnieuw sterk toe (tot 6,7 miljoen). Gedurende de jaren 1990 groeide de varkensstapel verder tot een record van 7,7 miljoen in 1999 (7,4 miljoen in Vlaanderen).

De varkensstapel concentreerde zich voornamelijk in West-Vlaanderen (de helft van de varkens), het westelijk deel van Oost-Vlaanderen en het noorden van de provincie Antwerpen.

De veevoederindustrie ontwikkelde een groot-schalige -geïntegreerde- vleesvarkensproductie, voornamelijk in het oosten van West-Vlaanderen en het westen van Oost-Vlaanderen. Zodoende ontstond een groot biggentransport in Vlaanderen, hoofdzakelijk van oost naar west. Biggen werden vanaf de jaren 1930 tot begin de jaren 1980 verhandeld op biggenmarkten in diverse Vlaamse steden bij een gewicht van 20-25 kg in typische biggenmanden (Figuur 2) of bakken. Daarnaast, in toenemende mate, en uiteindelijk uitsluitend, werden de biggen door biggenhandelaars rechtstreeks aangekocht op fokbedrijven.

Zodoende ontstond een zeer kwetsbare structuur, die als volgt kan geschetst worden: door de onevenredige groei van de vleesvarkens ten opzichte van de zeugenstapel ontstond een groot tekort aan biggen: tot meer dan 1,5 miljoen per jaar. Deze werden hoofdzakelijk ingevoerd uit (West-)Duitsland. De vermeerderingsbedrijven (biggenproductie) bleven lange tijd zeer klein ten opzichte van de vleesvarkensbedrijven met grote stallen (een vijfhonderdtal vleesvarkens). De biggen werden daarenboven dikwijls getrieerd volgens kwaliteit. Dit had als gevolg dat biggen van zeer veel origines (tot meer dan vijftig) samengebracht werden in één stal.

Bovenstaande evolutie was (enkel) mogelijk 'dankzij' de verplichte vaccinatie tegen klassieke varkens-

**Tabel 1. Klassieke varkenspest in België: aantal haarden per jaar: 1933 - 1997 (ministerie van Landbouw - FAVV).**

1933	26	1953	3	1969	402	1985	67
1934	1	1954	6	1970	508	1986	80
1935	1	1955	166	1971	93	1987	83
1936	765	1956	796	1972	40	1988	2
1937	449	1957	278	1973	90	1989	8
1938	153	1958	355	1974	85	1990	113
1939	497	1959	160	1975	3	1991	0
1940	50	1960	109	1976	0	1992	0
1945	83	1961	215	1977	1	1993	7
1946	283	1962	1.705	1978	0	1994	45
1947	25	1963	679	1979	0	1995	0
1948	13	1964	508	1980	7	1996	0
1949	889	1965	337	1981	38	1997	8
1950	973	1966	184	1982	102		
1951	23	1967	283	1983	26		
1952	19	1968	317	1984	9		





**Figuur 1.** Typische letsels van klassieke varkenspest (DGZ-Torhout).

pest. In 1968 kwam er een vernieuwde aanpak in de bestrijding: een nieuw koninklijk besluit voorzag in de mogelijkheid van “stamping-out” en van het gebruik van levende vaccins op basis van de Chinese stam. Deze vaccinstam (C-stam) werd verkregen door een (onbekend) aantal viruspassages op konijnen. Vaccins op basis van de Chinese stam waren zeer effectief: ze boden een vlugge immuniteit die niet enkel tegen de ziekte beschermde, maar ook het aanslaan van het virus in de tonsillen sterk beperkte.

In 1970 werd de vaccinatie van alle fokvarkens en verhandelde ‘gebruiksvarkens’ (gelten, fokberen en biggen) verplicht. Deze maatregel zorgde voor een grote reductie van het aantal gevallen (< honderd gevallen/jaar). De aanvullende verplichting in 1973 om tevens alle biggen te enten in de meest dichte varkensgebieden (West- en Oost-Vlaanderen en het arrondissement Turnhout) had als resultaat dat er zich in de tweede helft van de jaren 1970 nog weinig uitbraken voordeden.

Op sommige bedrijven werden bij de biggen na vaccinatie anafylactische reacties vastgesteld (Biront et al., 1979). Biggen ingespoten met het vaccin werden na ongeveer 15 minuten cyanotisch. Zij vertoonden een sterke abdominale ademhaling, braakten, hoestten en sommige stierven. Op deze bedrijven waren het steeds biggen van dezelfde zeugen die symptomen vertoonden. Meestal was de ganse toom aangetast. Onderzoek uitgevoerd door het (toenmalige) NIDO toonde aan dat een konijneneiwit de oorzaak was. Bij de toen beschikbare entstoffen werden de Chinese stamvirussen gekweekt op konijnen. Tegen het konijnenallergeen werden door de zeugen antistoffen opgebouwd en via het colostrum aan de biggen doorgegeven. Dit probleem stelde zich niet met een vaccin met de Chinese stam gekweekt op niercelculturen van lammeren dat later ter beschikking kwam.

