

# Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

FACULTEIT  
DIERGENEESKUNDE  
accredited by EAEVE

SEPTEMBER-OKTOBER 2024

VOL. 93 - NR 5

VERSCHEIJNT TWEEMAANDELIJKS

PUBLISHED BIMONTHLY

ISSN 0303 9021

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

Afgiftekantoor 9099 Gent X

v.u. Luc Peelman

Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

  
UNIVERSITEIT  
GENT



- o Zoönotisch belang van gastrale *Helicobacter*-species
- o Forensische diergeneeskunde
- o Oftalmologisch onderzoek bij ooievaars
- o Druk- versus overzichtsradiografie voor diagnose van hiatale hernia bij de hond
- o 78, XX ovotesticulaire geslachtsontwikkelingsstoornis bij een hond
- o Urolithiase bij reptielen

# Opsporing verzocht: leucose-achtige letsels bij runderen en het behandelen daarvan



Leucose is een ziekte die voorkomt bij vooral jonge runderen in meerdere vormen: gegeneraliseerde leucose van het kalf, lymfosarcoom van de thymus (zwezerik) en huidleucose. De ziekte kan ook bij oudere runderen voorkomen en wordt dan soms veroorzaakt door een virus, het Bovine Leukemie Virus (BLV). De ziekte van dit virus heet Enzoötische Bovine Leucose (EBL). Ondanks dat Nederland al langere tijd vrij is van EBL, blijft monitoring noodzakelijk. In dit artikel bespreken we het proces dat gevolgd wordt wanneer leucose-achtige letsels worden aangetroffen tijdens de post-mortem keuring (PM-keuring) in slachthuizen, en de rol van het NVIC/Dierziektedeskundige team. Pieter Jacobs, senior inspecteur veterinaire, deelt zijn ervaringen en inzichten in deze complexe kwestie.

Bij het aantreffen van leucose-achtige letsels tijdens de PM-keuring wordt door de toezichthoudende dierenarts op het slachthuis verplicht om het NVIC (NVWA Veterinair Incidenten en Crisisteam) verwittigd van een mogelijke verdenking op EBL. Jacobs legt uit: 'het proces begint met het verzamelen van verdachte tumoren en serum bloed, die vervolgens naar het Wageningen Bio Veterinary Research (WBVR) laboratorium worden gestuurd voor verder onderzoek. De tumoren worden apart verzameld in plastic zakken en de monsters worden per koerier naar het laboratorium vervoerd.' Bij een verdenking bij een levend dier op een veehouderij wordt in eerste instantie door de ziektedeskundige alleen serum bloed opgestuurd.

## Diagnostische testen en vervolmaatregelen

Bij diagnostische tests die worden uitgevoerd, omvatten histologie om het beeld van leucose te bevestigen en een PCR-test om de aanwezigheid van BLV te detecteren. Serologische testen uit het serum bloed zoals ELISA en AGIDT zijn cruciaal voor de definitieve diagnose, omdat ze de aanwezigheid van antilichamen tegen het virus aantonen. Tijdens het onderzoek worden de betrokken bedrijven geblokkeerd om verdere verspreiding te voorkomen. Als de resultaten positief zijn, worden alle runderen ouder dan 12 maanden op het bedrijf getest. Positieve dieren worden geëuthanaseerd.

## Waken over diergezondheid

Het proces van het opsporen en behandelen van leucose-achtige letsels bij runderen is een delicate taak die vraagt om nauwkeurigheid en zorgvuldige communicatie. Het NVIC en dierziektedeskundigen spelen een cruciale rol in het identificeren en controleren van deze ziekte. Hoewel Nederland momenteel vrij is van EBL, blijft waakzaamheid noodzakelijk. Vooral omdat de ziekte nog voorkomt in Oost-Europa, Canada en de Verenigde Staten.

Voor Pieter Jacobs en zijn collega's is het een bron van voldoening wanneer een verdenking of besmetting van een dierziekte snel en effectief wordt afgehandeld. 'Het geeft veel voldoening als we een potentieel probleem geruisloos kunnen oplossen', zegt hij. Ondanks de soms moeilijke boodschappen die zij moeten overbrengen, ervaren de inspecteurs vaak dankbaarheid van de dierhouders. Jacobs benadrukt: 'Als je de situatie met respect en begrip benadert, zie je dat mensen dat waarderen, zelfs in de meest stressvolle omstandigheden.'

Jacobs herinnert zich een specifieke situatie waarin een boer, na een lang en stressvol proces, uiteindelijk opgelucht was dat de zaak netjes en professioneel werd afgehandeld. 'Het is niet makkelijk om slecht nieuws te brengen, vooral als het gaat om het euthanaseren', vertelt hij. 'Toch merk je vaak dat als je alles zorgvuldig en met begrip afhandelt, mensen je dankbaar zijn, ondanks de moeilijke situatie.'

## Het belang van juiste voorlichting

Een mooi voorbeeld over het belang van juiste voorlichting is dat een kattenhoudster dacht dat haar kat leucose had opgelopen door de runderen van haar burens. Pieter vertelt: 'Ze had op het internet foutieve informatie gelezen dat hetzelfde retrovirus ook katten treft. Dit benadrukt het belang van correcte informatie en communicatie in het veld van veterinaire gezondheidszorg. Het blijft essentieel om bij elke verdenking zorgvuldig te werk te gaan, zodat de gezondheid van zowel dieren als mensen gewaarborgd blijft.'



### INHOUD

#### Overzichtsartikel

#### Review

227 E. TAILLIEU, C. VAN STEENKISTE, K. CHIERS, F. HAESEBROUCK  
Zoonotisch belang van gastrale *Helicobacter*-species geassocieerd met katten, honden en varkens

E. TAILLIEU, C. VAN STEENKISTE, K. CHIERS, F. HAESEBROUCK  
Zoonotic significance of gastric *Helicobacter* species associated with cats, dogs and pigs

#### Originele artikels

#### Original articles

234 S.I. GALJÉ, A. DECOSTERE, K. CHIERS, L. VAN BRANTEGEM  
Forensische diergeneeskunde: het haar-id-project, een opdracht voor SherLOCK

S.I. GALJÉ, A. DECOSTERE, K. CHIERS, L. VAN BRANTEGEM  
Veterinary forensics: the hair ID project, an assignment for SherLOCK

243 B. K. KURT, Z. B. ÜNAL  
Oftalmologisch onderzoek bij witte ooievaars (*Ciconia ciconia*)

B. K. KURT, Z. B. ÜNAL  
Ophthalmic examination findings in white storks (*Ciconia ciconia*)

#### Retrospectieve studie

#### Retrospective study

249 G. MERCKEN, B. VAN GOETHEM, J. SAUNDERS, E. STOCK  
Externe abdominale drukradiografie versus overzichtsradiografie voor de diagnose van hiatale hernia bij de brachycefale hond

G. MERCKEN, B. VAN GOETHEM, J. SAUNDERS, E. STOCK  
External abdominal pressure radiography versus survey radiography for the diagnosis of hiatal hernia in brachycephalic dogs

#### Casuïstiek

#### Case report

254 H. DE BOSSCHERE, A.-S. PLATTEEUW E. KINDERMANS, M. BOUSSEMAERE, B. MENTEN  
Een 78, XX ovotesticulaire geslachtsontwikkelingsstoornis -voorheen beschreven als een 'vrouwelijke echte hermafrodit' - bij een hond

H. DE BOSSCHERE, A.-S. PLATTEEUW E. KINDERMANS, M. BOUSSEMAERE, B. MENTEN  
A 78, XX ovotesticular disorder of sex development -previously known as a 'female true hermaphrodite'- in a dog

#### Permanente vorming

#### Continuing education

259 T. HELLEBUYCK  
Urolithiase bij reptielen

T. HELLEBUYCK  
Urolithiasis in reptiles

#### Vraag en antwoord

269 *Udder cleft*-dermatitis bij melkvee

#### Uit de faculteit

#### SAVAB-nieuws

258, 274, 280 **Uit het verleden - Dieren literair**

#### Coverfoto: Shirell Galjé

Niet alleen voor de thermoregulatie van een dier zijn *haren* essentieel, maar ook voor forensisch onderzoek zijn ze van onschatbare waarde voor diersoortidentificatie/differentiatie tussen dieren onderling. Alhoewel er tegenwoordig in toenemende mate gebruik wordt gemaakt van DNA-onderzoek voor diersoortidentificatie, blijft microscopische diersoortidentificatie een interessant alternatief. Zoals te zien op de foto op de cover varieert de vacht zowel macroscopisch als onder de microscoop per dier in kleur en vorm. In de corresponderende studie (pg. 234) werd onderzocht in hoeverre specifieke microscopische kenmerken toe te kennen zijn aan een bepaalde diersoort.

Tekst: Shirell Galjé



**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 prosta-  
glandins. *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)

**Oproep**

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/>



## Zoönotisch belang van gastrale *Helicobacter*-species die voorkomen bij katten, honden en varkens

### *Zoonotic significance of gastric Helicobacter species that occur in cats, dogs and pigs*

<sup>1</sup>E. Taillieu, <sup>2,3</sup>C. Van Steenkiste, <sup>1</sup>K. Chiers, <sup>1</sup>F. Haesebrouck

<sup>1</sup>Vakgroep Pathobiologie, Farmacologie en Bijzondere Dieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, België

<sup>2</sup>Dienst Gastro-enterologie en Hepatologie, UZ Antwerpen, Drie Eikenstraat 655, 2650 Edegem, België

<sup>3</sup>Dienst Gastro-enterologie en Hepatologie, AZ Maria Middelaars, Buitenring-Sint-Denijs 30, 9000 Gent, België

emily.taillieu@gmail.com

## SAMENVATTING

Sinds enkele decennia is bekend dat de maag geen steriele omgeving is. In de diergeneeskunde zijn er tal van niet-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* (NHPH) species die de maag van onder andere katten, honden en varkens koloniseren. Binnen de humane geneeskunde werd tot kort aangenomen dat *H. pylori* de enige klinisch relevante pathogeen is die de maag koloniseert. Recent onderzoek wijst echter uit dat meerdere gastrale NHPH's over een zoönotisch potentieel beschikken. Binnen patiëntengroepen met chronische gastritis, maagulcera en *mucosa associated lymphoid tissue* (MALT) lymfomen, waarbij tot nu toe geen oorzaak kon worden vastgesteld, (zoals *H. pylori* of het regelmatig gebruik van niet-steroïdale, anti-inflammatoire geneesmiddelen (NSAID's)), blijken ze frequenter voor te komen dan eerst aangenomen werd en spelen ze mogelijk een pathofysiologische rol.

## ABSTRACT

Some decades ago, it was demonstrated that the stomach is not a sterile environment. In veterinary medicine, numerous non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* (NHPH) species are known to colonize the stomach of cats, dogs, pigs, etc. In human medicine, until recently, *H. pylori* was believed to be the only clinically relevant pathogen that colonizes the stomach. However, recent research indicates that several gastric NHPHs possess zoonotic potential. Within patient groups with chronic gastritis, gastric ulcers and mucosa associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, for which no etiology could be identified so far (such as *H. pylori* or regular use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)), these appear to be present more frequently than first assumed and to play a pathophysiological role.

## INTRODUCTIE

De eerste ontdekking van helicobacters in de maag, met name van *Helicobacter* (*H.*) *pylori* bij de mens, leidde tot de verwerping van het idee dat de maag een steriele omgeving zou zijn waar geen pathogenen kunnen overleven vanwege de zuurtegraad. Deze ontdekking gebeurde in 1982 door Marshall en Warren (1984) waarbij eveneens gesuggereerd werd dat *H. pylori* een belangrijke rol speelt bij de ontwik-

keling van maagaandoeningen bij de mens. Ondertussen is dit een bekende pathogeen en carcinogeen, die geassocieerd wordt met gastritis, maagulcera, *mucosa-associated lymphoid tissue* (MALT) lymfomen en maagcarcinomen, maar die in veel gevallen ook een asymptomatisch verloop kent (Malfertheiner et al., 2017).

Ondertussen zijn er 17 gastrale *Helicobacter*-species bekend waarvan er zeven de hond en kat hebben als natuurlijke gastheer (*H. bizzozeronii*, *H. felis*, *H.*

*salomonis*, *H. heilmannii* sensu stricto (s.s.), *H. ailurogastricus*, *H. baculiformis* en *H. cynogastricus*), en één het varken als gastheer heeft (*H. suis*). In tegenstelling tot *H. pylori*, die een komma- tot s-vormige morfologie heeft, zijn deze zogenaamde niet-*Helicobacter pylori* *Helicobacter* (NHPH) species langer en meer spiraalvormig. Bovendien zijn gastrale NHPH's bijzonder moeilijk in cultuur te brengen in het laboratorium, en koloniseren ze de maag bij de mens meestal zeer focaal, terwijl *H. pylori* meestal een meer diffuus kolonisatiepatroon toont. Dit bemoeilijkt het stellen van de diagnose van gastrale NHPH-infecties bij de mens (Taillieu et al., 2022). Zowel binnen de diergeneeskunde als binnen de humane geneeskunde is de pathogene betekenis van deze gastrale NHPH's nog relatief controversieel, maar recent onderzoek brengt steeds meer evidentie voor pathogeniciteit aan het licht. In dit overzichtsartikel wordt deze evidentie toegelicht.

### GASTRALE NHPH's BIJ HOND, KAT EN VARKEN

In de meeste studies wordt aangetoond dat gastrale NHPH's die frequent voorkomen bij katten en honden, het risico op het ontstaan of het exacerberen van maagaandoeningen bij deze diersoorten niet verhogen (Guerra Segundo et al., 2021; Kubota-Aizawa et al., 2017a; Amorim et al., 2015; Ekman et al., 2013; Polanco et al., 2011; Wiinberg et al., 2005; Scanziani et al., 2001; Norris et al., 1999; Neiger et al., 1998; Hermanns et al., 1995). De geringe pathogene betekenis van deze gastrale NHPH's bij hun natuurlijke gastheren heeft hoogstwaarschijnlijk te maken met het co-evolueren van de bacteriën met hun gastheren, reeds lang voor honden en katten gedomesticeerd werden, waardoor ze in hoge mate aangepast zijn aan hun kolonisatieniche (Smet et al., 2018). Toch zijn er ook onderzoeksresultaten die erop wijzen dat gastrale NHPH's zouden kunnen leiden tot een verhoogde kans op MALT-lymfomen bij katten en ernstigere gastritis bij honden (Kubota-Aizawa et al., 2017b; Bridgeford et al., 2008). Dit zou kunnen te wijten zijn aan eventuele virulentieverschillen tussen de verschillende met kat en hond geassocieerde NHPH-species of tussen de verschillende stammen die behoren tot eenzelfde *Helicobacter*-species (Haesebrouck et al., 2009). De gastrale NHPH's komen voor met een frequentie van 60% tot 100% bij honden en 40% tot 100% bij katten (Taillieu et al., 2022). Dit zijn vaak menginfecties met meerdere species uit de groep van de met katten en honden geassocieerde gastrale NHPH's, met de mogelijkheid tot uitwisseling van genetisch materiaal tussen de species tot gevolg. Hierdoor worden nog steeds nieuwe hybridespecies ontdekt (Smet et al., 2018). Zo werden recent NHPH's aangetoond in de maag van honden en katten die sterk lijken op *H. pylori*, maar er toch niet identiek aan zijn (Taillieu et al., 2023a). Dergelijke '*H. pylori*-like'-bacteriën werden ook aangetoond bij varkens (Cortez Nunes et al.,

2022). De eventuele pathogene betekenis ervan voor de mens is momenteel niet bekend.

*H. suis* speelt bij het varken een belangrijke rol bij de ontwikkeling van gastritis en maagulcera, waarbij de dagelijkse gewichtstoename en het dierenwelzijn in het gedrang kunnen komen. Maagulceratie bij het varken is een multifactoriële aandoening die tot 90% van de varkens op slachtleefijd treft en een specifiek verloop kent dat anders is dan bij bijvoorbeeld mensen of kleine huisdieren. Het is vooral het proximale deel van de maag, rond de slokdarmopening, namelijk de pars oesophagea, dat aangetast wordt (Thomson en Friendship, 2012). Het epitheel van de pars oesophagea is vergelijkbaar met het slokdarmepitheel en er komen geen klieren in voor, waardoor het niet bedekt is met mucus. De aantasting is een gevolg van chronische irritatie door blootstelling aan een lage pH die normaal enkel in het distale deel van de varkensmaag voorkomt (Haesebrouck et al., 2009). Het is reeds bewezen dat een chronische *H. suis*-infectie die zich manifesteert in het distale deel van de maag bij ruim 60% van de slachtvarkens bijdraagt tot dit ziekteproces, vermoedelijk via veranderingen in de maagzuursecretie en het gastrale microbioom, naast belangrijke diëtaire managementfactoren zoals het voederen van een kleine korrelgrootte en het inlassen van substantiële voederonderbrekingen (De Witte et al., 2017; Thomson en Friendship, 2012).

Waarom deze gastrale NHPH's bij sommige diersoorten wel en bij andere geen oorzakelijk verband tonen met de ontwikkeling van maagaandoeningen heeft hoogstwaarschijnlijk te maken met de eerder vermelde co-evolutie van een bacterie met haar natuurlijke gastheer. In tegenstelling tot de met katten en honden geassocieerde gastrale NHPH's, kent *H. suis* als oorspronkelijke natuurlijke gastheer niet-humane primaten, i.e. resus- en java-apen. Slechts 100.000 tot 15.000 jaar geleden zou *H. suis* een sprong gemaakt hebben naar het varken (Flahou et al., 2018). Terwijl een *H. suis*-infectie bij varkens dus een rol speelt in ziekteontwikkeling, is dat meestal niet het geval bij deze apen vanwege de hoge mate van adaptatie aan de kolonisatieniche.

### GASTRALE NHPH's BIJ MENSEN

Wat *H. bizzozeronii*, *H. felis*, *H. salomonis*, *H. heilmannii* s.s., *H. ailurogastricus* en *H. suis* betreft, is het reeds enige tijd bekend dat ze over het potentieel beschikken om overgedragen te worden op mensen. Op basis van verscheidene cohortstudies wordt geschat dat deze gastrale NHPH's voorkomen bij 0,2% tot 6% van de patiëntenpopulaties die een gastroscopie ondergaan (zonder verdere selectie) (Bahadori et al., 2018; Iwanczak et al., 2012; Boyanova et al., 2007; Joo et al., 2007; Mention et al., 1999; Yali et al., 1998; Yang et al., 1998; Hilzenrat et al., 1995; Heilmann en Borchard, 1991; Kuboňova et al., 1991). In case-reports en kleinere cohortstudies werd ook bewezen

dat ze een rol kunnen spelen in de ontwikkeling van chronische gastritis, maagulcera en MALT-lymfomen, en dat de bekende standaard *H. pylori*-eradicatietherapie (i.e. een combinatie van een protonpompinhibitor en twee antibiotica) effectief zou zijn in bepaalde gevallen (Montijo-Barrios et al., 2023; Capirchio et al., 2022; Øverby et al., 2017; Joosten et al., 2013; Okiyama et al., 2005; Morgner et al., 2000; Debongnie et al., 1998). In het algemeen wordt echter aangenomen dat deze species van beperkt klinisch belang zijn, waardoor ze niet routinematig opgespoord worden.

Mogelijk brengt recent onderzoek daar verandering in. In 2020 werden door Nakamura et al. (2020) 236 patiënten geselecteerd met maagaandoeningen die klinisch leken op een *H. pylori*-infectie, maar waarbij deze diagnose niet kon bevestigd worden. In maagstalen van 20,8% van deze patiënten werden NHPH's aangetoond. Ook hier bleek eradicatietherapie in veel gevallen effectief (Nakamura et al., 2020). Dit kan erop wijzen dat NHPH-geassocieerde maagaandoeningen bij de mens frequenter voorkomen dan tot nu toe gedacht werd.

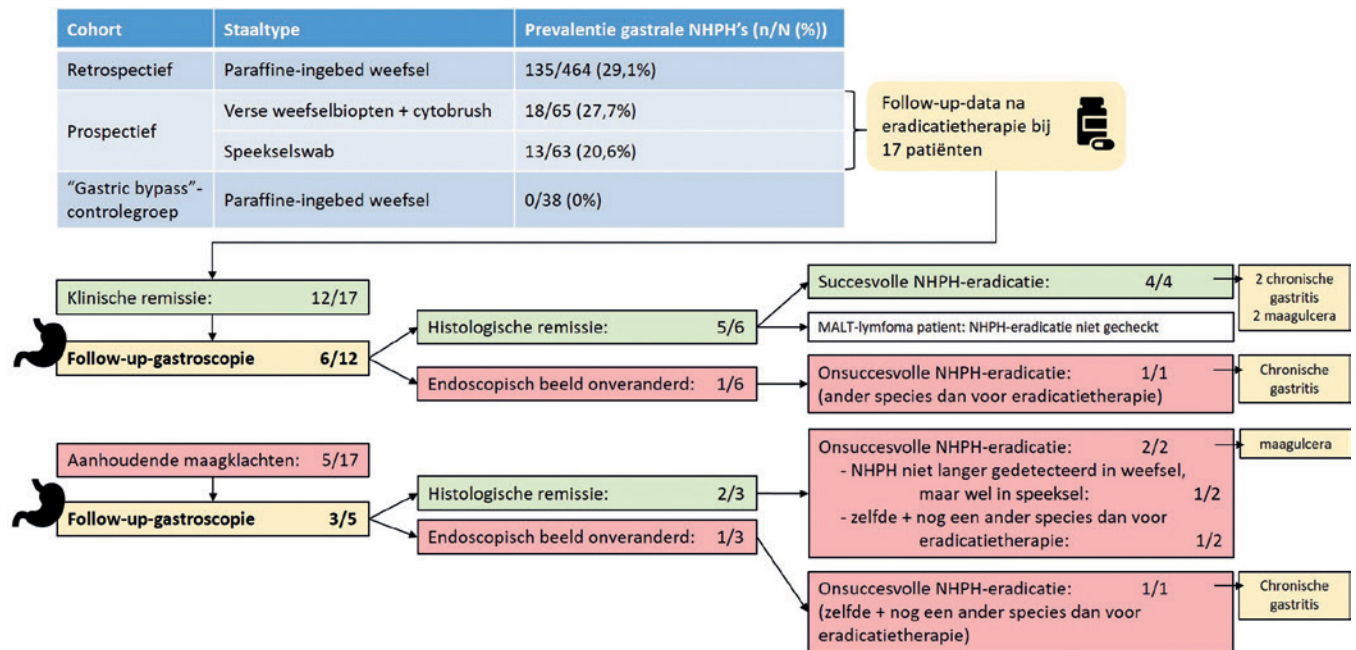
Recent werd door de auteurs van het voorliggend onderzoek een studie opgezet met als bedoeling een beter zicht te krijgen omtrent het klinisch belang van gastrale NHPH's met bewezen zoönotisch potentieel, binnen de westerse populatie (Taillieu et al., 2023b). In deze studie werden patiënten van één ziekenhuis retrospectief en patiënten van drie verschillende ziekenhuizen prospectief in de studie ingesloten. Alle patiënten werden gescreend op een negatieve voorgeschiedenis voor zowel *H. pylori*-infectie als voor het regelmatig gebruik van niet-steroidale anti-inflammatoire geneesmiddelen (NSAID's). Bij al deze patiën-

ten werd de diagnose gesteld van chronische gastritis, maagulcera of MALT-lymfomen van de maag. Als gouden standaard voor het opsporen en identificeren van gastrale NHPH's werden *polymerase chain reaction* (PCR) technieken toegepast op maagbipten waarbij het bekomen DNA gesequeneerd werd ter controle of bevestiging van het PCR-resultaat.

Retrospectief werd in 135 van de 464 gevallen (29,1%) een gastrale NHPH-infectie vastgesteld (Figuur 1). Prospectief was dat het geval bij 18 van de 65 patiënten (27,7%). De NHPH's werden zowel in het geval van chronische gastritis, als van maagulcera en MALT-lymfomen aangetoond en *H. bizzozeronii* en *H. felis* waren hierbij de frequentst gedetecteerde species, gevolgd door *H. suis* en *H. salomonis*. In een aantal gevallen kwamen menginfecties met twee of drie verschillende NHPH's voor. Binnen een retrospectieve groep van 38 asymptomatische *gastric bypass*-patiënten, ingesloten als negatieve controle-groep, werden daarentegen in geen enkel biopt gastrale NHPH's gevonden. De gastrale NHPH's waarvan het zoönotisch potentieel reeds eerder werd aangetoond, blijken dus van groter klinisch belang dan eerst werd aangenomen.

Bij 63 prospectieve patiënten werd ook een speekselwab geanalyseerd die in 13 gevallen positief bleek voor gastrale NHPH's (Figuur 1). De resultaten van de speekselwabs en de weefselbiopten kwamen evenwel niet voldoende overeen om het bemonsteren van het speeksel als alternatieve, niet-invasieve diagnostische test te kunnen aanwenden.

Prospectief geïncludeerde patiënten met een positief resultaat in het weefsel en/of speeksel, kregen standaard drievoudige *H. pylori*-eradicatietherapie voor-



**Figuur 1. Studieresultaten van een onderzoek naar de prevalentie en klinische relevantie van gastrale NHPH's bij maagpatiënten (Uit: Taillieu et al., 2023b).**

Cytobrush = hulpmiddel met een borsteltje dat toelaat cellen te collecteren die deel uitmaken van de maagmucosa tijdens gastroscopie. NHPH: Non-*Helicobacter pylori Helicobacter*; MALT: *mucosa associated lymphoid tissue*.



geschreven gevolgd door een follow-up-gastroscopie met biopsname. Van 17 patiënten konden hierover follow-up-data bekomen worden (Figuur 1). De maagklachten verdwenen na therapie bij 12/17 patiënten, van wie er zes toestemden met een follow-up-gastroscopie. Slechts bij 1/6 daarvan was het endoscopisch beeld onveranderd en was eradicatie onsuccesvol. Bij de overige vijf patiënten werd histologische remissie vastgesteld en bij vier daarvan was de eradicatie van de NHPH-species succesvol (bij één patiënt werden geen gegevens verkregen over de eradicatie). Van de 5/17 patiënten bij wie de maagklachten aanhielden, stemden er drie in met een follow-up-gastroscopie. Hoewel histologische remissie vastgesteld werd bij 2/3 patiënten, was eradicatie onsuccesvol bij de drie patiënten. Opmerkelijk was dat bij 3/4 patiënten bij wie eradicatietherapie niet succesvol was, er een andere gastrale NHPH-species gedetecteerd werd dan vóór de therapie; in twee gevallen in combinatie met de initieel gedetecteerde species. Het is mogelijk dat de ‘nieuwe’ species initieel reeds aanwezig was in lage aantallen en niet gedetecteerd werd. Vermoedelijk bestaat er een complexe interactie tussen de pathogene gastrale NHPH's en het natuurlijke maagmicrobioom, waarbij een dysbiose kan leiden tot de ontwikkeling van chronische gastritis en waarbij eradicatietherapie kan zorgen voor verschuivingen waardoor kolonisationiches opnieuw ingevuld worden door minder geveelige *Helicobacter*-stammen.

## TRANSMISSIE VAN DIER NAAR MENS

Over de transmissieroutes van deze zoönotische gastrale NHPH's bestaat nog geen duidelijkheid. De belangrijkste risicofactor wordt verondersteld direct of indirect contact met katten, honden en varkens te zijn. Overdracht zou hierbij oro-oraal of gastro-oraal kunnen gebeuren. In het verleden werd reeds melding gemaakt van een varkensdierenarts met een symptomatische *H. suis*-infectie bij wie *H. pylori* uitgesloten werd en die via eradicatietherapie genezen kon worden (Joosten et al., 2013). Gelijkaardige gevallen werden ook beschreven bij met katten en honden geassocieerde gastrale NHPH's, waaronder een *H. bizzozeronii*-infectie bij een twintig maanden oud meisje met ernstige symptomen die waarschijnlijk opgelopen werd door nauw contact met de familie hond (Montijo-Barrios et al., 2023).

*H. suis* zou ook kunnen overgedragen worden naar de mens via besmet varkensvlees. Er werd namelijk aangetoond dat *H. suis*-DNA aanwezig kan zijn op varkenskarkassen in het slachthuis (i.e. in 23/90 mondswabs; 3/90 schouder stalen; 1/90 achterham stalen) en in varkensgehakt (i.e. in 2/50 geteste batches) (De Cooman et al., 2014; De Cooman et al., 2013). Dit zou een verklaring kunnen zijn voor verscheidene *H. suis*-infecties bij patiënten zonder gekend contact met varkens (Capirchio et al., 2022; Ba-

hadori et al., 2018).

Een andere transmissieroute voor zoönotisch belangrijke NHPH's zou via gecontamineerd water kunnen zijn (Bahadori et al., 2018). Er werd namelijk aangetoond dat meerdere *Helicobacter*-species kunnen overleven in water (Azevedo et al., 2008).

## ANTIBIOTICARESISTENTIE

Rekening houdend met deze transmissieroutes en de eerste resultaten met eradicatietherapie, wordt het duidelijk dat verworven antibioticaresistentie en de overdracht daarvan tussen dier en mens een belangrijke factor kunnen zijn in het verdere onderzoek naar gastrale NHPH-infecties en de behandeling ervan. Zowel bij dier als mens werd verworven resistentie bij gastrale NHPH's reeds beschreven, onder andere in *H. suis*-isolaten afkomstig van varkens en primaten, en in *H. heilmannii* s.s.- en *H. felis*-isolaten van katten (Berlamont et al., 2019; Matos et al., 2020; Van den Bulck et al., 2005). In een maagstaal van een humane patiënte met een *H. suis*-infectie werd een mutatie vastgesteld die bij *H. pylori* geassocieerd wordt met claritromycineresistentie (Pichon et al., 2020) en in één van de weinige humane *H. suis*-isolaten die tot nu toe bekomen werden uit menselijke biopten, werd resistentie tegenover amoxicilline gedetecteerd (Rimbara et al., 2021). *H. suis*-isolaten van varkens zijn bovendien intrinsiek minder gevoelig voor aminopenicillines zoals amoxicilline, die in de humane geneeskunde frequent gebruikt wordt bij de behandeling van *H. pylori*-infecties (Berlamont et al., 2019). Bij *H. pylori* werd claritromycineresistentie in België in 2018 geschat op 17,4%, wat de grens van 15% overschrijdt waarbij het uitvoeren van gevoeligheidstesten vóór therapievoorschrift aanbevolen wordt of een alternatief schema zonder claritromycine voorgeschreven wordt (Megraud et al., 2021; Malfertheiner et al., 2017). Een van de komende uitdagingen is daarom verworven resistentie bij zowel *H. pylori* als bij gastrale NHPH's tot een minimum te beperken bij het optimaliseren van eradicatietherapie voor gastrale *Helicobacter*-species.

## CONCLUSIE EN TOEKOMSPERSPECTIEVEN

De brug tussen humane en veterinaire geneeskunde is van onmiskenbaar belang om de impact van zoönotische infecties aan het licht te brengen. Via dergelijke gecombineerde inspanningen zouden sommige maagpatiënten die tot nu toe niet verder geholpen konden worden omdat de oorzaak van hun ziekte niet gekend was, toch genezen kunnen worden. Zeker wanneer het gaat om patiënten die contact hebben met dieren, dient hier aan gedacht te worden, alhoewel infecties met gastrale NHPH's ook reeds aangetoond werden bij patiënten zonder gekend contact met honden, kat-

ten of varkens. Verdere inspanningen zullen vereist zijn om de huidige onderzoeksresultaten te valideren en de effectiviteit van eradicatietherapie voor gastrale NHPH's te optimaliseren binnen multicentrische/multinationale, gerandomiseerde studies. Met het oog op therapie-optimalisatie zal ook antibioticaresistentie een belangrijke factor zijn waarmee rekening moet gehouden worden.

## REFERENTIES

- Amorim I., Smet A., Alves O., Teixeira S., Saraiva A.L., Taulescu M., Reis C., Haesebrouck F., Gärtner F. (2015). Presence and significance of *Helicobacter* spp. in the gastric mucosa of Portuguese dogs. *Gut Pathogens* 7, 12.
- Azevedo N.F., Almeida C., Fernandes I., Cerqueira L., Dias S., Keevil C.W., Vieira M.J. (2008). Survival of gastric and enterohepatic *Helicobacter* spp. in water: implications for transmission. *Applied and Environmental Microbiology* 74(6), 1805-1811.
- Bahadori A., De Witte C., Agin M., De Bruyckere S., Smet A., Tümgör G., Güven Gökmen T., Haesebrouck F., Köksal F. (2018). Presence of gastric *Helicobacter* species in children suffering from gastric disorders in Southern Turkey. *Helicobacter* 23(5), e12511.
- Berlamont H., Smet A., De Bruyckere S., Boyen F., Ducatelle R., Haesebrouck F., De Witte C. (2019). Antimicrobial susceptibility pattern of *Helicobacter suis* isolates from pigs and macaques. *Veterinary Microbiology* 239, 108459.
- Boyanova, L., Lazarova, E., Jeleu, C., Gergova, G., Mitov, I. (2007). *Helicobacter pylori* and *Helicobacter heilmannii* in untreated Bulgarian children over a period of 10 years. *Journal of Medical Microbiology* 56(Pt 8), 1081-1085.
- Bridgeford E.C., Marini R.P., Feng Y., Parry N.M.A., Rickman B., Fox J.G. (2008). Gastric *Helicobacter* species as a cause of feline gastric lymphoma: A viable hypothesis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 123, 106-113.
- Van den Bulck K., Decostere A., Gruntar I., Baele M., Krt B., Ducatelle R., Haesebrouck F. (2005). *In vitro* antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter felis*, *H. bizzozeronii*, and *H. salomonis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49(7), 2997-3000.
- Capirchio L., Huang T.D., De Witte C., Haesebrouck F., Fervaille C., Gillain C., Rahier J.F., De Ronde T. (2022). Elevated carbohydrate antigen 19-9 following *Helicobacter suis* gastritis and normalisation after eradication: first case report and review of the literature. *Acta Gastroenterologica Belgica* 85(2), 403-405.
- De Cooman L., Flahou B., Houf K., Smet A., Ducatelle R., Pasmans F., Haesebrouck F. (2013). Survival of *Helicobacter suis* bacteria in retail pig meat. *International Journal of Food Microbiology* 166, 164-167.
- De Cooman L., Houf K., Smet A., Flahou B., Ducatelle R., De Bruyne E., Pasmans F., Haesebrouck F. (2014). Presence of *Helicobacter suis* on pork carcasses. *International Journal of Food Microbiology* 187, 73-76.
- Cortez Nunes F., Letra Mateus T., Taillieu E., Teixeira S., Carolino N., Rema A., De Bruyckere S., Gärtner F., Haesebrouck F., Amorim I. (2022). Molecular detection of *Helicobacter* spp. and *Fusobacterium gastroisuis* in pigs and wild boars and its association with gastric histopathological alterations. *Veterinary Research* 53(1), 1-12.
- Debonnie J., Donnay M., Mairesse J., Lamy V., Dekoninck X., Ramdani B. (1998). Gastric ulcers and *Helicobacter heilmannii*. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 10(3), 251-254.
- Ekman E., Fredriksson M., Trowald-Wigh G. (2013). *Helicobacter* spp. in the saliva, stomach, duodenum and faeces of colony dogs. *Veterinary Journal* 195, 127-129.
- Flahou B., Rossi M., Bakker J., Langermans J.A.M., Heuvelman E., Solnick J. V., Martin M.E., O'Rourke J., Ngolan L.D., Hoa N.X., Nakamura M., Øverby A., Matsui H., Ota H., Matsumoto T., Foss D.L., Kopta L.A., Omotosho O., Franciosini M.P., Casagrande Proietti P., Guo A., Liu H., Borilova G., Bracarense A.P., Lindén S.K., De Bruyckere S., Zhang G., De Witte C., Smet A., Pasmans F., Ducatelle R., Corander J., Haesebrouck F. (2018). Evidence for a primate origin of zoonotic *Helicobacter suis* colonizing domesticated pigs. *The ISME Journal* 12, 77-86.
- Guerra Segundo D.D., Mello C.B.E., Cargnelutti J.F., Flores M.M., Pedrotti L.F., Antunes B.N., Milech V., Velasquez O.G., Martins L.R., Pinto Filho S.T.L. (2021). Evidence of *Helicobacter* spp. in saliva and gastric mucosa of domestic dogs in the central region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Veterinary Medicine International* 2021.
- Haesebrouck F., Pasmans F., Flahou B., Chiers K., Baele M., Meyns T., Decostere A., Ducatelle R. (2009). Gastric helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. *Clinical Microbiology Reviews* 22(2), 202-223.
- Heilmann, K. L., Borchard, F. (1991). Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological, and ultrastructural findings. *Gut* 32(2), 137-140.
- Hermanns W., Kregel K., Breuer W., Lechner J. (1995). *Helicobacter*-like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. *Journal of Comparative Pathology* 112, 307-318.
- Hilzenrat, N., Lamoureux, E., Weintrub, I., Alpert, E., Lichter, M., Alpert, L. (1995). *Helicobacter heilmannii*-like spiral bacteria in gastric mucosal biopsies. Prevalence and clinical significance. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 119(12), 1149-1153.
- Iwanczak, B., Biernat, M., Iwanczak, F., Grabinska, J., Matusiewicz, K., Gosciniak, G. (2012). The clinical aspects of *Helicobacter heilmannii* infection in children with dyspeptic symptoms. *Journal of Physiology and Pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society* 63(2), 133-136.
- Joo, M., Kwak, J. E., Chang, S. H., Kim, H., Chi, J. G., Kim, K. A., Yang, J. H., Lee, J. S., Moon, Y. S., Kim, K. M. (2007). *Helicobacter heilmannii*-associated gastritis: clinicopathologic findings and comparison with *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Journal of Korean Medical Science* 22(1), 63-69.
- Joosten M., Flahou B., Meyns T., Smet A., Arts J., De Cooman L., Pasmans F., Ducatelle R., Haesebrouck F. (2013). Case report: *Helicobacter suis* infection in a pig veterinarian. *Helicobacter* 18(5), 392-396.
- Kubonová, K., Trupi, J., Jancula, L., Polák, E., Vráblik, V. (1991). Presence of spiral bacteria ("*Gastrospirillum hominis*") in the gastric mucosa. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology* 10(5), 459-460.