Terwijl de klassieke varkenspest eind jaren 1970 bedwongen leek, dook de ziekte echter opnieuw op in juli 1980. De vraag of het virus opnieuw werd binnengebracht of latent aanwezig was gebleven, bleef onbeantwoord.



**Figuur 2.** ‘De Roeselaarse Biggenmarkt’. Bronzen beeldhouwwerk op het De Coninckplein van J. Vandevelde.

### EEG-UITROEIINGSPLAN

In 1980 werd door de toenmalige EEG de beslissing genomen om tot een gemeenschappelijke bestrijdingswijze te komen, gebaseerd op geharmoniseerde sanitaire maatregelen en een verbod van vaccinatie. Ieder land moest hiertoe een nationaal plan opmaken. In België werd dit plan opgemaakt in 1981.

Op 1 januari 1982 ging het Belgisch vijfjarenplan van start, waardoor de (verplichte) vaccinatie geleidelijk zou worden afgebouwd. België werd hiertoe opgedeeld in vier zones (Figuur 3). In zone I (West-Vlaanderen, het westen van Oost-Vlaanderen en noorden van Henegouwen) bleef de vaccinatie verplicht, terwijl deze in de overige regio’s (II, III en IV) verboden werd.

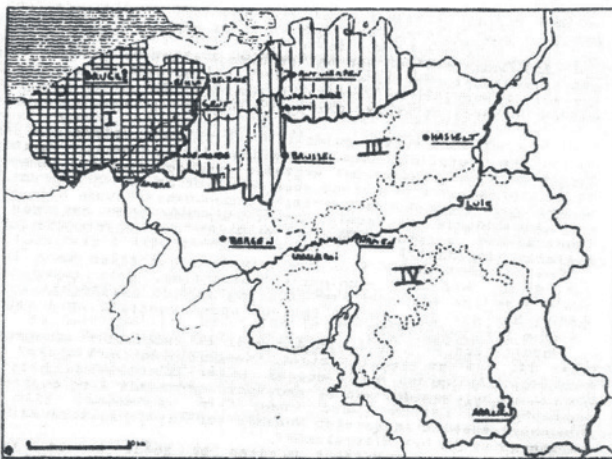
Eind 1980 deden zich opnieuw uitbraken voor. Dit was ook het geval in 1981. Gezien het meestal ging om ‘doorbraken’ (ziekte bij niet-beschermde subgroepen) werd het vaccinatieschema in het vijfjarenplan aangepast: biggenenting op jongere leeftijd (zes weken), groepsenting van de fokvarkens, tussentijds bijenten van de jonge zeugen. In het gevaccineerde gebied (zone I) werd, dankzij de vermelde aanpassingen in het vaccinatieschema, de toestand opnieuw onder controle gebracht in maart 1982.

Na de stopzetting van de vaccinatie in zones II, III en IV woekerde de ziekte verder in de provincie Antwerpen en in het zuiden van het land. In november 1982 werd in het noorden van de provincie Antwerpen een noodentingsgebied ingesteld tot november 1983. In mei 1984 scheen de epidemie opnieuw onder controle. Eind 1984 en begin 1985 deden zich echter meerdere gevallen voor in het oosten van Oost-Vlaanderen en het noorden van Antwerpen. In beide aangetaste gebieden werd tijdelijk een kleine noodentingszone afgebakend.

Vanaf september 1985 werden meerdere uitbraken vastgesteld in het oosten van Oost-Vlaanderen, Antwerpen en Brabant, en tenslotte ook in West-Vlaanderen. Deze nieuwe explosie leidde ertoe dat eind oktober een groot noodentingsgebied moest worden



**Figuur 3. Eradicatieplan voor klassieke varkenspest: indeling van België in zones (ministerie van Landbouw).**



**Figuur 4. Klassieke varkenspest: entzone 1985 (ministerie van Landbouw).**

ingesteld, omschreven als 'Entzone 1985'. Deze entzone omvatte de provincie Antwerpen en de delen van Oost-Vlaanderen en Brabant gelegen in zone II (Figuur 4). Deze noodtingingen werden uitgevoerd door daartoe aangestelde dierenartsen vóór 5 november 1985. Zodoende werd er opnieuw geënt in alle gebieden met een hoge varkensconcentratie.