- Kubota-Aizawa S., Ohno K., Kanemoto H., Nakashima K., Fukushima K., Uchida K., Chambers J.K., Goto-Koshino Y., Mimuro H., Watanabe T., Sekizaki T., Tsujimoto H. (2017a). Epidemiological study on feline gastric *Helicobacter* spp. in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 79(5), 876-880.
- Kubota-Aizawa S., Ohno K., Fukushima K., Kanemoto H., Nakashima K., Uchida K., Chambers J.K., Goto-Koshino Y., Watanabe T., Sekizaki T., Mimuro H., Tsujimoto H. (2017b). Epidemiological study of gastric *Helicobacter* spp. in dogs with gastrointestinal disease in Japan and diversity of *Helicobacter heilmannii* sensu stricto. *Veterinary Journal* 225, 56-62.
- Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A., Gisbert J.P., Kuipers E.J., Axon A.T., Bazzoli F., Gasbarrini A., Atherton J., Graham D.Y., Hunt R., Moayyedi P., Rokkas T., Ruge M., Selgrad M., Suerbaum S., Sugano K., El-Omar E.M. (2017). Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut* 66, 6-30.
- Marshall B.J., Warren J.R. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The Lancet* 323(8390), 1311-1315.
- Matos R., De Witte C., Smet A., Berlamont H., De Bruyckere S., Amorim I., Gärtner F., Haesebrouck F. (2020). Antimicrobial susceptibility pattern of *Helicobacter heilmannii* and *Helicobacter ailurogastricus* isolates. *Microorganisms* 8(6), 957.
- Megraud F., Bruyndonckx R., Coenen S., Wittkop L., Huang T.D., Hoebeke M., Bénégat L., Lehours P., Goossens H., Glupczynski Y., Makristathis A., Boyanova L., Tonkic A., Tonkic M., Andersen L., Blumel B., Glocker E., Tammer I., Link A., Suerbaum S., Dichtl K., Mentis A., Martinez-Gonzales B., Smith S., McNamara D., Pina Dore M., Monno R., Lippolis A., Rudzite D., Leja M., Kupcinkas J., Melby K.K., Gosciniak G., Karpinski T.M., Oleastro M., Jeverica S., Calvet X., Ramirez-Lázaro M.J., Montes Ros M., Morilla A., Boonstra S., Schneeberger P.M. (2021). *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe in 2018 and its relationship to antibiotic consumption in the community. *Gut* 70(10), 1815-1822.
- Mention, K., Michaud, L., Guimber, D., Martin De Lasalle, E., Vincent, P., Turck, D., Gottrand, F. (1999). Characteristics and prevalence of *Helicobacter heilmannii* infection in children undergoing upper gastrointestinal endoscopy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 29(5), 533-539.
- Montijo-Barríos E., Celestino-Pérez O.Y., Morelia-Mandujano L., Rojas-Maruri C.M., Smet A., Haesebrouck F., De Witte C., Romo-González C. (2023). *Helicobacter bizzozeronii* infection in a girl with severe gastric disorders in Mexico: case report. *BMC Pediatrics* 23(1), 364.
- Morgner A., Lehn N., Andersen L.P., Thiede C., Bennedson M., Trebesius K., Neubauer B., Neubauer A., Stolte M., Bayerdörffer E. (2000). *Helicobacter heilmannii*-associated primary gastric low-grade MALT Lymphoma: Complete remission after curing the infection. *Gastroenterology* 118(5), 821-828.
- Nakamura M., Øverby A., Michimae H., Matsui H., Takahashi S., Mabe K., Shimoyama T., Sasaki M., Terao S., Kamada T., Yanaka A., Iwamoto J., Tanabe S., Tari A., Nasu S., Suzuki H., Yamagata Murayama S. (2020). PCR analysis and specific immunohistochemistry revealing a high prevalence of non-*Helicobacter pylori* Helicobacters in *Helicobacter pylori*-negative gastric disease patients in Japan: High susceptibility to an Hp eradication regimen. *Helicobacter* 25(5), e12700.
- Neiger R., Dieterich C., Burnens A., Waldvogel A., Corthésy-Theulaz I., Halter F., Lauterburg B., Schmassmann A. (1998). Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. *Journal of Clinical Microbiology* 36(3), 634-637.
- Norris C.R., Marks S.L., Eaton K.A., Torabian S.Z., Munn R.J., Solnick J. v. (1999). Healthy cats are commonly colonized with '*Helicobacter heilmannii*' that is associated with minimal gastritis. *Journal of Clinical Microbiology* 37(1), 189-194.
- Okiyama Y., Matsuzawa K., Hidaka E., Sano K., Akamatsu T., Ota H. (2005). *Helicobacter heilmannii* infection: Clinical, endoscopic and histopathological features in Japanese patients. *Pathology International* 55, 398-404.
- Øverby A., Murayama S.Y., Michimae H., Suzuki H., Suzuki M., Serizawa H., Tamura R., Nakamura S., Takahashi S., Nakamura M. (2017). Prevalence of gastric non-*Helicobacter pylori*-helicobacters in Japanese patients with gastric disease. *Digestion* 95(1), 61-66.
- Pichon M., Broutin L., Touroult-Jupin P., Cremniter J., Plouzeau C., Faure J.P., Olivier R., Burucoa C. (2020). First detection in *Helicobacter suis* of a mutation conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori*: Case report and review of the literature. *Microbial Drug Resistance* 26(6), 677-680.
- Polanco R., Salazar V., Reyes N., García-Amado M.A., Michelangeli F., Contreras M. (2011). Alta prevalencia de ADN de los helicobacteres no-*H. pylori* en la mucosa gástrica de perros domésticos venezolanos y sus alteraciones histopatológicas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 53(4), 207-212.
- Rimbara E., Suzuki M., Matsui H., Nakamura M., Morimoto M., Sasakawa C., Masuda H., Nomura S., Osaki T., Nagata N., Shibayama K., Tokunaga K. (2021). Isolation and characterization of *Helicobacter suis* from human stomach. *PNAS* 118(13), e2026337118.
- Scanziani E., Simpson K.W., Monestiroli S., Soldati S., Strauss-Ayali D., Del Piero F. (2001). Histological and immunohistochemical detection of different *Helicobacter* species in the gastric mucosa of cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 13, 3-12.
- Smet A., Yahara K., Rossi M., Tay A., Backert S., Armin E., Fox J.G., Flahou B., Ducatelle R., Haesebrouck F., Corander J. (2018). Macroevolution of gastric *Helicobacter* species unveils interspecies admixture and time of divergence. *The ISME Journal* 12(10), 2518-2531.
- Taillieu E., Chiers K., Amorim I., Gärtner F., Maes D., Van Steenkiste C., Haesebrouck F. (2022). Gastric *Helicobacter* species associated with dogs, cats and pigs: significance for public and animal health. *Veterinary Research* 53(1), 42.
- Taillieu E., De Bruyckere S., Van Steenkiste C., Chiers K., Haesebrouck F. (2023a). Presence of potentially novel *Helicobacter pylori*-like organisms in gastric samples from cats and dogs. *Veterinary Research* 54(1), 93.
- Taillieu E., De Witte C., De Schepper H., Van Moerkercke W., Rutten S., Michiels S., Arnst Y., De Bruyckere S., Francque S., van Aert F., George C., Callewaert E., Callewaert T., Vanneste G., Vanderstraeten E., Van Hedegem N., Vansteelant M., Chiers K., Haesebrouck F., Van Steenkiste C. (2023b). Clinical significance and impact of gastric non-*Helicobacter pylori* *Helicobacter*



- species in gastric disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 57(12), 1432-1444.
- Thomson J.R., Friendship R.M. (2012). Digestive System. In: J. J. Zimmerman, L. A. Karriker, A. Ramirez, K. J. Schwartz, & G. W. Stevenson (editors). *Diseases of Swine*. Wiley-Blackwell, p. 208-211.
- Wiinberg B., Spohr A., Dietz H.H., Egelund T., Greiter-Wilke A., McDonough S.P., Olsen J., Priestnall S., Chang Y.F., Simpson K.W. (2005). Quantitative analysis of inflammatory and immune responses in dogs with gastritis and their relationship to *Helicobacter* spp. infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19, 4-14.
- De Witte C., Devriendt B., Flahou B., Bosschem I., Ducatelle R., Smet A., Haesebrouck F. (2017). *Helicobacter suis* induces changes in gastric inflammation and acid secretion markers in pigs of different ages. *Veterinary Research* 48, 34.
- Yali, Z., Yamada, N., Wen, M., Matsuhisa, T., Miki, M. (1998). *Gastrospirillum hominis* and *Helicobacter pylori* infection in Thai individuals: comparison of histopathological changes of gastric mucosa. *Pathology International* 48(7), 507-511.
- Yang, H., Goliger, J. A., Song, M., Zhou, D. (1998). High prevalence of *Helicobacter heilmannii* infection in China. *Digestive Diseases and Sciences* 43(7), 1493.



© 2024 by the authors. Licensee Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, Ghent University, Belgium. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of

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

## Oproep

### Gevallen uit de praktijk in het Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift

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

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

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

## Forensische diergeneeskunde: het haar-ID-project, een opdracht voor SherLOCK

*Veterinary forensics: the hair ID project, an assignment for SherLOCK*

S.I. Galjé, A. Decostere, K. Chiers, L. Van Brantegem

Vakgroep Pathobiologie, Farmacologie en Bijzondere dieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke

Shirell.galje@gmail.com  
Leen.VanBrantegem@ugent.be

### SAMENVATTING

Tot op heden is er geen éénduidige methode die als gouden standaard wordt gebruikt bij het lichtmicroscopisch identificeren van haren van verschillende diersoorten. Deze studie had als doel twee haarpreparatieprotocollen voor lichtmicroscopische haaridentificatie op punt te stellen. Op basis daarvan werd gestart met het opstellen van een haaratlas die in de toekomst gebruikt kan worden als naslagwerk wanneer er nood is aan diersoortidentificatie op basis van haarmorfologie. Er werden 152 haren van dertien verschillende diersoorten onderworpen aan twaalf verschillende preparatiemethoden, die nadien beoordeeld werden met behulp van vooraf gedefinieerde criteria. Op basis van de testresultaten werden twee uitgewerkte protocollen opgesteld: één voor de methode met Aquatex en één voor de methode met transparante nagellak. Met behulp van deze methoden konden haren van konijnen, reeën en schapen relatief eenvoudig microscopisch gedifferentieerd worden van de andere bestudeerde diersoorten. Om zeker te zijn dat deze kenmerken ook diersoortspecifiek zijn, moet er echter bijkomend onderzoek worden uitgevoerd.

### ABSTRACT

To date, there is no gold standard method for light microscopic hair identification of different animal species. The aim of this study was to develop two hair preparation protocols for light microscopic hair identification and to use this as a foundation to initiate the development of a hair atlas. This atlas can be used in the future as a reference when there is a demand for species identification based on hair morphology. One hundred fifty two hairs from thirteen different animal species were subjected to twelve different preparation methods, which were then reviewed following predefined criteria. Based on the test results, two protocols were drawn up: one for the method with Aquatex and one for the method with transparent nail polish. Using these methods, rabbit, deer and sheep hairs could be microscopically differentiated relatively easily from the other animal species in the study. However, to ensure that these characteristics are also species-specific, additional research must be conducted.

### INLEIDING

Forensisch haaronderzoek behelst het analyseren en identificeren van haren. Door haren te identificeren tijdens forensisch onderzoek, kan worden aangetoond of een dier of mens al dan niet in contact is geweest met een dier, een mens of een locatie (Oien, 2009). Identificatie van haren kan gebeuren op basis van DNA-onderzoek of op basis van haarmicroscopie.

DNA-onderzoek kent twee soorten testen: testen waarbij gebruik gemaakt wordt van nucleair DNA en

testen waarbij gebruik gemaakt wordt van mitochondriaal DNA (Deedrick en Koch, 2004b; Bekaert et al., 2012; Melton et al., 2012; Brandhagen et al., 2018; Syndercombe-Court, 2021). Momenteel wordt nucleair DNA-onderzoek gezien als de gouden standaard voor het identificeren van (dier)soorten op basis van haarstalen (Lynch, 2003; Pilli et al., 2014).

Bij nucleair DNA-onderzoek wordt een DNA-staal genomen ter hoogte van de haarwortel, aangezien enkel daar nog celkernen aanwezig zijn. De staalname van nucleair DNA is onmogelijk op het moment dat

de haarwortel ontbreekt, of wanneer er geen celkernen meer in de wortel aanwezig zijn. Om de celkernen te visualiseren kan gewerkt worden met een fluorescerende kleurstof, 4'-6-diamidino-2-fenylindole, die vooral aan chromatine bindt en een fluorescentiemicroscop (Bourguignon et al., 2008). Bijkomende nadelen van nucleaire DNA-testen zijn de hoge kostprijs en de vereiste dat er voldoende DNA-materiaal in het haar aanwezig is om de test uit te voeren (Kowalski et al., 2004).

Mitochondriaal DNA-onderzoek kan worden toegepast op haren die niet geschikt zijn voor nucleaire analyse, door degradatie, het gebrek aan celkernen of het ontbreken van de wortel. Er kan over bijna de gehele lengte van de haarschacht een mitochondriaal DNA-staal worden genomen. Mitochondriaal DNA-onderzoek heeft echter ook beperkingen, aangezien met deze techniek enkel kan geïdentificeerd worden op groepsniveau (gedeelde maternale afkomst) en niet op het niveau van één specifiek individu (Syndercombe-Court, 2021).

Haaridentificatie met behulp van een lichtmicroscop is gebaseerd op het morfologisch vergelijken van haren van onbekende oorsprong met haren van bekende oorsprong (Hicks, 1977). Het voordeel van lichtmicroscopische haaridentificatie is dat eender welke haren onderzocht kunnen worden en niet enkel degene die voldoende DNA bevatten. Daarnaast ligt de kostprijs lager daar er enkel standaard aanwezige laboratoriumapparatuur, zoals een lichtmicroscop, draagglasjes en media, nodig is om het onderzoek uit te voeren. Om tot een betrouwbare conclusie te komen, dient de onderzoeker echter veel ervaring te hebben met het microscopisch beoordelen van haren en dient deze toegang te hebben tot een goede data-

base ter vergelijking van het haar in kwestie (Pilli et al., 2014). Ook moet de onderzoeker een goede kennis hebben van de verschillende haarsoorten en de haaranatomie en wordt in het beste geval enkel info over diersoort of eventueel ras verkregen (Oien, 2009).







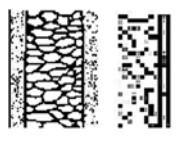




### HAARSOORTEN EN HAARANATOMIE

Haren zijn epidermale structuren die voorkomen bij zoogdieren (Wandhare en Bhosale, 2017; Senthilkumar et al., 2018). Zoogdieren hebben verschillende soorten haren die behoren tot de ondervacht, de dekharen of de tasharen (Deedrick en Koch, 2004a). Bij specifieke diersoorten waaronder lama's, schapen en paarden zijn er ook nog andere haren, zoals staartharen, manen en wolharen aanwezig (Deedrick en Koch, 2004a; Chattha et al., 2011).

Dekharen zijn de belangrijkste haren met betrekking tot identificatie, waarbij het haar kan worden opgedeeld in een schede, transit en een schild. De schede bevindt zich aan de basis van het haar en loopt via een transitregio over in het schild naar de haarpunt toe (Teerink, 1991).

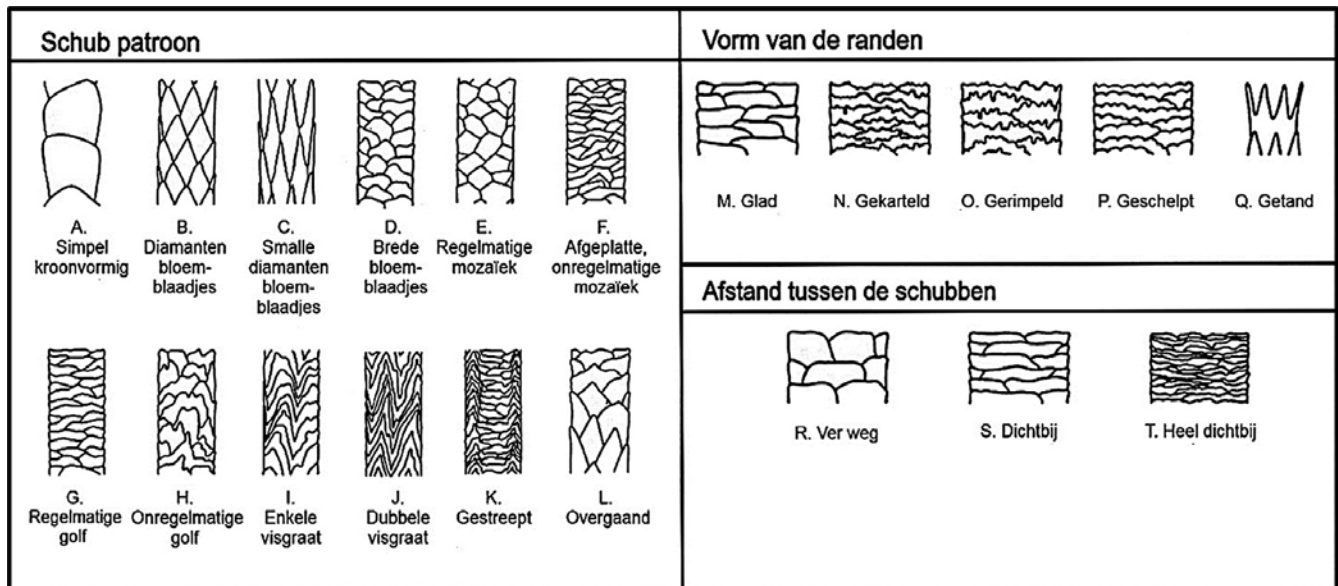
Microscopisch bestaat een haar op doorsnede uit drie, morfologisch onderscheidbare structuren (Hicks, 1977; Ahmed et al., 2018; Senthilkumar et al., 2018). Van binnen naar buiten toe bekeken, bestaat een haar uit de medulla, de cortex en de cuticula.

De medulla is de binnenste laag van een haar. Binnen de medulla kan het medullair patroon beschouwd worden over de gehele lengte van de haarschacht, de structuur van de medulla en de vorm van de randen van de medulla (Hicks, 1977; Teerink, 1991; De Marinis, 2006; Wandhare en Bhosale, 2017; Sari en Ar-

Patroon	 <p>Continu</p>			 <p>Gefragmenteerd</p>		
Structuur	 <p>Amorf</p>	 <p>Uniseriate</p>	 <p>Multiseriate</p>	 <p>Filled lattice</p>	 <p>Gedeeltelijk filled lattice</p>	 <p>Gevacuoleerd</p>
Vorm van de randen	 <p>Onregelmatig</p>		 <p>Recht</p>		 <p>Geschelpt</p>	

Figuur 1. De verschillende patronen, structuren en randvormen van de medulla van haren (Uit: De Marinis en Asprea, 2006).





**Figuur 2.** De verschillende schubpatronen, randvormen en afstanden tussen de cuticulaschubben van haren (Uit: Brunner en Coman, 1974).

pacik, 2018) (Figuur 1). Daarnaast is er de medulaire index, die kan meebepalen of een haar afkomstig is van een mens, dier of om onderscheid te maken tussen honden en katten (Robertson, 1999). De medulaire index is de verhouding van de medulaire diameter ten opzichte van de diameter van de haarschacht, die wordt berekend door de diameter van de medulla te delen door de totale diameter van het haar (Mathiak, 1938; Robertson, 1999). Dieren hebben een medulaire index die, naargelang de diersoort en het ras, varieert tussen de 0,3 en 0,9. Bij de mens is de index altijd kleiner dan 0,3 (Robertson, 1999; Deedrick en Koch, 2004a; Wilson en Wheeler, 2008; Wandhare en Bhosale, 2017). De cortex is de middelste laag van een haar en is opgebouwd uit langwerpige, gekeratiniseerde cellen (Hicks, 1977; Sari en Arpacik, 2018). De cortex kan ook corticale fusi, pigmentgranulen en ovoïde lichaampjes bevatten (Deedrick en Koch, 2004; Oien, 2009). Bij de pigmentgranulen is het belangrijk om te kijken naar de kleur, grootte en vorm van de pigmenten, de pigmentdistributie en de concentratie van het pigment. De cuticula is de buitenste laag van een haar, die instaat voor de bescherming van de binnenste lagen (Teerink, 1991). Deze wordt gevormd door meerdere lagen dode cellen die elkaar overlappen, wat bij microscopisch onderzoek waargenomen wordt als een schubbenpatroon (Hicks, 1977; Chattha et al., 2011). De schubben volgen altijd de lengterichting van het haar, van de wortel naar de haarpunt toe. Het bekijken van het schubbenpatroon van de cuticula, de rand van de schubben en de afstand tussen de schubben speelt een belangrijke rol in het identificatieproces (Brunner en Coman, 1974; Hicks, 1977; Deedrick en Koch, 2004a; Sari en Arpacik, 2018; Ahmed et al., 2018) (Figuur 2).

## MOUNTING-METHODEN

Aangezien in dit studiegebied vaak gebruik gemaakt wordt van Engelse termen, werd ervoor gekozen deze in het verdere verloop van het artikel te hanteren.

Alvorens haren te kunnen bekijken onder de lichtmicroscop, moet er een *mounting*-methode worden toegepast. Dit is een manier van prepareren alvorens een haar wordt bekeken onder de microscoop. Tijdens dit proces worden de haren al dan niet permanent gefixeerd op een draagglasje. Er wordt daarbij een onderscheid gemaakt tussen *dry*- en *wet mounts*. Een *dry mount* is een *mounting*-methode zonder vloeistof, bij een *wet mount* wordt er wel vloeistof gebruikt. De *wet mounts* worden opgedeeld in *whole mounts* en *scale castings* (Adya et al., 2011; Chattha et al., 2011).

*Whole mounts* zijn methoden waarbij de interne structuren van een haar worden gevisualiseerd (Chattha et al., 2011). Het verschil tussen de methoden ligt vooral in het medium dat wordt gebruikt om het haar op het draagglasje te fixeren.

*Scale castings* zijn een manier om de cuticulaschubben van een haar te bestuderen door een negatieve afdruk of *scale cast* te maken. Lichtmicroscopisch onderzoek gebeurt door een haar op een draagglasje met kleverig substraat te leggen en zodra het droog is, het haar weer te verwijderen (Chattha et al., 2011).

Binnen de *wet mounts* zijn tijdelijke en permanente *mounts* van elkaar te onderscheiden. Bij tijdelijke *mounts* worden niet-destructieve stoffen gebruikt, waardoor het haar na het onderzoek onbeschadigd en gemakkelijk te verwijderen is. Bij permanente *mounts*, waarbij het haar stevig op het draagglasje

gefixeerd wordt, moet een extra handeling worden uitgevoerd indien verder onderzoek van een haar nodig is. Bij *whole mounts* wordt het dekglasje van het preparaat gebroken om het haar te verwijderen en in het geval van een *scale cast* wordt het haar uit het substraat verwijderd met een pincet.

## MATERIAAL EN METHODE

Over een periode van drie maanden werden er in de autopsiezaal van het Laboratorium Veterinaire Pathologie van de Faculteit Diergeneeskunde (UGent) haren geïncubeerd van verschillende diersoorten, i.e. hond, kat, paard, ezels, rund, varken, alpaca, schaap, geit, konijn, ree, maki en zeehond. De haarcollectie vond in alle gevallen plaats ter hoogte van de rugstreek. Met behulp van een pincet werden meerdere dekhaaren (in de rugstreek waren dit wolhaaren in het geval van schapen en alpaca's) uitgetrokken (De Marinis en Asprea, 2006; Cornally en Lawton, 2018; Senthilkumar et al., 2018). De haren werden zo dicht mogelijk bij de huid vastgenomen en met een kordate beweging uitgetrokken, zonder de haren te beschadigen. De haren werden in een papieren envelop gestopt, waarop het identificatienummer, de vachtkleur, het ras, het geslacht en de leeftijd werden genoteerd. De bewaring van de enveloppen gebeurde vervolgens in een afsluitbare plastic ton. In de ton werd een zakje silicakorrels toegevoegd om eventueel ingetreden vocht uit de omgeving te absorberen (Kendall en McKelvey, 2008).

Er werden tien methoden geëvalueerd voor het maken van *whole mounts* en twee voor het maken van een haarafdruk (Tabel 1). Bij de *whole mount*-methoden werd methode 1 uitgevoerd door een haar

zonder media aan te brengen op een dekglasjes en vervolgens vast te zetten aan de uiteinden met plakband. Bij methode 2 werd er een haar aangebracht op een dekglasje en vervolgens bedekt met doorzichtig plakband. Bij methode 4w werd er een haar aangebracht op een dekglasje en met transparante nagellak een laag over het haar aangebracht. Methode 3, 6, 7, 8, 9, 10 en 11 werden uitgevoerd door een druppel van het desbetreffende medium aan te brengen op een draagglasje alvorens er een haar op aan te brengen en er bovenop een dekglasje te plaatsen. Het medium van methode 7 werd hiervoor geprepareerd volgens het recept van Larry Legg: [www.microscopy-uk.org.uk](http://www.microscopy-uk.org.uk)

Voor de *casting*-methoden werd er voor methode 4c een verticale strook nagellak aangebracht op het draagglasje met behulp van een nagellakwastje en bij methode 5 werd de gelatineoplossing aangebracht op het draagglasje met een kleine lepel in zoverre dat er een vlakke gelatinelaag ontstond. Na enkele seconden werd bij beide methoden het haar bovenop het nog plakkerige medium aangebracht. In het geval van M4c kon het haar met een pincet uit de nagellak worden verwijderd binnen een tijdsbestek van twee à vijftien minuten. Bij methode 5 dient er een minimum van dertig minuten te worden gewacht, alvorens het haar met een pincet terug uit het medium te verwijderen.

Bovengenoemde methoden werden een voor een op de haren van twee zoogdieren uitgetest: één dier met een witte en één met een donkerbruine vachtkleur. Na toepassing van elke methode werden de haren op de geprepareerde dekglasjes onder een lichtmicroscoop (Leica DMLB 100S) bekeken, gefotografeerd en gefilmd met een mobiele telefoon (Xiaomi Redmi 9 Pro) op een 100x- en een 400x-vergroting. Het

**Tabel 1. De *mounting media* die zijn geëvalueerd met betrekking tot het maken van *whole mounts* en haarafdrukken. (Twiggs, 1975; Teerink et al., 1991; Crocker, 1998; Adya et al., 2011; Sepulveda en Kinsella, 2013; Cornally en Lawton, 2016; Ahmed et al., 2018).**

Methoden <i>whole mount</i>	<i>Mounting media</i>
Methode 1 (M1)	<i>Dry mount</i>
Methode 2 (M2)	Plakband
Methode 3 (M3)	Water
Methode 4w (M4w)	Transparante nagellak (Essence)
Methode 6 (M6)	Paraffineolie
Methode 7 (M7)	Fructoseoplossing (Larry Legg)
Methode 8 (M8)	Maissiroop (Karo)
Methode 9 (M9)	Aquatex (Merck) hematologisch <i>mounting medium</i>
Methode 10 (M10)	Lactofenol
Methode 11 (M11)	Richard Allen Scientific <i>mounting medium</i> (RASMM)
Methoden haarafdrukken	<i>Mounting media</i>
Methode 4c (M4c)	Transparante nagellak (Essence)
Methode 5 (M5)	Gelatineoplossing 20%

**Tabel 2. Beoordelingsresultaten van twaalf geteste methoden. Aan ieder criterium werd per methode één van de volgende scores toegekend: - (slecht), +/- (matig), + (goed).**

M	Beeld- kwaliteit medulla	Beeld- kwaliteit cuticula	Hanteer- baarheid	Benodigde tijd	Reprodu- ceerbaarheid	Bewaar- tijd	Aankoop- prijs
<b>Cast</b>							
<b>M4c</b>		+	+	+/-	+	+	+(3€)
<b>M5</b>		+/-	-	-	+/-	-	+(5€)
<b>Whole mount</b>							
<b>M1</b>	-		+	+	+	+	+(<1€)
<b>M2</b>	+/-		+/-	+	+	+	+(<1€)
<b>M3</b>	+/-		+	+	+	-	+(<1€)
<b>M4w</b>	+/-		+	+/-	+	+	+(3€)
<b>M6</b>	+/-		-	+	+	-	+(4€)
<b>M7</b>	+		-	-	+/-	-	+(3€)
<b>M8</b>	+/-		-	+	+	-	+(7€)
<b>M9</b>	+		+	+	+	+	+/- (43€)
<b>M10</b>	-		+/-	+	+	-	+(10€)
<b>M11</b>	+/-		-	+	+	+	-(165€)

M= methode, M4c= transparante nagellak (Essence), M5= gelatine, M1= *dry mount*, M2= plakband, M3= water, M4w= transparante nagellak (Essence), M6= paraffineolie, M7= fructoseoplossing, M8= maissiroop (Karo), M9= Aquatex (Merck), M10= lactofenol, M11= RASMM (Thermo Scientific). Donker-groene arcering = criterium niet van toepassing op de desbetreffende methode.

proces van prepareren, fotograferen en filmen werd herhaald, totdat alle twaalf methoden toegepast waren voor beide dieren.

De foto's van de haren werden op een computerscherm (MacBook Pro) beoordeeld op volgende criteria: kwaliteit van visualisatie van de medulla en de cuticulaschubben. Daarnaast werden de hanteerbaarheid, de benodigde tijd voor het uitvoeren van het onderzoek, de reproduceerbaarheid, de mogelijkheid tot bewaring en de aankoopprijs van het *mounting medium* beoordeeld (Tabel 2). Aan bovengenoemde criteria werd per methode een van de volgende scores toegekend: - (slecht), +/- (matig), + (goed). Bij 'benodigde tijd' werd een preparatietijd van boven de dertig minuten beschouwd als slecht, een tijd onder de vijf minuten als goed en een tijd tussen de vijf en dertig minuten als matig. De bewaring werd beoordeeld op basis van de mogelijkheid om de draagglazjes met de geprepareerde haren verticaal te bewaren in een microscopie-preparatenbox.

Op basis van de resultaten werd verder gewerkt met twee methoden. Van deze twee methoden werden tijdens het verdere verloop van de studie per dier foto's genomen met een fototoestel (Leica DFC 320 R2) dat gemonteerd werd op een microscoop (Leica DM LB 2). De haarkleur, de haarlengte, de haardiameter, de medulladiameter, het medullaire patroon, de medullaire structuur, de medullaire rand, het schubbenpatroon van de cuticula, de rand van de schubben en de afstand tussen de schubben werden onderzocht met behulp van een microscoop (Leica DM LB 2) en vervolgens genoteerd per individueel dier. De medulla- en haardiameter werd gemeten op de helft van de totale haarlengte met behulp van een beeldanalyse-systeem (Leica Application Suite 4.0), waarna de medullaire index berekend werd met Excel. De typering

van de medulla en het schubbenpatroon van de cuticula gebeurde op basis van foto's met 100x- en 200x-vergroting met behulp van de gegevens vermeld in Figuur 1 en 2. Naderhand werd er met alle verzamelde gegevens nagegaan in hoeverre er karakteristieken of unieke kenmerken aanwezig waren in de cuticula en medulla, die specifiek toe te schrijven waren aan een bepaalde diersoort.

## RESULTATEN

Op basis van de testresultaten werden concreet uitgewerkte protocollen opgesteld voor één *casting*-methode (M4c) en één *whole mount*-methode (M9) (Tabel 2). Deze protocollen leggen stap voor stap uit hoe een haar geïdentificeerd, geëtiketteerd, bewaard en vervolgens onderzocht dient te worden en welke materialen en producten daarbij nodig zijn. Beide protocollen beginnen met de eerder besproken richtlijnen voor haarcollectie en identificatie.

### Protocol nagellak-casting-methode voor de visualisatie van het schubpatroon (M4c)

Er wordt op de korte zijde van een draagglazje een verticale strook transparante nagellak aangebracht. Na drie seconden wordt het haar met een pincet op de nagellak gelegd en eventueel aangedrukt om zeker te zijn dat de haarschacht in de nagellak terechtkomt. De nagellak moet vervolgens enkele minuten drogen vooraleer het haar met behulp van een pincet verwijderd wordt uit de nagellak. Als de haarlengte beperkt is, kan met een naald eerst één kant van het haar uit de nagellak worden losgemaakt, vooraleer de rest met het pincet verwijderd wordt. De resulterende afdruk



wordt bekeken en gefotografeerd op een 100x- en 200x-vergroting (Leica DM LB 2, Leica DFC 320 R2, Las 4.0). De typering van de cuticulaschubben kan gebeuren middels een vergelijking van de gemaakte foto's met de patronen weergegeven in Figuur 2.

### Protocol *whole mount* met Aquatex voor de visualisatie van de inwendige structuren (M9)

Een druppel Aquatex (Merck, Duitsland) ter grootte van ongeveer 0,5 cm wordt aangebracht op een draagglaasje. Vervolgens wordt één haar gepositioneerd op het draagglaasje in de druppel. Indien het haar te lang is voor het draagglaasje, wordt het haar in twee stukken geknipt zodat zowel de wortel als de haarpunt ingebed kunnen worden. Een dekglasje wordt manueel op het preparaat geplaatst, terwijl het haar met een pincet wordt gefixeerd, zodat deze niet uit beeld verdwijnt door de verplaatsing van de druppel Aquatex onder het dekglasje. De *whole mount* die is ontstaan wordt na 24 uur bekeken en gefotografeerd op een 100x- en 200x-vergroting (Leica DM LB 2, Las 4.0). De typering van de medullaire kenmerken kan gebeuren middels een vergelijking van de gemaakte foto's met de patronen weergegeven in Figuur 1.

### Fotoatlas

De foto's worden samengevoegd in een fotoatlas, nadat deze zijn bijgesneden en eventueel vergroot om de morfologische kenmerken het beste te kunnen weergeven. Er werden in totaal 304 foto's gemaakt van 152 individuele dieren van dertien diersoorten (152 foto's van haarafdrukken, 152 foto's van *whole mounts*).