Na een slotenting van fokvarkens en biggen werd de vaccinatie op 1 april 1988 uiteindelijk verboden op het hele Belgisch grondgebied. Met uitzondering van de provincie Antwerpen bleef de Belgische varkensstapel nadien vrij tot januari 1990. Acht van de negen (toenmalige) provincies hadden ondertussen het statuut 'officieel varkenspestvrij' verworven.

### VARKENSPESTEPIDEMIE IN 1990

In 1990 werd België -voor het eerst na de stopzetting van de vaccinaties- geconfronteerd met een om-

vangrijke klassiekevarkenspest-epidemie. Tussen 13 januari en 30 oktober 1990 werden in totaal 113 haarden vastgesteld. De meeste haarden deden zich voor in het oosten van West-Vlaanderen (87) en het westen van Oost-Vlaanderen (14).

Na een eerste haard in Weelde (Antwerpen) op 13 januari werd het virus op 1 februari aangetoond op een groot vleesvarkensbedrijf in Wingene (West-Vlaanderen). Dit bleek de primaire haard te zijn en de ziekte werd er binnengebracht door import van biggen uit Duitsland. In de daaropvolgende paar maanden was er een zeer sterke verspreiding van de ziekte in Wingene en de aanpalende gemeente Ruiselede, zodat er een uitgebreid besmet gebied ontstond (eerste epicentrum van de epizoötie) waar er in die periode 45 haarden werden vastgesteld. De ziekte verspreidde zich ook in een viertal andere gemeenten in het oosten van West-Vlaanderen (16 haarden).

Tussen half april en 8 mei deed zich slechts één uitbraak voor. Vanaf die datum werden opnieuw haarden vastgesteld in het oosten van West-Vlaanderen en het westen van Oost-Vlaanderen. Eind mei dook de ziekte op in Ardoioe en Pittem waar zich een tweede epicentrum vormde. Eind juli-begin augustus werd de ziekte vastgesteld op een drietal bedrijven buiten de afgebakende bufferzone (Henegouwen en oosten van Oost-Vlaanderen). Vanaf half augustus bleek de ziekte opnieuw onder controle. Half september werd de ziekte echter terug opgespoord in Henegouwen en op 30 oktober deed zich de laatste haard voor in Oost-Vlaanderen.

Rond iedere haard werd een schutkring met een straal van 3 km afgebakend. De uitbreiding van de ziekte gaf aanleiding tot het instellen van verschillende bewakingszones. Tenslotte werd een bufferzone afgebakend die later eveneens werd uitgebreid.

Gezien de voortschrijdende infectie werd op 6 april besloten dat op alle contactbedrijven en alle bedrijven gelegen binnen een straal van één km rond de haarden, preventieve opruiming van alle varkens diende te gebeuren. Begin juni werd van deze systematische opruiming afgestapt, en werd een commissie ad hoc aangesteld die advies moest overmaken aan de staatssecretaris van Landbouw.

Vanaf 18 april kwam met de steun van de EEG een opkoopregeling tot stand, waardoor de mogelijkheid werd geschapen om vleesvarkens van meer dan 110 kg en biggen van meer dan 25 kg in de bewakingszone op te kopen voor vernietiging.

Bij een derde van de uitbraken kon de besmettingswijze niet achterhaald worden. De bekende verspreidingswijzen (een derde van de uitbraken) tijdens de epizoötie waren: transport van besmette krennen door de wagens van het vilbeluik, aankoop van besmette biggen, contacten tussen bedrijven via personen, contacten via voertuigen (of hun bestuurders) waarmee besmette varkens vervoerd werden, en insleep door een hond die van besmette krennen had gegeten. Naast deze goed opspoorbare verspreidingswijzen werden we tijdens de epizoötie tevens geconfronteerd met het



fenomeen ‘buurtbesmetting’. Dit was vooral duidelijk in dicht bevolkte gebieden. Met ‘buurtbesmetting’ wordt bedoeld dat er virusoverdracht is tussen naburige bedrijven zonder dat kan aangetoond worden op welke wijze deze plaatsgrijpt. Verspreiding via de lucht en via ongedierte is hierbij niet uit te sluiten.

De varkenspestepizoötie in 1990 had als uiteindelijk gevolg dat er in België bijna 1,2 miljoen varkens dienden afgemaakt te worden, i. e. ongeveer 17% van de nationale varkensstapel. Een derde hiervan (400.095 varkens) werden afgemaakt om sanitaire redenen, twee derde (1.178.431 varkens) in het kader van marktondersteunende maatregelen (opkoopregeling).