### Morfologische bevindingen

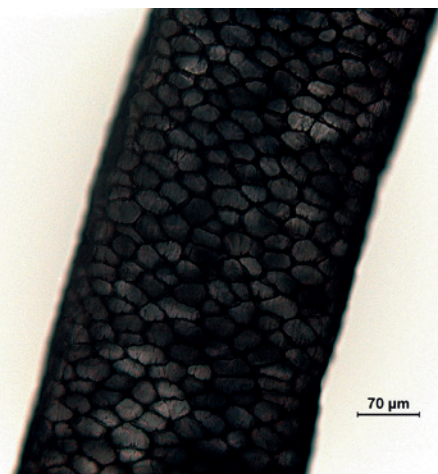
De meest relevante bevindingen met betrekking tot het vergelijken en identificeren van haren waren als volgt. Bij bijna alle dieren was de medulla continu, indien deze zichtbaar was. Bij schapen was er slechts in één geval een medulla aanwezig; deze was gefragmenteerd. Bij alle katten waren de medullaranden geschubd. Volwassen reeën met een wintervacht onderscheidden zich in dit onderzoek gemakkelijk van de andere diersoorten; dit op basis van zowel de structuur van de medulla, als op basis van de haardiameter. Het was de enige diersoort in dit onderzoek waarbij de medulla een *filled lattice*-structuur vertoonde (Figuur 3). Net als bij het varken waren de reeënharen dikker dan 100 microns. Konijnen onderscheidden zich volgens deze resultaten gemakkelijk van de rest van de andere diersoorten, wat toe te schrijven was aan zowel de structuur van de medulla, als het schubbenpatroon van de cuticula (Figuur 4). De haren van konijnen vertoonden een multiseriate medulla, waarbij meerdere rijen binnen de medulla zichtbaar waren. De schubben van de cuticula vertoonden ter hoogte

van de schede een dubbel vissengraatpatroon. De cuticulaschubben van de wolharen van schapen hadden een typerend uitzicht, wat in de terminologie wordt omschreven als een regelmatig mozaïek (Figuur 5).

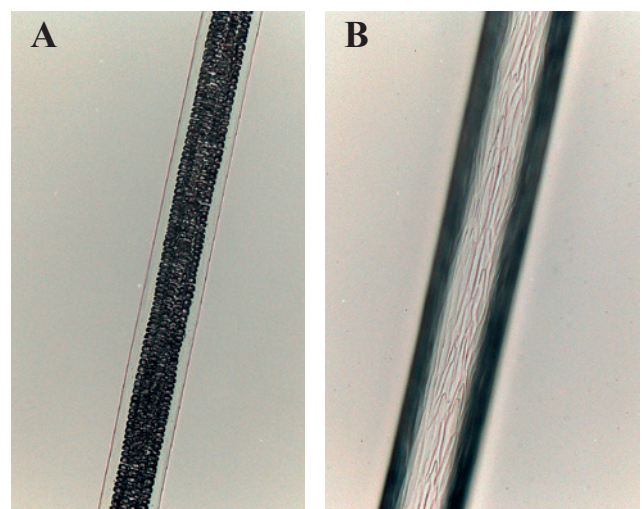
Diersoortidentificatie bleek voor de andere diersoorten i.e. hond, kat, paard, ezel, rund, varken, alpaca, geit, maki en zeehond, op basis van enkel het microscopisch uitzicht van de cortex en cuticula niet mogelijk.

### DISCUSSIE

Er dient vermeld te worden dat in deze studie enkel gefocust werd op haaridentificatie met behulp van lichtmicroscopie. Er werd geen gebruik gemaakt van een fluorescentie- of scanning-elektronenmicroscop, aangezien deze vaak zeer duur zijn in aankoop en er naar een betaalbare methode gestreefd werd. Desondanks bestaan er tegenwoordig methoden waarbij er wel met deze microscopen gewerkt wordt. Het is dus



Figuur 3. Medulla van een reeënhair met een *filled lattice*-structuur op een 100 x-vergroting (Leica).



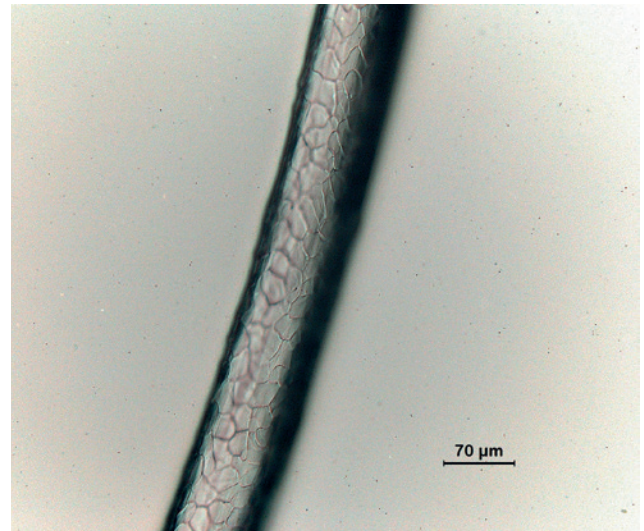
Figuur 4. Medulla en cuticula van een konijnenhaar. A. Een multiseriate medulla en B. een dubbele visgratecuticula schubpatroon op een 200 x-vergroting (Leica).

mogelijk dat de beelden bekomen in deze studie van mindere kwaliteit zijn dan beelden verkregen met recentere methoden.

In de voorliggende studie werden telkens haren uit de rugstreek gebruikt voor de morfologische haaridentificatie. Voor de meeste dieren waren de haren uit deze regio dekharen. Dekharen van andere lichaamsregio's zouden echter ook gebruikt kunnen worden. Deze vertonen immers vergelijkbare kenmerken met betrekking tot de medulla en cuticulaschubben (De Marinis en Asprea, 2006). Deze kenmerken zijn hier echter vaak minder uitgesproken en daardoor minder geschikt voor identificatie. In het geval van schapen en alpaca's werden niet de dekharen, maar wel de wolharen in beschouwing genomen vanwege de plaats van haarcollectie op het lichaam van het dier. Omdat wolharen minder informatie dragen voor identificatie en in deze studie slechts beperkt verzameld werden (tien dieren), waren de vastgestelde karakteristieken mogelijk niet diersoortspecifiek. Voor een correctere vergelijking zouden er van deze dieren bijkomende dekharen moeten worden genomen (eventueel van andere regio's op het lichaam).

De haarcollectie gebeurde door middel van het uittrekken van de haren met een pincet. Haarcollectie kan ook op andere manieren gebeuren, waarbij de haren worden uitgewreven, uitgekamd, afgeknipt of verzameld worden uit de leefruimte van een dier (Oien, 2009). Het voordeel van uittrekken is dat de volledige lengte van het haar kan worden gemeten en, dat indien gewenst, de wortel ook nog verder kan worden onderzocht. De focus in deze studie werd vooral gelegd op het scenario waar de haarwortel niet aanwezig was, waardoor de haarwortel niet verder bestudeerd kon worden. Aangezien telogene haarwortels diersoortverschillen kunnen vertonen, zou de inclusie van haarwortels in toekomstige studies een extra criterium kunnen geven voor haaridentificatie. In dat geval zouden er bijkomende haren moeten worden uitgewreven, om zo deze telogene wortels te bekomen. Na de haarcollectie werden de verschillende *mounting*-methoden op de haren van dezelfde dieren getest, zodat verschillen in beeldkwaliteit enkel konden worden toegeschreven aan de methode en niet aan de haren zelf. Er werd besloten de haren te testen van één dier met een witte vacht en één dier met een donkerbruine vacht, om zo het beste te kunnen inschatten welke methoden er over het algemeen een goed beeld gaven. Er bestaan nog andere haar-*mounting media*, waarvan er een ruim aantal xyleen bevat (Roe et al., 1991). In deze studie werd gestreefd naar een voor iedereen haalbare methode en daarom werd de focus gelegd op kwalitatief goede, toegankelijke en betaalbare methoden.

In de entomologie wordt evenzeer gebruik gemaakt van *mounting*-methoden voor het prepareren van parasieten en insecten. Soms worden onder andere fructose-oplossing, maissiroop en lactofenol gebruikt ([www.microscopy-uk.org.uk](http://www.microscopy-uk.org.uk)). Bij het maken



**Figuur 5.** Regelmatig mozaïek-schubpatroon van de cuticula van een wolhaar van een schaap op een 200 x-vergroting (Leica).

van preparaten voor histologisch of cytologisch onderzoek worden er ook *mounting media* gebruikt. In dit onderzoek werden hiervan de transparante producten Aquatex (Merck, Duitsland) en RASMM (Thermo Scientific, USA) ingesloten.

De methoden die in de voorliggende studie getest werden, weken in een aantal gevallen af van wat in de literatuur beschreven wordt. Ten eerste wordt in meerdere studies aangegeven dat het microscopisch haaronderzoek op een 100x- en een 400x-vergroting dient te gebeuren (Teerink, 1991; Oien, 2009). Aangezien een 400x-vergroting in de huidige studie een minder goed overzicht van de haren in hun geheel gaf, werd er besloten om 200x als grootste vergroting aan te houden. Ten tweede week de droogtijd bij de nagellak *casting*-methode af van de droogtijd die in de literatuur (vijftien minuten) wordt beschreven. De gebruikte nagellak (Essence, Duitsland) in deze studie was sneldrogend en na het testen met vijf verschillende droogtijden (twee, vijf, acht, tien en vijftien minuten) werd in het protocol daardoor een kortere droogtijd van 4 à 5 minuten aangehouden.

Voor de *whole mounts* werden, met uitzondering van paraffineolie, geen *mounting media* getest op oliebasis; desondanks hadden deze media mogelijk een betere penetratie kunnen geven en zo ook een duidelijker beeld van de medulla ten opzichte van het *mounting media* op waterbasis (Aquatex, Merck, Duitsland).

De bewaarbaarheid werd slechts getest met één soort preparatenbox. Het gebruik van andere boxen of mappen had er wellicht toe geleid dat de bewaarbaarheid telkens anders gescoord zou zijn geweest.

In deze studie werden voor de diersoortidentificatie niet alle onderdelen van het haar onderzocht. Ten eerste werd er slechts beperkt macroscopisch onderzoek verricht naar de haren, i. e. haarkleur en haar-



lengte.

Ten tweede werd de cuticula slechts op één locatie van het haar gefotografeerd en onderzocht, niet over de gehele lengte van het haar (schede versus schild). Ten derde werden er geen dwarsdoorsnedes gemaakt, waardoor geen bijkomende informatie over de haarvorm verkregen werd.

Het berekenen van de medullaire index gebeurde in Excel. Doordat er in de studie geen gebruik werd gemaakt van een statistiekprogramma met bijkomende standaarddeviatie, zijn er geen statistisch relevante resultaten beschikbaar.

Daarnaast zijn er nog enkele bemerkingen met betrekking tot de fotoatlas en de bekomen resultaten. Om smallere haren in de fotoatlas vlotter te kunnen typeren en vergelijken, werden de foto's van deze haren vergroot en bijgesneden. Dit had ook verholpen kunnen worden als een bijkomende foto van deze specifieke haren zou zijn genomen op een 400x-vergroting.

Tot slot kon er vooraf niet worden bepaald welke diersoorten en rassen aan de studie zouden deelnemen, aangezien de haarcollectie afhankelijk was van de in de autopsiezaal binnengebrachte dieren. Door de grote variatie in honden-, katten- en paardenrassen en mogelijk ook door het beperkte aantal dieren per diersoort, i. e. ezel, rund, varken, alpaca, geit, maki en zeehond was het benoemen van specifieke kenmerken voor een bepaalde diersoort niet evident, omdat andere niet-onderzochte diersoorten mogelijk dezelfde haarkenmerken konden hebben.

## CONCLUSIE

Er werden twee preparatiemethoden op punt gesteld voor zowel het maken van een negatieve afdruk (met transparante nagellak), als voor het maken van een volledige inbedding van een haar (Aquatex, Merck, Duitsland). Voor beide methoden werd een protocol opgesteld. Op basis van de structuur van de medulla en/of de schubben van de cuticula konden volgens de resultaten uit dit onderzoek konijnen, schapen en reeën vlot van de andere onderzochte diersoorten worden onderscheiden. Er is echter bijkomend onderzoek nodig naar de gehele oppervlakte van het haar, inclusief de haarwortel, vooraleer er bijkomende en/of definitieve uitspraken gedaan kunnen worden voor de zojuist genoemde en andere diersoorten op basis van de haarmorfologie.

Ten slotte werd een fotoatlas succesvol opgestart. Deze atlas kan in de toekomst, mits aangevuld door bijkomend onderzoek, gebruikt worden als naslagwerk voor microscopische haaridentificatie.

## REFERENTIES

Adya, K.A., Inamadar, A.C., Palit, A., Shivanna, R., Deshmukh, N.S., (2011). Light microscopy of the hair: A simple tool to “untangle” hair disorders. *International*

- Journal of Trichology* 3, 46.
- Ahmed, Y.A., Ali, S., Ghallab, A., (2018). Hair histology as a tool for forensic identification of some domestic animal species. *EXCLI Journal* 17, 663-670.
- Bourguignon, L., Hoste, B., Boonen, T., Vits, K., Hubrecht, F., (2008). A fluorescent microscopy-screening test for efficient STR-typing of telogen hair roots. *Forensic Science International: Genetics* 3, 27-31.
- Brandhagen, M.D., Loreille, O., Irwin, J.A., (2018). Fragmented nuclear DNA is the predominant genetic material in human hair shafts. *Genes* 9, 640.
- Brunner, H., Coman, B.J., (1974). *The Identification of Mammalian Hair*. Inkata Press, Melbourne, Australia, p. 176.
- Chattha, S.A., Anjum, K.M., Altaf, M., Yousaf, M.Z., (2011). Hair mounting technique: helpful in conservation of carnivores. *FUUAST Journal of Biology* 1(2), 53-59.
- Cornally, A., Lawton, C., (2016). A guide to the identification of Irish mammal hair. *Irish Wildlife Manuals* 92, 40.
- Crocker, E.J., (1998). A new technique for the rapid simultaneous examination of medullae and cuticular patterns of hairs. *Microscope* 46, 169-173.
- De Marinis, A.M., Asprea, A., (2006). Hair identification key of wild and domestic ungulates from southern Europe. *Wildlife Biology* 12, 305-320.
- Deedrick, D.W., Koch, S.L., (2004). Microscopy of hair. A practical guide and manual for human hairs. *Forensic Science Communications* 6, 1-45.
- Deedrick, D.W., Koch, S.L., (2004). Microscopy of hair. A practical guide and manual for animal hairs. *Forensic Science Communications*, 1-32.
- Hicks, J.W., (1977). Basic structure of hair. In: *Microscopy of Hair: A Practical Guide and Manual*. Federal Bureau of Investigation, Washington, USA, p. 1-6.
- Kendall, K.C., McKelvey, K.S., (2008). Hair collection. In: Long R. A., MacKay P., Ray J., C., Zielinski W. J. (editors). *Noninvasive Survey Methods for North American Carnivores*. Island Press, Washington, DC, USA, p. 135-176.
- Kolowski, J.C., Petraco, N., Wallace, M.M., De Forest, P.R., Prinz, M., (2004). A comparison study of hair examination methodologies. *Journal of Forensic Science* 49, 1253-1255
- Lynch, M., (2003). God's signature: DNA profiling, the new gold standard in forensic science. *Endeavour* 27, 93-97.
- Mathiak, H.A., (1938). A key to hairs of the mammals of Southern Michigan. *The Journal of Wildlife Management* 2, 251.
- Melton, T., Dimick, G., Higgins, B., Yon, M., Holland, C., (2012). Mitochondrial DNA analysis of 114 hairs measuring less than 1 cm from a 19-year-old homicide. *The Journal of Wildlife Management* 3, 12.
- Oien, C.T., (2009). Forensic hair comparison: background information for interpretation. *Forensic Science Communications* 11, 1-25.
- Pilli, E., Casamassima, R., Vai, S., Virgili, A., Barni, F., D'errico, G., Berti, A., Lago, G., Caramelli, D., (2014). Pet fur or fake fur? A forensic approach. *Investigative Genetics* 5, 7.
- Robertson, J., (1999). Forensic examination of human hair. In: Robertson J. (editor). *Taylor & Francis Forensic Science Series*. London, Engeland, p. 80-143.
- Roe, G.M., Cook, R., North, C., (1991). An evaluation of mountants for use in forensic hair examination. *Journal*



- of the Forensic Science Society* 31, 59-65.
- Sari, A., Arpacik, A., (2018). Morphological hair identification key of common mammals in Turkey. *Applied Ecology and Environmental Research* 16, 4593-4603.
- Senthilkumar, S., Gnanadevi, R., Kannan, T.A., Arunaman, C.S., (2018). Microanatomical observations of hair in domestic animals: A comparative study. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6, 1925-1929.
- Sepulveda, M.S., Kinsella, J.M., (2013). Helminth collection and identification from wildlife. *Journal of Visualized Experiments* 82. DOI: 10.3791/51000
- Syndercombe-Court, D., (2021). Mitochondrial DNA in forensic use. *Emerging Topics in Life Sciences* 5(3), 415-426.
- Teerink, B.J., (1991). How to identify hairs. In: *Hair of West European Mammals: Atlas and Identification Key*. Cambridge University Press, Cambridge, Engeland, p. 5-18.
- Twigg, G.I., (1975). Finding mammals—their signs and remains. *Mammal Review* 5, 71-82.
- Wandhare, P.P., S., B.M., (2017). Trichology: A science of hair examination in identification of dog breeds. *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture* 3, 61-66.
- Wilson, L.J., Wheeler, B.P., (2008). Hair examinations. In: *Practical Forensic Microscopy: A Laboratory Manual*. Wiley, Chichester, England, p. 149-191.



© 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/>).



# MEDVET

**Bij het laboratorium  
MEDVET kan u rekenen op  
een kwaliteitsvolle service waar u en  
uw patiënt centraal staan. Het team van  
dierenartsen zal u met hun expertise bijstaan  
bij elke stap van uw diagnostische onderzoek.**



## Ophthalmic examination findings in healthy white storks (*Ciconia Ciconia*)

*Oftalmologisch onderzoek bij gezonde witte ooievaars (Ciconia ciconia)*

B. Kibar Kurt, Z. Bozkan Ünal

University of Aydin Adnan Menderes, Faculty of Veterinary Medicine, Surgery Department,  
09100, Efeler, Aydın, Turkey

busrakibar@yandex.com

### ABSTRACT

In birds, vision plays an essential role in vital functions such as feeding and reproduction. In this study, it was aimed to determine the ophthalmic examination findings in healthy storks. A total of eleven healthy white storks were included in the study. Schirmer tear test 1 (STT-I), intraocular pressure (IOP) and ocular biometry were performed on both eyes of each stork. The mean STT-I values were  $12 \pm 3.4$  (right eye) and  $11.9 \pm 3.14$  mm/min (left eye), and the IOP values were  $19 \pm 0.97$  (right eye) and  $18.85 \pm 0.73$  mmHg (left eye). The mean ocular biometric values were as follows: anterior chamber depth,  $2.30 \pm 0.18$  and  $2.29 \pm 0.13$  mm, lens thickness  $5.18 \pm 0.1$  and  $5.19 \pm 0.13$  mm, vitreous body  $11.72 \pm 0.25$  and  $11.82 \pm 0.34$  mm, and pecten  $7.94 \pm 0.34$  and  $7.9 \pm 0.37$  mm of the right and left eyes, respectively. Knowledge of the normal value ranges in healthy white storks is necessary for the diagnosis of ocular diseases in this species. To the authors' knowledge, this is the first study in which normal ophthalmic value ranges in healthy storks are described.

### SAMENVATTING

Bij vogels is een goed zicht van essentieel belang voor vitale functies zoals voeden en voortplanting. In het voorliggende onderzoek werden de normale oogheelkundige parameters bepaald bij gezonde, in het wildlevende ooievaars. In totaal werden er elf gezonde ooievaars in het onderzoek opgenomen. Schirmer-teartest 1 (STT-I), oogdruk (IOP) en oculaire biometrie werden voor de beide ogen van elke ooievaar geëvalueerd. De gemiddelde STT-I-waarden waren  $12 \pm 3,4$  mm/min (rechteroog) en  $11,9 \pm 3,14$  mm/min (linkeroog), de IOP-waarden waren  $19 \pm 0,97$  mmHg (rechteroog) en  $18,85 \pm 0,73$  mmHg (linkeroog). De oculaire biometrische gemiddelde waarden waren als volgt: diepte van de voorste kamer  $2,30 \pm 0,18$  mm en  $2,29 \pm 0,13$  mm, lensdikte:  $5,18 \pm 0,1$  mm en  $5,19 \pm 0,13$  mm, corpus vitreum  $11,72 \pm 0,25$  mm en  $11,82 \pm 0,34$  mm en pecten:  $7,94 \pm 0,34$  mm en  $7,9 \pm 0,37$  mm, bij respectievelijk het rechter- en linkeroog. De kennis van de normale parameters bij gezonde ooievaars is van essentieel belang voor de diagnosestelling van oogziekten bij deze diersoort. Volgens de auteurs is dit de eerste studie waarin de bevindingen van oftalmologisch onderzoek bij gezonde ooievaars beschreven worden.

### INTRODUCTION

Trauma is one of the major reasons for presenting wild birds to clinics (Kayikci et al., 2019; Aslan et al., 2009; Wendell et al., 2002; Deem et al., 1998). Ocular lesions are common findings in birds with head trauma (Williams et al., 2006). The main reason for the rehabilitation of wild birds is to bring them back

to normal health conditions, so they can survive in their natural habitats (Reuter et al., 2011). The standard procedure includes ophthalmic examination as a major component (Williams et al., 2006; Han et al., 2019).

In all animal species, procedures such as the Schirmer tear test I (STT-I), intraocular pressure measurement (IOP) and anatomical structure evaluation of the

eyes are essential in the standard ophthalmic examination (Akgül et al., 2022; Çakır et al., 2014; Pearce and Moore, 2013; Alkan et al., 2004).

The tear production is important for a healthy corneal epithelium. Many methods are used to determine the amount of tear secretion; STT-I is a frequently preferred measuring method and should be routinely performed (Kulualp et al., 2019; Akgül et al., 2017; Vashisht and Singh, 2011; Werner et al., 2008; Xiong et al., 2008; Alkan et al., 2004).

Ocular hypertension is considered one of the greatest risk factors for the development of glaucoma, and IOP measurement is the most consistent predictor of glaucoma in animals and humans (Maggio, 2015; Gelatt and MacKay, 2004). Increased IOP causes optic nerve head degeneration and retina, resulting in glaucoma that can cause irreversible blindness in humans and animals (Tham et al., 2014; Gelatt and MacKay, 2004).

Ocular ultrasonography is an important imaging method that allows for safe and noninvasive evaluation of intraocular structures without the requirement of sedation or anesthesia (Mirshahi et al., 2014). Furthermore, ocular ultrasonography is required for the evaluation of intraocular structures in cases where the transparent structures of the eye become opaque, such as corneal edema and cataracts (Maggs et al., 2008).

Reproductive biology, feeding behavior, migration routes and infectious and parasitic diseases in storks have been described (Bentrad and Chalabi-Belhadj, 2018; Girisgin et al., 2017; Shephard et al.,

2015; Ivande et al., 2012; Olias et al., 2010). Although ophthalmology in wild birds has been described (Shivaprasad et al. 2022), to the authors' knowledge, there are no ophthalmologic studies in living storks available in the literature. Therefore, in this study, it was aimed to examine and present ocular parameters, such as STT-I, IOP and ultrasonographic findings in healthy storks without ophthalmological conditions.

## MATERIALS AND METHODS

This study was approved by the Ministry of Forestry and Water Affairs (January, 23, 2023, # E-21264211-288.04-8588213).

Wild animals seized for various reasons, i.e. disease, injury or illegal capture, within the borders of the province of Aydın (Turkey) are brought to the Veterinary Faculty Animal Hospital of Aydın Adnan Menderes University for physical examination and treatment. Animals that have recovered and that are diagnosed to be healthy, are released back into the wild.

Only healthy white storks (n=11) were included in this study. They were captured by General Directorate of Nature Conservation and National Parks officials and brought to the Aydın Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine.

Physical examination was performed prior to the ocular examination; the findings of these examinations constitute the material of this study.

### Ophthalmologic examination

The storks were examined under restraint without requiring sedation or anesthesia. During the examination, ophthalmic reflexes were examined and evaluated in detail.

The storks were restrained by hand for ophthalmologic examination, and the results of hand-held slit-lamp biomicroscopy (Kowa SL-15, Japan) showed that both eyes of all birds were clinically normal. Palpebral, corneal and direct pupillary light reflexes were evaluated, and STT-I was performed using test strips (ERC, Turkey), which have a printed mm scale. The STT-I strips were positioned laterally in the lower conjunctival fornix of both eyes (Figure 1). A Tonovet rebound tonometer (TonoVet®, ICARE, USA) was used for all IOP measurements (Figure 2). The recorded measurements were automatically generated as an average of five readings. Standard transcorneal ocular ultrasonography was performed. Symmetry was pursued when placing the probe on the cornea. The optimal position of the probe was achieved by imaging the echogenic pecten (anteroposterior view). Ecobiometric measurements were made on optimal images, where the cornea, the front and back surfaces of the lens, the back wall and the pecten were determined along the optical axis. Analysis of B-mode ultrasound images and the ocular biometry of the storks were recorded (Figure 3).

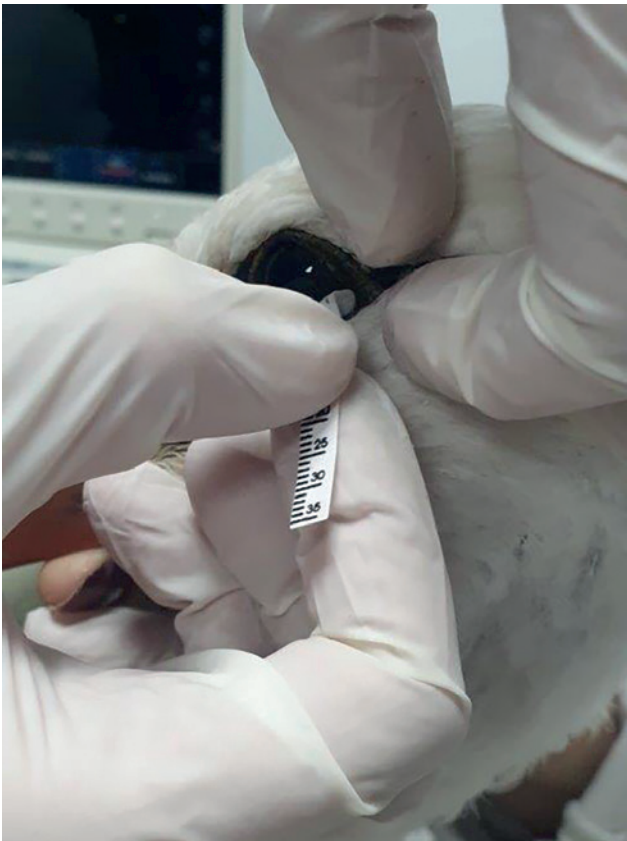


Figure 1. STT-I measurement using a 5-mm strip.



Data obtained from this study were analyzed statistically using SPSS in. 22.0 software (SPSS Inc, USA). Descriptive analyses were used to summarize data and check if the assumptions were met. The results were evaluated using the Shapiro-Wilk Test for normality and the Levene test for homogeneity of variances. Differences in the IOP, STT-I, and echobiometric globe measurements between the right and left eyes were assessed with the paired samples t-test. A p-value of <0.05 was considered statistically significant for all analyses.

**RESULTS**

The eleven storks included in this study underwent routine ocular examination; STT-I, IOP and echobiometric tests were well tolerated by the storks.

The results of the STT-I and intraocular pressure tests were as follows: 12±3.4 mm/min (right), 11.9±3.14 mm/min (left) and 19±2.14 mmHg (right), 19.09±1.57 mmHg (left), respectively (Table 1).

Along the optic axis, four hyperechoic principal landmarks were observed, i. e. the cornea, the anterior and posterior lens capsules and the posterior wall of the eye. The anterior chamber between the cornea and the anterior capsule of the lens was anechoic. The lens appeared as an ovoid structure with a hyperechoic anterior and a posterior capsule. The vitreous chamber, which was located between the posterior capsule and the posterior wall of the eye, was identified as anechoic. The pecten, starting from the retina, was observed as an echogenic tubular structure. The choroid, sclera and retina were visible as a hyperechoic line on the posterior wall of the globe and could hence not be distinguished. The mean values of the anterior chamber depth were 2.30±0.18 mm (right) and 2.29±0.13 mm (left), lens thickness 5.18±0.1 mm (right) and 5.19±0.13 mm (left), vitreous body 11.72±0.25 mm (right) and 11.82±0.34 mm (left), and pecten 7.94±0.34 mm (right) and (left) 7.9±0.37 mm (Table 2).

**Table 1. Mean STT-I and IOP values of the eleven storks (Mean±SD).**

	STT-I mm/min	IOP mmHg
<b>Right</b>	12±3.4	19±2.14
<b>Left</b>	11.9±3.14	19.09±1.57

**Table 2. Mean ocular ultrasound measurement values (mm) for both eyes of seven storks (Mean±SD).**

	D1	D2	D3	D4
<b>Right</b>	2.30±0.18	5.18±0.1	11.72±0.25	7.94±0.34
<b>Left</b>	2.29±0.13	5.19±0.13	11.82±0.34	7.9±0.37

B-scan of the following structure, D1 = distance between the cornea and anterior lens capsule. D2 = distance between the anterior and posterior capsule of the lens. D3 = distance between the posterior lens capsule and the optic papilla. D4 = longitudinal distance of the pecten.



**Figure 2. IOP measurement using rebound tonometry.**



**Figure 3. Echobiometric measurements of globe via ultrasonography. 1. Distance between the cornea and anterior lens capsule. 2. Distance between the anterior and posterior capsule of the lens. 3. Distance between the posterior lens capsule and the optic papilla. 4. Longitudinal distance of the pecten.**

## DISCUSSION

Detecting normal examination findings in healthy birds is crucial for diagnosing ocular diseases. Normal ranges for STT-I and IOP values and ultrasonographic ocular biometry in healthy eyes of white storks are provided in this study. The analysis of the B-mode ultrasound images and normal ocular biometry of the storks could serve as a basis for the ultrasound examination of patients which may have ocular diseases affecting measurements or sizes. In ophthalmologic studies conducted on avian species, significant differences in intraocular pressure, tear production and biometric measurements have been shown, even among different species and breeds (Ansari Mood et al., 2017; Meekins et al., 2015; Barsotti et al., 2013; Mercado et al. 2010).

Generally, birds are anesthetized during ophthalmic examination to diagnose ocular disease (Kamiloglu, 2017; Topal, 2001; Unsaldi, 2000); however, physical and ophthalmic examinations can be easily completed during manual restraint. In this study, the tonometry probe (TonoVet®, ICARE, USA) did not cause a corneal reflex and was well tolerated by the storks as is the case in other avian species (Ansari Mood et al., 2017; Meekins et al., 2015; Mercado et al., 2010). The study results indicate that the IOP in the storks is higher than reported in captive American flamingos (*Phoenicopterus ruber ruber*), i. e. mean±SD, 9.5±1.7 mm Hg (Meekins et al., 2015).

Although 2-4 mm cuts from 5-mm strips for small bird species have been used in several avian studies, in the present study, a 5-mm strip was used (Ansari Mood et al., 2017; Barsotti et al., 2013; Harris et al., 2008). In a study by Meekins et al. (2015) in Caribbean flamingos, the mean tear production was 12.3±4.5 mm/min for modified STT. In a study by Ansari Mood et al. (2017) in which STT-I readings were obtained with 5-mm strips in ducks, the STT-I reading range was found to be 5.5-6.7 mm/min. In a study by O'Connell et al. (2017), the mean STT in normal brown pelicans was 5.45±1.88 mm/min. In the present study, the STT-I values measured in the storks were found to be 12±3.4 for the right eye and 11.9±3.14 for the left eye. To the best of the authors' knowledge, there is currently no other study showing the STT-I value of healthy storks. However, the data obtained from this study show that the mean STT-I in storks is quite high compared to other water birds.

The use of ultrasonography as a noninvasive method to measure ocular biometry in birds is especially relevant for clinical and research purposes, because it allows accurate and repeatable measurements of different ocular structures. To evaluate the eyeball with B-mode ultrasonography, a medium frequency (7.5-10 MHz) sector, a microconvex or a linear probe with high resolution and a small contact area (1-4 cm) should be used (Lehmkuhl et al., 2010; Von Eicken et al., 2006). In the present study, a 7.5 MHz microcon-

vex probe was used and the pecten could be detected in all cases.

Normal ultrasonographic structures are almost identical for all avian species. The following structures are consistently visible in all living animals: curved hyperechoic cornea, anechoic anterior chamber, anechoic lens, prominent anterior and posterior lens capsule, anechoic vitreous chamber and hyperechoic globe posterior wall (sclera, retina and choroidea). In avian species, the pecten extends from the retina to the vitreous chamber.

In a study by Ince et al. (2017), the ocular bulbus diameter in seagulls was measured to be 22.07±1.18 mm. The pecten oculi has been described as a structure originating from n. opticus. The length of the pecten oculi (6.4±0.62 mm) was 1/3 of the diameter of the bulbus oculi (Ince et al., 2017). In a study by Onuk et al. (2013), the pecten of storks was found to be 5.53±1.11 mm, and the diameter of the bulbus oculi 25.37±2.58 mm. Under these conditions, the length of the pecten oculi was to 2/5 of the diameter of the bulbus oculi (Onuk et al., 2013). Similarly, in the current study, the ratio of pecten to bulbus oculi was 2/5. The pecten has been reported to be 4 mm in ducks (Corona et al. 2004) and 5 mm in geese (Korkmaz et al. 2022). The pecten oculi originates from the nervus opticus, resulting in an opticus and accordion-shaped formation (Girisgin et al., 2017; Onuk et al., 2013). On ultrasonography, the pecten oculi of the storks in the present study had a similar location and structure. Although different sphere sizes have been reported, pecten sizes in waterfowl are very similar to each other (Korkmaz et al., 2022; Meekins et al., 2015; Onuk et al., 2013; Corona et al., 2004). In this study however, the size of the pecten of the storks differed from the pecten size in other studies, i. e. 7.94±0.34 mm (right) and 7.9±0.37 mm (left).

In a study by Meekins et al. (2015), the mean ultrasonographic globe measurements of American flamingos were as follows: anterior chamber depth 1.75±0.05, lens thickness 4.6±0.06, vitreous body 6.95±0.10, and pecten length 5.1±0.38. Meekins et al. (2015) found that the anterior and vitreal chambers of white storks are almost twice the size of the anterior and vitreal chambers of American flamingos, and the pecten length and lens thickness of the white storks were higher than in American flamingos (Meekins et al. 2015). In the present study, the echobiometric globe measurements were highly similar to the measurements found in brown pelicans. In a study by O'Connell et al. (2017), echobiometric measurements in brown pelicans showed a mean anterior chamber depth of 3.38±0.19 mm, a mean axial lens diameter of 5.19±0.23 mm, a mean vitreal chamber length of 12.15±0.53 mm and a mean pecten 7.2 mm. Although the mean ultrasonographic globe measurements in the brown pelicans were similar to those in the white storks, the mean STT and IOP values in white storks were higher than the values found in the brown peli-

cans ( $5.45 \pm 1.88$  mm/min and  $10.86 \pm 1.61$  mm Hg) (O'Connell et al. 2017). In a study by Ansari Mood et al. (2017), the mean STT and IOP values in ducks and geese varied between 5-6.7mm/min and 9.1-10.3 mm/Hg, respectively, and were quite low compared to values reported in white storks.

The differences in ocular measurements between avian species reflect the adaptations of the different species to different visual environments and habitats in general. Consistent with reported findings in other animal species, no significant differences were observed between the axial length and intraocular structure dimensions of the left and right eyes (Squarzone et al., 2010).

Overall, comparative analysis of ocular biometry highlights the diversity of ocular characteristics among avian species and the importance of considering species-specific ocular parameters in clinical and research settings.

Considering that the storks included in this study were free-living storks brought to the Veterinary Faculty Animal Hospital of Aydın Adnan Menderes University by government officials for clinical examination, and considering the prevalence of storks is much less than the prevalence of domestic birds, the number of animals included in the study was limited.

The anatomical structures of the eye, tear quantity and normal IOP values vary greatly between different species (Ansari Mood et al. 2017; Meekins et al. 2015; Barsotti et al. 2013; Harris et al. 2008). Therefore, normal STT-I and IOP values and the normal ultrasonographic anatomy of the eye for each species should be established in order to evaluate the physiological and pathological states of wild birds. The normal anatomical structures of the eye and the normal STT-I and IOP values obtained in this study could be useful in future studies and in the interpretation of ophthalmic examination in clinical cases.

## ETHICS STATEMENT

This study was approved by the Turkish Ministry of Forestry and Water Affairs (January, 23, 2023, # E-21264211-288.04-8588213) (ADU HADYEK - 6458 3101/2022/130).