## GEVOLGEN VAN DE VARKENSPESTEPIDEMIE IN 1990

Door het ministerieel besluit van 6 september 1990 werd aan ieder varkensbedrijf volgende minimale sanitaire infrastructuur opgelegd (een informatiebrochure werd aan alle varkenshouders overgemaakt):

- een verharde en reinigbare plaats waar varkens geladen en gelost worden
- een omkleedlokaal voor personen die de stallen bezoeken
- een afzonderlijk gelegen verharde en afgedekte krengeophaalplaats
- ontsmettingsmateriaal en een voorraad van een erkend ontsmettingsmiddel

De ambulante dekdiensdienst werd definitief verboden (deze was reeds afgeschaft in 1985 naar aanleiding van de Afrikaanse varkenspestepidemie).

Ieder varkensbedrijf moest een ‘contractdierenarts’ aanduiden die regelmatige klinische controles diende uit te voeren.

Bij een bestrijdingstrategie steunend op “stamping out” is een goed sluitende identificatie en registratie van alle varkens op alle bedrijven essentieel om het epidemiologisch onderzoek naar behoren te kunnen uitvoeren. Een geautomatiseerd systeem werd in de loop van 1991 opgestart (SANITEL-V).

## LATERE UITBRAKEN

In 1993 en 1994 deed zich opnieuw een epidemie voor. Deze startte in oktober 1993 bij ingevoerde Duitse varkens in Wingene en gaf aanleiding tot zes bijkomende haarden in West-Vlaanderen tegen het einde van dat jaar. In 1994 breidde de ziekte zich uit naar de aanpalende provincie Oost-Vlaanderen, waar uiteindelijk 48 haarden werden gedetecteerd. Ook bij deze epidemie werd preventief “stamping-out” toege-

past op buurtbedrijven (149) en contactbedrijven (93) en werden varkens opgekocht om de markt te ondersteunen. In totaal werden 797.625 varkens afgeslacht.

In 1997 en 1998 werd Nederland geconfronteerd met een uitgebreide epidemie (429 haarden). Deze kende in juni en juli 1997 een (beperkte) verspreiding naar de Belgische provincie Limburg (acht haarden). De eerste haard werd waarschijnlijk geïnfecteerd via een varkenstransportbedrijf dat betrokken was bij het eradicatieprogramma in Nederland. Stamping-out greep plaats in de haarden en 56 contactbedrijven (46.561 varkens). Om marktondersteunende redenen werden 27.579 varkens afgeslacht.

In november 2002 werd het klassieke varkenspestvirus bevestigd in de populatie wilde varkens in Walonië. Daarop volgde een succesvolle eradicatie.

België is sinds mei 2015 officieel vrij van klassieke varkenspest.

## LITERATUUR

- Biront P., De Roose P., Leunen J. (1979). Anaphylaxie bij biggen na varkenspestvaccinatie. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 48, 484-497.
- Dunne H.W. (1975). Hog cholera. In: *Diseases of Swine*. Fourthth edition, Iowa State University Press, pp. 189-228.
- FAVV (2023). Klassieke Varkenspest. [www.favy-afscs.be](http://www.favy-afscs.be)
- Hutyra F.V. (1931). Schweinepest. In: Stang V., Wirth D. (editors). *Tierheilkunde und Tierzucht*. Urban und Schwarzenberg, Berlin, pp. 208-224.
- Lamsens G. (1992). Klassiekevarkenspestepizoötie 1990. *Stagewerk Promotie 1991-1992*. Ministerie van Landbouw - Diergeneeskundige Inspectie, 11-19, 132-135.
- Mintiens K., Deluyker H., Laevens H., Koenen F., Dewulf J., de Kruif A. (2008). Descriptive epidemiology of a classical swine fever outbreak in the Limburg Province of Belgium in 1997. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 48 (2), 143-149.
- Miry C., Castryck F., Koenen F., Broes A., Segers E. (1991). Quelques aspects de l' épidémiologie de peste porcine classique en Belgique en 1990. *Epidémiologie et Santé Animale* 20, 23-32.
- Pensaert M. (1973). Klassieke varkenspest. In: *Huisvesting - Voeding - Ziekte van het Varken*. Story Scientia, pp. 358-362.
- Vandevelde J. (2021). Monument ter herinnering aan de biggenmarkt te Roeselare. In: *Westvlaamse Veeveiling (W.V.V.). meer dan 50 jaar ten dienste van de Varkenshouderij*, 32-37.