Aydın Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine and Aydın Provincial Directorate affiliated with the General Directorate of Nature Conservation and National Parks enforced a protocol by the relevant provisions of the Protocol, CITES Convention, Land Hunting Law No. 4915, and Animal Protection Law No. 5199.

## REFERENCES

Akgül, M., Akgül, G., Gülendag, E. (2022). Evaluations of tear secretion in an outbreak of escherichia coli in lambs with schirmer tear test. *Assiut Veterinary Medical Journal* 68(174), 10-16.

- Akgül, M.B., Şındak, N., Gülaydın, A., Özen, D., Kahya, S., Sulu, K. (2017). Comparative evaluations of tear secretion in healthy and infectious keratoconjunctivitis romanov sheep with schirmer tear test and phenol red thread tear test. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 41, 793-797.
- Alkan, F., Izci, C., Tepeli, C., Koc, Y. (2004). evaluation of the schirmer tear test in two Turkish breeds of shepherd dogs. *Revue de Medecine Veterinaire* 155, 67-70.
- Ansari Mood, M., Rajaei, S.M., Ghazanfari Hashemi, S., Williams, D.L., Sadjadi, R. (2017). Measurement of tear production and intraocular pressure in ducks and geese. *Veterinary Ophthalmology* 20(1), 53-57.
- Aslan, L., Adizel, Ö., KArasu, A., ÖZkan, C., Gençcelep, M., Durmuş, A., Akgül, Y. (2009). Between 2006 and 2008 treatment of fracture and wound of wild birds in Lake Van Valley. *Van Veterinary Journal* 20(2), 7-12.
- Barsotti, G., Briganti, A., Spratte, J.R., Ceccherelli, R., Breggi, G. (2013). Schirmer tear test type 1 readings and intraocular pressure values assessed by applanation tonometry (Tonopen® XL) in normal eyes of four European species of birds of prey. *Veterinary Ophthalmology* 16(5), 365-369.
- Bentrad, S., Chalabi-Belhadj, G. (2018). Feeding behaviour of the white stork (*Ciconia Ciconia* L.) in the El Kala Wetland complex. *Bulletin de La Societe Zoologique de France* 143(1), 49-60.
- Çakır, L., Gümüşsoy, K.S., Kutsal, O., Tunç, A.S. (2014). Evaluation of brush cytology (cytospin technique) and cultural results in the diagnosis of keratoconjunctivitis in a goat herd. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 61(1), 35-41.
- Corona, M., Scala, G., Perrella, A. (2004). Angioarchitecture of the duck pecten. *Biomedical Research* 15, 19-25.
- Deem, S.L., Terrell, S.P., Forrester, D.J. (1998). A retrospective study of morbidity and mortality of raptors in Florida: 1988-1994. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine : Official Publication of the American Association of Zoo Veterinarians* 29(2), 160-164. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9732030>.
- Eicken, J. Von, Kohlhaas, M., Stodtmeister, R., Höh, H. (2006). Die Rolle der Pachymetrie in der Täglichen Glaukomdiagnostik. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde* 223(2), 117-130.
- Gelatt, K.N., MacKay, E.O. (2004). Secondary glaucomas in the dog in North America. *Veterinary Ophthalmology* 7(4), 245-259.
- Girisgin, A.O., Birlik, S., Senlik, B., Yildirimhan, H.S. (2017). Intestinal helminths of the white stork (*Ciconia Ciconia Linnaeus 1758*) from an inter-route site in Turkey. *Acta Veterinaria Hungarica* 65(2), 221-233.
- Han, M.C., Sağliyan, A., Polat, E., İstek, Ö. (2019). Evaluation of eye diseases in some domestic animals: a retrospective study: 278 cases: (2002- 2013). *Harran University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine* 8(1), 104-107.
- Harris, M.C., Schorling, J.J., Herring, I.P., Elvinger, F., Bright, P.R., Pickett, J.P. (2008). Ophthalmic examination findings in a colony of screech owls (*Megascops asio*). *Veterinary Ophthalmology* 11(3), 186-192.
- Ince, N.G., Onuk, B., Kabak, Y.B., Alan, A., Kabak, M. (2017). Macroanatomic, light, and electron microscopic examination of pecten oculi in the seagull (*Larus Canus*). *Microscopy Research and Technique* 80(7), 787-792.
- Ivande, S.T., Manu, S.A., Wala, Z.J., Onoja, J.D., Tende, T.



- (2012). Aspects of the breeding biology of abdim's stork *Ciconia abdimii* in Nigeria. *Malimbus* 34, 82–91.
- Kamiloğlu, A. (2017). An overview to the avian anesthesia. *Journal of The Faculty of Veterinary Medicine Erciyes University* 14(2), 137–144.
- Kayıkci, C., Kuşcu, Y., Durmuş, A., Aslan, L. (2019). Fractures and treatment methods in wild avians. *Van Veterinary Journal* 30(2), 115–119. <http://dergipark.gov.tr/vanvetj>.
- Korkmaz, D., Harem, I.S., (2022). The light and scanning electron microscopic structure of pecten oculi in the goose (*Anser Anser*). *International Journal of Veterinary and Animal Research* 5(3), 162–167.
- Kulualp, K., Yurdakul, İ., Kiliç, S. (2019). Kangal ırkı köpeklerde fenol kırmızısı pamuk ipliği testi (FKPT) Kullanılarak Fizyolojik Aköz Gözyaşı Üretim Miktarının Belirlenmesi 8(1), 64–69.
- Lehmkuhl, R.C., Almeida, M.F., Mamprim, M.J., Vulcano, L.C. (2010). B-mode ultrasonography biometry of the amazon parrot (*Amazona Aestiva*) eye. *Veterinary Ophthalmology* 13(SUPPL. 1), 26–28.
- Maggio, F. (2015). Glaucomas. *Topics in companion animal medicine*, 30(3), 86–96.
- Maggs, D. (2008). Basic diagnostic techniques. In: Maggs, D., Miller, P., Ofri, R. (editors). *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Fourth edition, Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, p. 81–106.
- Meekins, J.M., Stuckey, J.A., Carpenter, J.W., Armbrust, L., Higbie, C., Rankin, A.J. (2015). Ophthalmic diagnostic tests and ocular findings in a flock of captive American flamingos (*Phoenicopterus Ruber Ruber*). *Journal of Avian Medicine and Surgery* 29(2), 95–105.
- Mercado, J.A., Wirtu, G., Beaufre, H., Lydick, D. (2010). Intraocular pressure in captive black-footed penguins (*Spheniscus demersus*) measured by rebound tonometry. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 24(2), 138–141.
- Mirshahi, A., Shafiq, S., Azizzadeh, M. (2014). Ultrasonographic biometry of the normal eye of the Persian cat. *Australian Veterinary Journal* 92(7), 246–249.
- O'Connell, K.M., Michau, T.M., Stine, J.M., Reid, A.T. (2017). Ophthalmic diagnostic testing and examination findings in a colony of captive brown pelicans (*Pelecanus Occidentalis*). *Veterinary Ophthalmology* 20(3), 196–204.
- Olias, P., Gruber, A.D., Winfried, B., Hafez, H.M., Lierz, M. (2010). Fungal pneumonia as a major cause of mortality in white stork (*Ciconia Ciconia*) chicks. *Avian Diseases Digest* 5(1), e36–37.
- Onuk, B., Tutuncu, S., Alan, A., Kabak, M., Ince, N.G. (2013). Macroanatomic, light and scanning electron microscopic studies of the pecten oculi in the stork (*Ciconia Ciconia*). *Microscopy Research and Technique* 76(9), 963–967.
- Pearce, J.W., Moore, C.P. (2013). Food animal ophthalmology. In: Gelatt K.N., Gilger B.C., Kern T.J. (editors). *Veterinary Ophthalmology*. New Jersey, USA: Wiley Blackwell, 1610–1674.
- Reuter, A., Mller, K., Arndt, G., Eule, J.C. (2011). Reference intervals for intraocular pressure measured by rebound tonometry in ten raptor species and factors affecting the intraocular pressure. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 25(3), 165–172.
- Shephard, J.M., Rycken, S., Almalik, O., Struyf, K., Erp-van der Kooij, L. van Erp-van der Kooij, E. (2015). Migration strategies revealed by satellite tracking among descendants of a population of European White Stork (*Ciconia Ciconia*) reintroduced to Belgium. *Journal of Ornithology* 156(4), 943–953.
- Shivaprasad, H.L., Montiani-Ferreira, F., Moore, B.A. (2022). Ophthalmology of galloanserae: Fowl, waterfowl, & relatives. In: Montiani-Ferreira, F., Moore, B.A., Ben-Shlomo, G. (editors). *Wild and Exotic Animal Ophthalmology*. p. 571–626.
- Squarzone, R., Perlmann, E., Antunes, A., Milanelo, L., Moraes Barros, P.S. de. (2010). Ultrasonographic aspects and biometry of striped owl's eyes (*Rhinoptynx Clamator*). *Veterinary Ophthalmology* 13 Suppl(SUPPL. 1), 86–90.
- Tham, Y.-C., Li, X., Wong, T.Y., Quigley, H.A., Aung, T., Cheng, C.-Y. (2014). Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040. *Ophthalmology* 121(11), 2081–2090.
- Topal, A. (2001). *Veteriner Anesteziyoloji ve Reanimasyon*. Bursa: Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları.
- Ünsaldı, E. (2000). Ocular pharmacology and therapeutics (Section II). *Firat University Veterinary Journal of Health Sciences* 14(1), 253–259.
- Vashisht, S., Singh, S. (2011). Evaluation of phenol red thread test versus schirmer test in dry eyes: a comparative study. *International Journal of Applied and Basic Medical Research* 1(1), 40.
- Wendell, M.D., Sleeman, J.M., Kratz, G. (2002). Retrospective study of morbidity and mortality of raptors admitted to Colorado State University Veterinary Teaching Hospital during 1995 to 1998. *Journal of Wildlife Diseases* 38(1), 101–106.
- Werner, A., Braun, M., Reichl, S., Kietzmann, M. (2008). Establishing and Functional Testing of a Canine Corneal Construct. *Veterinary Ophthalmology* 11(5), 280–289.
- Williams, D.L., Gonzalez Villavincencio, C.M., Wilson, S. (2006). Chronic ocular lesions in tawny owls (*Strix aluco*) injured by road traffic. *Veterinary Record* 159(5), 148–153.
- Xiong, C., Chen, D., Liu, J., Liu, B., Li, N., Zhou, Y., Liang, X., et al. (2008). A rabbit dry eye model induced by topical medication of a preservative benzalkonium chloride. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 49(5), 1850–1856.



© 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/>).

## External abdominal pressure radiography versus survey radiography for the diagnosis of hiatal hernia in brachycephalic dogs

*Externe abdominale drukradiografie versus overzichtsradiografie voor de diagnose van hiatale hernia bij de brachycefale hond*

<sup>1</sup>G. Mercken, <sup>2</sup>B. Van Goethem, <sup>1</sup>J. Saunders, <sup>1</sup>E. Stock\*

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

<sup>2</sup>Small Animal Department, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

emmelie.stock@ugent.be

### ABSTRACT

**Hiatal hernia (HH) is a common disorder in brachycephalic dogs with upper airway obstruction. The breathing effort results in an exaggerated transdiaphragmatic pressure gradient during inspiration that can displace the gastroesophageal junction causing gastroesophageal reflux. The diagnosis is challenging because the HH usually occurs intermittently and is often missed on survey radiography. In this retrospective study, the application of external abdominal pressure to mimic the transdiaphragmatic pressure gradient during radiographic screening for HH was evaluated in 146 dogs. Hiatal hernia was diagnosed with external abdominal pressure radiographs in 6.8% (10/146 dogs), whereas it was diagnosed via survey radiography in only 2% (3 dogs). In conclusion, the radiographic diagnosis of HH in brachycephalic dogs can be improved by performing external abdominal pressure radiographs.**

### SAMENVATTING

Hiatale hernia (HH) is een veel voorkomende aandoening bij brachycefale honden met obstructie van de bovenste luchtwegen. De ademhalingsinspanning resulteert in een overdreven transdiafragmatische drukgradiënt tijdens de inspiratie, waardoor de gastro-oesofageale overgang kan verplaatsen, wat gastro-oesofageale reflux veroorzaakt. De diagnose is een uitdaging omdat HH meestal intermitterend voorkomt en vaak over het hoofd wordt gezien tijdens overzichtsradiografie. In dit retrospectief onderzoek werd het uitvoeren van externe druk op het abdomen om de transdiafragmatische drukgradiënt na te bootsen tijdens radiografische screening voor HH geëvalueerd bij 146 honden. Op röntgenfoto's met externe abdominale druk werd HH gediagnosticeerd bij 6,8% (10/146 honden), terwijl slechts 2% gediagnosticeerd werd via overzichtsradiografie. De radiografische diagnose van HH bij brachycefale honden kan dus worden verbeterd door radiografie met externe buikdruk uit te voeren.

### INTRODUCTION

Hiatal hernia (HH) involves the cranial displacement of the abdominal esophagus, gastroesophageal junction, stomach and potentially other abdominal organs through the esophageal hiatus into the thoracic cavity (Pollard, 2012). Four types of hiatal hernia have been documented in dogs. Type I is the most common hiatal hernia and involves sliding cranial displacement

of the gastroesophageal junction through the esophageal hiatus into the thorax (Hall et al., 2020). Type II is a paraesophageal or rolling hernia in which the gastroesophageal junction remains in the abdomen, but part of the stomach herniates adjacent to it through the esophageal hiatus. Type III is a combination of sliding and rolling, and in type IV, other abdominal organs herniate through the hiatus (Reeve et al., 2017).

Brachycephalic dogs are well known to suffer from



**Figure 1.** Setup for the EAP radiography, with the dog in right lateral recumbency and a wooden spoon compressing the abdomen in a craniodorsal direction just behind the last rib.

brachycephalic obstructive airway syndrome (BOAS), but actually display mixed aerodigestive clinical signs (Freiche and German, 2021). This is caused by the common occurrence of sliding HH in brachycephalic dogs and the associated gastroesophageal reflux (GER) that is a major contributor to the clinical signs (Luciani et al., 2022). It causes regurgitation of food and water, discomfort and hypersalivation, reflux esophagitis, esophageal stricture formation, vomiting, coughing, and aspiration pneumonia (Mayhew et al. 2023; Freiche and German, 2021; Hall et al., 2020). Brachycephalic dogs with HH can also present without typical gastrointestinal clinical signs and solely display respiratory symptoms and aspiration pneumonia (Luciani et al., 2022). Correction of the upper airway obstruction together with the HH improves the clinical outcome (Mayhew et al., 2023). Correctly identifying this underlying digestive disorder is therefore warranted.

Hiatal hernia is thought to result from an increased transdiaphragmatic pressure gradient, i.e. the difference between intra-abdominal and intrathoracic pressures) occurring in BOAS dogs because of their increased inspiratory pressures (Broux et al., 2018). Survey (SRV) thoracic radiographs are amongst the modalities used to detect HH in dogs (Luciani et al. 2022; Reeve et al., 2017; Pollard, 2012). A lateral radiograph focussing on the diaphragm shows an abnormal soft tissue opacity at the level of the thoracic esophagus cranial to the diaphragm if an active herniation is present. Contrast radiography can help to identify the correct location of the esophagus in this soft tissue mass. Radiographic diagnosis is, however, frequently false negative because of the intermittent aspect of the esophageal displacement (Pollard, 2012). Inducing this transdiaphragmatic pressure gradient artificially during radiographic screening by applying external abdominal pressure (EAP) has been suggested to improve its diagnostic sensitivity (Broux et al., 2018; Pollard, 2012). Because radiography is

the most common imaging modality in general practice for the evaluation of a wide variety of respiratory clinical signs, increasing its diagnostic sensitivity for HH is clinically important. The authors hypothesized that EAP radiography could improve the diagnostic sensitivity for the radiographic detection of HH over SRV radiography.

## MATERIALS AND METHODS

A retrospective medical records review was conducted at the Department of Medical Imaging, Orthopedics and Hydrotherapy (Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University) on dogs evaluated for the presence of a HH from January 1st, 2009 to December 31st, 2021. Dogs were included when at least two qualitative lateral thoracic radiographs, including 1 EAP radiograph and 1 SRV radiograph taken at the same date, were available. All the dogs were anesthetized and intubated for examination. In this study, there was no use of endotracheal tube occlusion (ETO) as described by Broux et al. (2018). Due to the retrospective study, there was no information available as to the anesthetic protocol.

Survey radiographs for HH screening were performed with the dog in right lateral recumbency and the radiograph collimated from the thoracic inlet (caudal aspect of the scapulae) up to the cranial aspect of the abdomen (level of the last rib). The radiograph was taken during inspiration. For the EAP radiograph, a wooden spoon was placed immediately caudal to the costal arch with pressure directed craniodorsal (Figure 1). Proper radioprotection measures were ensured during the procedure.

The diagnosis in the patient file was re-evaluated and scored as positive (presence of an abnormal soft tissue opacity cranial to the diaphragm fitting with HH), suspected (presence of an abnormal soft tissue opacity but unconvincing to be HH), and negative (no abnormal soft tissue opacity present). Dogs that could not be scored for HH on the radiographs due to confounding pathologies obscuring the area of interest were excluded.

Only dogs belonging to brachycephalic breeds were included (Freiche and German, 2021; Meola, 2013).

## RESULTS

During the study period, radiographic screening for HH was performed in 167 dogs. Twenty-two dogs were excluded from the study, including fourteen dogs that did not belong to a brachycephalic breed and seven dogs in which the presence of HH could not be scored due to confounding pathologies. A total of 146 dogs were included in the study. Breeds represented included French bulldog (n=84), English bulldog (n=26), pug (n=23), Bordeaux dog (n=5), cavalier King Charles spaniel (n=3), Chinese Shar Pei



**Table 1. The radiographic diagnosis of HH using external abdominal pressure radiography and survey radiography in 146 brachycephalic dogs suspected of hiatal hernia.**

SHH diagnosis	Positive	Suspected	Negative
Standard radiograph	3	2	5
External abdominal pressure radiograph	10	0	0

(n=2), and Chihuahua, Boston terrier and Old English bulldog (one each). The median age was 26 months (range 4 to 127 months). The sex distribution was 100 male dogs (76 male intact, 24 male castrated) and 46 female dogs (26 female intact, 20 female spayed).