## Al bijna twintig jaar actief in onderzoek, onderwijs en dienstverlening rond uiergezondheid en melkwaliteit aan de Faculteit Diergeneeskunde (UGent)

### De start

Bijna twintig jaar geleden werd M-teamUGent opgericht aan de vakgroep Interne Geneeskunde, Voortplanting en Populatiegeneeskunde van onze Faculteit. Sarne De Vliegheer (toen doctor-assistent) en Sofie Piepers (toen zijn eerste PhD-studente) gaven toen de naam ‘M-team’ aan de jonge onderzoeksgroep waarbij de M tot op vandaag staat voor ‘Melk’ of ‘Mastitis’. We wilden de uiergezondheid en melkwaliteit bij melkvee in Vlaanderen verbeteren via wetenschappelijk onderzoek en onderwijs, en door intensief samen te werken met melkveehouders, dierenartsen en de andere stakeholders (i.e. zuivelindustrie, veevoederbedrijven, farmaceuten, landbouworganisaties, melkmachinefabrikanten, etc.). Door onszelf een naam te geven en te kiezen voor een eigen logo pionierden we en werden we niet alleen lokaal maar ook internationaal herkenbaar en (h)erkend.

We verzorgden doorheen de jaren trainingen over uiergezondheid voor bedrijven, voerden klinische studies uit voor de industrie en organiseerden internationale congressen (2007, 2014) en wetenschappelijke seminars (2010 en 2017) in Gent. Daarnaast werden we vrij vroeg actief op de sociale media (Facebook en het toenmalige Twitter) en begonnen in 2008 reeds met een digitale nieuwsbrief voor veehouders en erfbetreders - het “M-news” - en dat in het Nederlands, Frans en Engels. Ondertussen bestaan het Nederlandstalige - binnenkort gaat editie 170 de deur uit! - en het Franstalige M-news nog steeds en werd de Engelstalige versie opgeslorpt in de “newsletter” van M<sup>2</sup>-magazine, ons internationaal Engelstalig magazine dat sinds 2011 driemaal maal per jaar verschijnt en rapporteert over uiergezondheid en melkwaliteit in de wereld. De website van het magazine ontwikkelde zich tot de hub voor onlinenieuws over deze topics. Onze passie voor kennisdeling werd en wordt erg gewaardeerd, zoals blijkt uit het enthousiasme van de vele partners die onze communicaties al jarenlang ondersteunen.



## Het onderwijs

Daarnaast deden en doen we in het kader van onze onderwijsopdracht vandaag bedrijfsbezoeken op melkveebedrijven met uiergezondheidsproblemen in België, Groothertogdom Luxemburg en Nederland, steeds in goed overleg met de betrokken dierenartsen en vergezeld door enkele laatstejaarsstudenten. Dit quasi één-op-één onderwijs vult de theoretische lessen aan die in het curriculum gegeven worden in het derde, vijfde en zesde jaar.

## Wetenschappelijk onderzoek

In het wetenschappelijk onderzoek focussen we tot op vandaag op twee zaken.

- Binnen het toegepast onderzoek zoeken we oplossingen voor specifieke problemen of actuele uitdagingen. Voorbeelden daarvan zijn o.a. het in kaart brengen van (risicofactoren voor) vaarzenmastitis in Vlaanderen, het kwantificeren van het antibioticumgebruik op Vlaamse melkveebedrijven op vraag van de zuivelsector in een tijd dat er nog geen sprake was van verplicht registreren en benchmarken, onderzoek naar uiergezondheid op robotbedrijven en het introduceren van selectief droogzetten en selectief behandelen van niet-ernstige klinische mastitis door het opzetten van klinische proeven op commerciële melkveebedrijven onder Vlaamse omstandigheden.
- De tweede onderzoekfocus is fundamenteleler en ligt op de rol die de non-aureus stafylokokken spelen in de uiergezondheid van melkkoeien. Als onderzoeksgroep liepen we internationaal voorop in het ontwikkelen van identificatietechnieken die ons toelieten het soort-specifieke belang, de epidemiologie en de ecologie van deze grote groep stafylokokken in kaart te brengen. Ondertussen speelt veel van het onderzoek zich af in het labo waarbij in-vitromodellen ontwikkeld en gebruikt worden om isolaten in detail te bestuderen, aangevuld met in-vivo-onderzoek bij muizen en koeien. Heel wat van de onderzoektijd gaat vandaag naar het probiotische potentieel van sommige isolaten en het ontwikkelen van non-antibiotische preventie van mastitis.

Dit onderzoek resulteerde in meer dan tweehonderd peer-reviewed publicaties en bijna twintig doctoraten. Veel van het vermelde onderzoek werd en wordt uitgevoerd samen met partners binnen de faculteit, de UGent en daarbuiten en wordt gefinancierd door de UGent, de Vlaamse en Belgische Overheid en commerciële partners. En, een team is maar zo sterk als haar teamleden samen en dat geldt zeker ook voor M-teamUGent. De bijdragen van de PhD-studenten en van de velen buitenlandse bezoekers en de internationale collega's waren en blijven verrijkend en de basis van de vele wetenschappelijke resultaten.

## MEXTM

Eind 2015 richtten Sofie en Sarne samen MEXTM (Mexcellence BV) op, het spin-off bedrijf van M-teamUGent. Voornamelijk de dienstverlening (inclusief de binnen het M-teamUGent ontwikkelde softwaretool KenoTM-M) werd daarin ondergebracht, terwijl het M-team verantwoordelijk

bleef voor het onderwijs en het wetenschappelijk onderzoek. De synergie tussen de spin-off en de onderzoeksgroep blijft groot en de samenwerking verloopt erg organisch. Zo werken we momenteel hard samen aan de 2024 National Mastitis Council Regional Meeting die we voor de tweede keer in Gent organiseren. De 2014-editie staat nog steeds in het geheugen van de vele aanwezigen (673 uit 52 landen) gegrift en we doen er alles aan om dat succes te evenaren.

Binnen MEXTM werden nieuwe virtuele assistenten ontwikkeld die het leven van rundveedierenartsen in binnen-en buitenland makkelijk maken en helpen om mastitisproblemen op te lossen of – nog veel liever – helpen te voorkomen. Via de U-Scan bijvoorbeeld worden de zwakheden in het mastitismanagement op melkveebedrijven blootgelegd en via MEX@LAB kunnen dierenartsen met een eigen melklabo op professionele manier resultaten genereren, bijhouden en rapporteren aan hun klanten en ze gebruiken om het management te optimaliseren. Daarnaast motiveert MEXTM met lezingen en opleidingen wereldwijd dierenartsen om zichzelf te ontwikkelen als uiergezondheids-specialisten.



Prof. dr. Sarne De Vlieghe en Prof. dr. Sofie Piepers,  
in naam van alle huidige en vroegere leden van  
M-team UGent  
[www.m-team.UGent.be](http://www.m-team.UGent.be)  
[www.m-tools.UGent.be](http://www.m-tools.UGent.be)  
[www.m2-magazine.org](http://www.m2-magazine.org)  
[www.mexcellence.eu](http://www.mexcellence.eu)

Oproep

## Gevalen 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](mailto:nadia.eeckhout@ugent.be)

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





Sint Truidersteenweg 193  
3700 Tongeren  
info@savab.be

---

## ENOVAT-richtlijnen over acute diarree bij honden

ENOVAT of het ‘European Network for Optimization of Antimicrobial Therapy’ heeft op basis van een systematische review en meta-analyse de doeltreffendheid van antibiotica en nutraceuticals (prebiotica, probiotica en synbiotica) geëvalueerd bij acute diarree bij honden. Op basis hiervan kunnen richtlijnen geformuleerd worden voor de behandeling van deze frequent voorkomende aandoening bij honden.

De aanbeveling om geen antibiotica toe te dienen in de afwezigheid van klinisch ernstige ziekte is in overeenstemming met de huidige AMCRA-aanbevelingen over de behandeling van acute diarree bij honden.

Voor het doel van de studie werd diarree onderverdeeld in ‘mild’, ‘matig’ en ‘ernstig’ met oplopende graad van ernst. Dit gebeurde op basis van systemische ziektesymptomen en de respons van de patiënt op vloeistoftherapie. De uitkomst van de therapie werd beoordeeld op basis van de duur van de diarree, duur van hospitalisatie, verloop van de diarree, mortaliteit en neveneffecten. Er kon met hoge graad van zekerheid\* geconcludeerd worden dat een antibioticatherapie geen klinisch relevant effect had in honden met milde en matige diarree (geen effect op de duur van de diarree, duur hospitalisatie, mortaliteit en verloop ziekte). De graad van zekerheid is laag of dat voor honden met ernstige diarree wel het geval is\*\*. De zogenaamde ‘nutraceuticals’, pre-, pro- en synbiotica toonden geen klinisch relevant effect als het ging over het verkorten van de duur van diarree. Deze laatste conclusie is weliswaar gebaseerd op een zeer lage tot matige graad van zekerheid. Geen enkele studie rapporteerde enige neveneffecten.

\*een hoge graad van zekerheid betekent dat de auteurs van de review en meta-analyse in grote mate vertrouwen dat de werkelijkheid in overeenstemming is met wat verwacht wordt.

\*\* een lage graad van zekerheid betekent dat de werkelijkheid duidelijk verschillend kan zijn dan wat verwacht wordt.

---

## Global survey on the use of analgetics in cats

Veterinarians from the Centre for Animal Health and Welfare, Jockey Club College of Veterinary Medicine, City University of Hong Kong are working in collaboration with several organizations to conduct a global survey on the use of analgesics in cats. We want to understand veterinarian’s current attitudes and practices on the use of analgesics and techniques related to acu-

te and chronic pain management in cats. The survey is open to veterinarians worldwide and will take no more than 10 minutes to complete. Your participation will be anonymous and voluntary. To complete the survey click on the following link <https://cityuhk.questionpro.com/t/AXLbcZ2NOF>. The survey will be available from 30 April 2024 to 30 July 2024.

If you have any questions, please contact:

Professor Paulo Steagall ([pmortens@cityu.edu.hk](mailto:pmortens@cityu.edu.hk))

Your time and participation are greatly appreciated. Thank you for collaborating for cats!

This study has been funded by Boehringer Ingelheim.

---

## Pijnscores na ovariëctomie

Mijn naam is Soetkin Reynaert en ik studeer agro- & biotechnologie, afstudeerrichting dierenzorg aan VIVES Zuid (Campus Roeselare). Momenteel ben ik bezig met het schrijven van mijn bachelorproef over pijnscores bij katten na ovariëctomie. Ik ben specifiek geïnteresseerd in het vergelijken van de intuïtieve beoordeling (via de Numeric Rating Scale) van de dierenartsassistent met de gevalideerde korte UNESP-Botucatu pijnschaal.

Het doel van het onderzoek is om meer inzicht te krijgen in de postoperatieve pijnervaring van katten na een ovariëctomie, en vergelijken in hoeverre een pijnscore bekomen aan de hand van een gevalideerde pijnschaal overeenkomt met de intuïtie van de dierenartsassistent die pijn heeft beoordeeld op een score van 0 geen pijn tot 10 ernstige pijn (Numeric Rating Scale).

De enquête zal maximaal 15 minuten duren. Dit is de link naar de vragenlijst: [https://qualtricsxmp7jnjsdx8.qualtrics.com/jfe/form/SV\\_3VHj0Vsi9ExgQfAIn](https://qualtricsxmp7jnjsdx8.qualtrics.com/jfe/form/SV_3VHj0Vsi9ExgQfAIn)

Concreet houdt deelname aan het onderzoek in dat uw praktijk gedurende een bepaalde periode pijnscores van katten na ovariëctomie zal bijhouden volgens een vastgesteld protocol dat bezorgd zal worden. Vervolgens zal de intuïtieve beoordeling van de dierenartsassistent vergeleken worden met de scores verkregen via de gevalideerde UNESP-Botucatu pijn schaal. Als uw praktijk geïnteresseerd is in deelname aan mijn onderzoek of als u meer informatie wenst, aarzel dan niet om contact met mij op te nemen via [soetkin.reynaert@student.vives.be](mailto:soetkin.reynaert@student.vives.be). Ik ben enthousiast over de mogelijkheid om samen te werken aan dit waardevolle onderzoek. De door u verstrekte persoonsgegevens worden door VIVES verwerkt voor bovenstaand beschreven doel, in overeenstemming met de Algemene Verordening Gegevensbescherming. Een meer uitgebreid overzicht van ons beleid op vlak van verwerking van persoonsgegevens is te vinden op <https://www.vives.be/nl/privacyverklaring>. U kunt via deze link uw persoonsgegevens ook steeds opvragen, ze laten verbeteren, wissen of vragen ze over te dragen.

Klinische aanpak van chronische nierziekte bij katten in België

Deze vragenlijst heeft als doel om te inventariseren hoe dierenartsen in België de diagnose chronische nierziekte bij katten vaststellen en welke behandeling wordt ingesteld. Deze vragenlijst is bedoeld voor dierenartsen die in het afgelopen jaar op zijn minst 1 geval van chronische nierziekte bij de kat hebben behandeld. <https://forms.office.com/r/GHQF9smrBW>

---

# Verbreed je horizon

In onze HR-visie staat dat we als organisatie een aantrekkelijke werkgever willen zijn. Er lopen mooie initiatieven om dit te verwezenlijken. Recentelijk is de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit erkend leerbedrijf geworden. Claire Timmer (26 jaar), een gedreven en vastberaden student, deelt haar ervaringen tijdens haar stage van vijf weken. Haar ontdekkingen heeft haar doen realiseren hoe cruciaal het werk van de NVWA is voor de samenleving.

Als 3-jarig meisje had Claire maar één droom en dat is dierenarts worden. 'Ik ben altijd een dierenvriend geweest. Toen ik studiekeuzes moest maken, was het niet moeilijk om te kiezen welke richting ik op wilde. Ik begon in Gent, daar was het helaas niet gelukt. Toen werd ik uitgeloot in Utrecht. Daar heb ik tijdens mijn studie Dierwetenschappen de minor Diergeneeskunde gevolgd. Vervolgens heb ik de overstap naar mijn master Diergeneeskunde gemaakt. Dit was mijn laatste kans om dierenarts te worden en die heb ik met beide handen gegrepen. Nu ben ik hard aan het studeren om mijn droom in vervulling te brengen.'

## You did it

'Nog niet, maar we zijn al wel een heel eind. Ik zit nu in het tweede jaar van mijn Master Diergeneeskunde en ben mij aan het oriënteren wat ik wil gaan doen.' Vanaf het moment dat Claire haar eerste stappen zette binnen de NVWA, voelde ze meteen de energie en het enthousiasme van het team. Haar nieuwsgierigheid werd aangewakkerd toen ze kennismakte met de diverse facetten van het werk dat hier verricht wordt. Maar wat haar het meest trof, was de mogelijkheid om bij te dragen aan dierenwelzijn op verschillende niveaus.

## Diepgaande inzichten

'Een van de meest memorabele ervaringen tijdens mijn stage was het bezoek aan een opvangcentrum voor wilde katten. Daar stond ik oog in oog met twee leeuwen, Vasylyna en Nikola, die gereed werden gemaakt voor export naar Afrika. Het was een unieke kans om te zien hoe de NVWA zich inzet voor het welzijn en de gezondheid van deze majestueuze dieren, die in hun land van oorsprong verwaarloosd waren, maar nu een nieuwe kans krijgen op een beter leven.'

Zo heeft Claire nog bijzondere ontmoetingen meegemaakt tijdens haar stage. 'Ik mocht meelopen met inspectieteams die het welzijn van dieren waarborgen, wat haar een dieper inzicht gaf in het belang van deze taak. Het controleren

van schapen op gezondheid en kreupelheid op afgelegen weilanden was een van die ervaringen die mijn ogen openden voor de vele aspecten van het werk van een dierenarts bij de NVWA.'



## Innovatie inspireert, integriteit imponeert

Daarnaast kreeg Claire een kijkje in het Innovatielab van de NVWA, waar ze werd ondergedompeld in de wereld van drones en geavanceerde technologieën die worden ingezet om voedselveiligheid te waarborgen. 'Het was inspirerend om te zien hoe technologie wordt gecombineerd met traditionele inspectiemethoden om efficiëntie en nauwkeurigheid te verbeteren.'

Natuurlijk waren er ook uitdagende momenten tijdens Claires stage, zoals het moeten weigeren van een exportzending vanwege onjuiste documentatie. 'Het vergde moed en vastberadenheid om stevig in mijn schoenen te blijven staan in deze situatie, wetende dat de belangen groot waren. Maar het bevestigde ook mijn overtuiging dat integriteit en nauwkeurigheid essentieel zijn in het werk van een dierenarts, waarbij het welzijn van dieren en de gezondheid van mensen altijd voorop staat.'

## Kijk verder dan de praktijk

Nu Claire haar stage bij de NVWA heeft afgerond, kijkt ze met dankbaarheid terug op deze unieke ervaring. 'Het heeft mijn kijk op het vak van dierenarts verbreed en mijn interesse gewekt voor de diverse mogelijkheden die er zijn binnen dit boeiende vakgebied. Of het nu gaat om praktijkwerk, beleid of innovatie: ik ben vastberaden om mijn passie voor dierenwelzijn en voedselveiligheid voort te zetten in mijn verdere studie en carrière. Aan mijn medestudenten wil ik meegeven om verder te kijken dan alleen de praktijk. Er zijn talloze mogelijkheden binnen het vak van dierenarts. Het is belangrijk om je interesses te verkennen en te ontdekken waar jouw passie ligt. Door open te staan voor nieuwe ervaringen en uitdagingen, kunnen we samen een verschil maken in de wereld van de diergeneeskunde.'

'Met een hart vol passie en veel nieuwsgierigheid ben ik klaar om de wereld van dierenwelzijn en voedselveiligheid verder te verkennen, wetende dat elke ervaring mij verder brengt op mijn pad naar het vervullen van mijn dromen.'





# 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](mailto:info-vet-nl@fujifilm.com)

### België

Westpoort 62  
2070 Zwijndrecht  
+32 3 375 60 40

[info-vet-be@fujifilm.com](mailto:info-vet-be@fujifilm.com)



**FVet**  
VETERINARY DIAGNOSTIC SYSTEMS by **FUJIFILM**



Innovating  
in Animal's  
Health