Ten of the 146 dogs (6.8%) included in the study were diagnosed with HH based on either EAP radiography or SRV radiography. Nine dogs had a type-I sliding HH and one 2.5-year-old French bulldog was diagnosed with a type-II rolling HH. Male dogs were overrepresented with six male dogs (three male intact, three male castrated) versus four female dogs (one female intact, three female spayed). The median age was 34 months (range 8 to 127 months). Breeds included were the French bulldog (n=6), English bulldog (n=2), Chinese Shar Pei (n=1), and Pug (n=1). In these dogs, hiatal hernia was found in 100% (1/1 dogs) for the Chinese Shar Pei, 7.1% (6/84 dogs) for the French bulldog 7.7% (2/26 dogs) for the English bulldog, and 4.3% (1/23 dogs) for the pug in this study.

Survey radiographs resulted in a positive diagnosis of HH in 30% (3/10 dogs), a suspected diagnosis in 20% (2/10 dogs), and a negative diagnosis in 50% (5/10 dogs) of the dogs (Table 1). The two dogs with a suspected diagnosis of HH on SRV radiography had a positive diagnosis on EAP radiography. Five dogs with a negative diagnosis for HH on SRV radiography (Figure 2A) had a positive diagnosis on EAP radiography (Figure 2B).

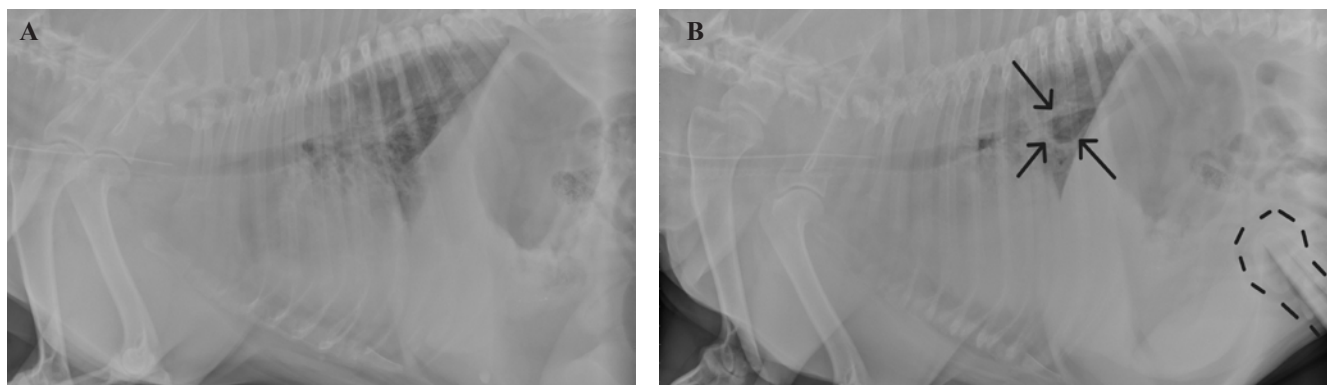
## DISCUSSION

In the current study, it was found that the application of external pressure on the abdomen during

radiographic HH screening in brachycephalic dogs increased the ability to diagnose HH over survey radiography (10/146 dogs positive on EAP radiography versus 3/146 dogs positive on SRV radiography). Dogs that were diagnosed as suspected or even negative on SRV radiography could unmistakably be diagnosed with HH on EAP radiography.

Survey radiographs have previously shown to be unreliable for the diagnosis of HH since they consistently underestimate the true prevalence and only detect between 20% (1/5 dogs) (Broux et al., 2018) and 55% (36/66 dogs) (Luciani et al., 2022) of the dogs ultimately diagnosed with HH via other imaging techniques. In the current study, only 30% (3/10 dogs) of the dogs with HH could be diagnosed on survey radiography. It has been suggested to increase the diagnostic yield of radiographic HH diagnosis by performing contrast radiography to help outline the gastroesophageal sphincter and make the identification of a displaced gastroesophageal junction easier (Reeve et al., 2017; Pollard, 2012). However, the diagnostic challenge is not the identification of the gastroesophageal junction but the fact that the most common type I or sliding HH is a transient disorder. During or preceding the radiographic study, dogs are preoxygenated and sometimes even sedated resulting in decreased respiratory effort and a decreased transdiaphragmatic pressure gradient (Vangrinsven et al., 2021). The presence of HH should therefore not be ruled out based on a negative survey radiography.

Manual pressure on the abdomen has been postulated for radiography (Broux et al., 2018; Pollard, 2012), but up till now, no studies have been performed on EAP radiography. The position of the dog during the imaging procedure also influences the transdia-



**Figure 2.** Example of a dog where A. no hiatal hernia was identified on survey radiography and B. a positive diagnosis was made on the external abdominal pressure radiography. Arrows point at the displaced gastroesophageal junction, dotted line outlines the wooden spoon applying external abdominal pressure.

phragmatic pressure gradient with lateral recumbency achieving a higher pressure versus sternal recumbency (Pratschke et al., 2001) and thirty-degrees Trendelenburg position (head down, tail up) achieving a higher pressure versus neutral table position (Broux et al., 2018). External abdominal pressure has been shown to achieve additional positive diagnoses during endoscopic screening for HH (Broux et al., 2018). The number of positive HH diagnoses increased from 2/5 to 5/5 dogs when EAP with the fist was performed during endoscopic HH screening. However, when EAP radiography was used during videofluoroscopic swallow studies for HH screening, this did not result in additional positive diagnoses (Eivers et al., 2019; Reeve et al., 2017). A possible explanation is the experienced difficulty to achieve an increased abdominal pressure in an awake animal in a standing position whilst respecting radioprotection measures close to the fluoroscopy beam. Another reason can be the high diagnostic yield of videofluoroscopic swallow studies, making it unlikely that dogs with HH are missed.

Broux et al. (2018) also described that the use of ETO increases the chance to diagnose gastroesophageal junction abnormalities. An interesting follow-up study would be to monitor the effect of applying both EAP and ETO at the same time, with the patient closely monitored to avoid unwanted side effects like hypoxia.

Dynamic medical imaging studies that allow imaging over several minutes, such as videofluoroscopic swallow studies or endoscopy, increase the likelihood of visualizing transient abnormalities (Pollard, 2012). Yet, the prevalence of HH based on endoscopy in brachycephalic dogs with aerodigestive disease varies between 0% and 4.1% (Broux et al., 2018, Poncet et al., 2006; Poncet et al., 2005). This underestimation is caused by the fact that the endotracheal tube and general anesthesia necessary during this imaging procedure ease the breathing effort and diminish the transdiaphragmatic pressure gradient necessary to induce the intermittent herniation (Vangrinsven et al., 2021). Inducing forced inspiration and restoring the increased transdiaphragmatic pressure gradient by briefly obstructing the endotracheal tube were successful in increasing the number of positive HH diagnoses from 0/5 to 4/5 dogs in the study by Broux et al. (2018).

Sensitivity and specificity rates of each imaging technique have not been described in the veterinary literature because there is often no gold standard diagnosis at surgery or autopsy to compare the findings of the imaging study with (Reeve et al., 2017). It also remains difficult to compare the different prevalences of HH amongst the different imaging techniques. Study populations differ and might contain only brachycephalic dogs with gastrointestinal clinical signs and thus achieving higher prevalences. In the current study, dogs with and without gastrointestinal signs were included. This might explain in part the lower

prevalence of 6.8% HH diagnoses in brachycephalic dogs. In other studies, a prevalence of 5% (1/20 dogs) via radiography (Broux et al., 2018), of 25% (5/20 dogs) via endoscopy (Broux et al., 2018), and of 44% (16/36 dogs) via videofluoroscopic swallow study (Reeve et al., 2017) were found.

The prevalence of HH has been reported to be higher in male dogs (Reeve et al., 2017; Poncet et al., 2005), which was also noted in the current study with a 2/1 male-to-female ratio. In the study by Reeve et al. (2017), the diagnosis of HH was made at the age of two years old. That is surprisingly young for a suspected acquired disease occurring due to inspiratory effort caused by BOAS. In the current study, a median age of 34 months was found.

Although the Chinese Shar Pei is considered a brachycephalic breed, the presence of HH has been attributed to a congenital disorder of the esophageal hiatus rather than an acquired disorder secondary to an increased transdiaphragmatic pressure gradient due to BOAS (Guiot et al., 2008). Congenital hernias occur due to a developmental abnormality of the esophageal hiatus or phrenicesophageal ligament (Reeve et al., 2017). The only Chinese Shar Pei dog in this study had a positive diagnosis on both SRV radiography and EAP radiography. Management of a congenital HH requires surgical reconstruction of the esophageal rim and hiatus (Callan et al., 1993).

For the management of HH secondary to BOAS, multilevel upper airway correction and supportive antacid medication have traditionally been advocated (Vangrinsven et al., 2021). On endoscopic follow-up monitoring, Poncet et al. (2006) found that 20% (10/51 dogs) showed improvement of their macroscopic GI lesions. This can be explained by the fact that multilevel surgery has the potential to decrease the transdiaphragmatic pressure difference at the esophageal hiatus and thus lower the frequency with which the gastroesophageal junction herniates. Two of the dogs in that study had sliding HH, but no further information was given on the evolution of the hernia (Poncet et al., 2006). In a recent study by Mayhew et al. (2023) in 13 dogs with sliding HH, the owners reported that the severity of the gastrointestinal signs was much lower after multilevel BOAS surgery. However, when evaluated by endoscopy and videofluoroscopic swallow study, the frequency of sliding HH and gastroesophageal reflux was unchanged (Mayhew et al., 2023). Since the laxity at the esophageal hiatus remains, herniation still happens and continues to cause problems for the dog although gastrointestinal clinical signs are not always evident. Surgical correction of sliding HH is therefore also indicated for the acquired form in brachycephalic dogs.

This study has several limitations. The first is the retrospective nature of the study and thereby the lack of standardization of the applied external abdominal pressure performed. However, even if the same person would perform all EAP radiographs, standardiza-

tion of the pressure among the different breeds would remain difficult. Secondly, the low number of dogs diagnosed with HH makes statistical analysis impossible. Last, it would have been interesting to compare the EAP radiographs with other imaging techniques, such as videofluoroscopic swallow study and endoscopy.

In the present study, it is demonstrated that the radiographic diagnosis of HH in brachycephalic dogs can be improved by performing external abdominal pressure radiographs together with survey radiography. Endoscopy and videofluoroscopic swallow study remain indicated for dogs that are suspected of HH but have a negative diagnosis on radiography.

## REFERENCES

- Broux, O., Clercx, C., Etienne, A.L., Busoni, V., Claeys, S., Hamaide, A., Billen, F., (2018). Effects of manipulations to detect sliding hiatal hernia in dogs with brachycephalic airway obstructive syndrome. *Veterinary Surgery* 47, 243-251.
- Callan, M.B., Washabau, R.J., Saunders, H.M., Kerr, L., Prymak, C., Holt, D., (1993). Congenital esophageal hiatal hernia in the Chinese Shar-Pei dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 7, 210-215.
- Eivers, C., Rueda, R.C., Liuti, T., Schmitz, S.S., (2019). Retrospective analysis of esophageal imaging features in brachycephalic versus non-brachycephalic dogs based on videofluoroscopic swallowing studies. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33, 1740-1746.
- Freiche V., German A.J. (2021). Digestive diseases in brachycephalic dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 51(1), 61-78. doi: 10.1016/j.cvsm.2020.09.006. PMID: 33187623.
- Guiot, L.P., Lansdowne, J.L., Rouppert, P., Stanley, B.J., (2008). Hiatal hernia in the dog: a clinical report of four Chinese Shar Peis. *Journal of the American Animal Hospital Association* 44, 335-341.
- Hall, E.J., Williams, D.A.O., Kathrani, A. (2020). *BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology*. Third edition, Quedgeley, Gloucester, British Small Animal Veterinary Association.
- Luciani, E., Reinerio, C., Grobman, M., (2022). Evaluation of aerodigestive disease and diagnosis of sliding hiatal hernia in brachycephalic and nonbrachycephalic dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 36, 1229-1236.
- Mayhew, P.D., Marks, S.L., Pollard, R., Balsa, I.M., Culp, W.T.N., Giuffrida, M.A., (2023). Effect of conventional multilevel brachycephalic obstructive airway syndrome surgery on clinical and videofluoroscopic evidence of hiatal herniation and gastroesophageal reflux in dogs. *Veterinary Surgery* 52, 238-248.
- Meola S.D. (2013). Brachycephalic airway syndrome. *Topics in Companion Animal Medicine* 28, 91-96.
- Pollard, R., (2012). Imaging evaluation of dogs and cats with dysphagia. *International Scholarly Research Notices* 238505, 15.
- Poncet, C.M., Dupre, G.P., Freiche, V.G., Bouvy, B.M., (2006). Long-term results of upper respiratory syndrome surgery and gastrointestinal tract medical treatment in 51 brachycephalic dogs. *Journal of Small Animal Practice* 47, 137-142.
- Poncet, C.M., Dupre, G.P., Freiche, V.G., Estrada, M.M., Poubanne, Y.A., Bouvy, B.M., (2005). Prevalence of gastrointestinal tract lesions in 73 brachycephalic dogs with upper respiratory syndrome. *Journal of Small Animal Practice* 46, 273-279.
- Pratschke, K.M., Bellenger, C.R., McAllister, H., Campion, D., (2001). Barrier pressure at the gastroesophageal junction in anesthetized dogs. *American Journal of Veterinary Research* 62, 1068-1072.
- Reeve, E.J., Sutton, D., Friend, E.J., Warren-Smith, C.M.R., (2017). Documenting the prevalence of hiatal hernia and oesophageal abnormalities in brachycephalic dogs using fluoroscopy. *Journal of Small Animal Practice* 58, 703-708.
- Vangrinsven, E., Broux O., Massart L., Claeys S., Clercx C., Billen F., (2021). Diagnosis and treatment of gastroesophageal junction abnormalities in dogs with brachycephalic syndrome. *Journal of Small Animal Practice* 62(3), 200-208.





## Een 78, XX ovotesticulaire geslachtsontwikkelingsstoornis, voorheen beschreven als een ‘vrouwelijke echte hermafrodiet’, bij een hond

*A 78, XX ovotesticular disorder of sex development, previously known as a ‘female true hermaphrodite’, in a dog*

<sup>1</sup>H. De Bosschere, <sup>1</sup>A.-S. Platteeuw <sup>2</sup>E. Kindermans, <sup>3</sup>M. Boussemaere, <sup>4</sup>B. Menten

<sup>1</sup>Medisch Labo Bruyland – Afdeling Diergeneeskunde, Beneluxpark 2, B-8500 Kortrijk, België

<sup>2</sup>Handzamestraat 157, B-8610 Handzame, België

<sup>3</sup>Pereboomstraat 7, B-8610 Kortemark, België

<sup>4</sup>Departement Biomoleculaire Geneeskunde, Centrum voor Medische Genetica, Medisch Onderzoeksgebouw 1, Universitair Ziekenhuis Gent, C. Heymanslaan 10, B-9000 Gent, België

hendrik.de.bosschere@bruyland.be

### SAMENVATTING

Een twee jaar oude, intacte, zwarte Engelse cocker spaniël werd aangeboden voor electieve castratie. Tijdens het klinisch onderzoek werd een vergrote clitoris met de aanwezigheid van een clitorisbotje waargenomen. De ovaria zagen er macroscopisch groter en vleziger uit dan normaal gezien wordt bij middelgrote hondenrassen van die leeftijd. Microscopisch werden naast normaal ovarieel weefsel ook rudimentaire tubuli seminiferi (testiculair weefsel) waargenomen. Karyotypering op een volbloedstaal toonde een normale 78, XX-euploidie met de aanwezigheid van twee X-chromosomen en de afwezigheid van een Y-chromosoom. De diagnose van een 78, XX ovotesticulaire geslachtsontwikkelingsstoornis werd gesteld. Deze stoornis werd voorheen beschreven als een ‘vrouwelijke echte hermafrodiet’.

### ABSTRACT

A two-year-old, intact, black English Cocker Spaniel was presented for elective spaying. At clinical examination, an enlarged clitoris with an os clitoridis was observed. Laparotomy revealed macroscopically, larger and fleshier looking ovaria than expected in this dogbreed. Histologically, normal ovarian tissue was observed next to rudimentary tubuli seminiferi (testicular tissue). Karyotyping on a blood sample revealed a normal 78, XX euploidy at the chromosomal level with the presence of two X-chromosomes and the absence of a Y-chromosome. Taking everything into consideration, the diagnosis of a 78, XX ovotesticular disorder of sex development was made. This type of sexual developmental disorder was formerly referred to as a ‘female true hermaphrodite’.

### INTRODUCTIE

Interseksualiteit is een zeldzame congenitale afwijking bij huisdieren (Schlafer en Miller, 2007). De termen ‘interseks’ en ‘hermafroditisme’ betekenen dat er genitale kenmerken van beide geslachten aanwezig zijn bij hetzelfde individu (Hare, 1976; Meyers-Wallen, 2001; Passello en Mowat, 2004; Alam et al., 2007). Het woord hermafrodiet is afkomstig uit het Griekse mythologische verhaal van Hermaphro-

ditus, de zoon van Hermes en Aphrodite, die na versmelting met een waternimf mannelijke en vrouwelijke geslachtskenmerken vertoonde.

Intersekse honden worden doorgaans onderverdeeld in ‘echte hermafrodieten’ en ‘pseudohermafrodieten’ (Poth et al., 2010). Echte hermafrodieten (dieren waarvan het chromosomale en gonadale geslacht niet overeenstemmen) worden gekenmerkt door de aanwezigheid van zowel ovarieel als testiculair weefsel in verschillende combinaties: bilaterale ovotestes;

unilaterale ovotestis of de combinatie van een ovarium aan de ene kant en een testis aan de andere. Deze honden hebben ambigue externe genitalia, waarbij de graad van masculinisatie bepaald wordt door de hoeveelheid testiculaire weefsel in de gonaden (Poth et al., 2010). Men spreekt van pseudohermafroditisme wanneer het chromosomale geslacht en het gonadale geslacht overeenstemmen, maar niet het fenotypische geslacht, namelijk de externe genitalia. Een hond heeft bijvoorbeeld XX-chromosomen en eierstokken, maar ook een penis. Pseudohermafrodieten worden als mannelijk of vrouwelijk beschouwd naargelang het gonadale geslacht (Poth et al., 2010).

Het stellen van een correcte diagnose bij honden met een geslachtsontwikkelingsstoornis is uitdagend door de vele verschillende interseksmogelijkheden en de aanwezigheid van ambigue externe genitaliën (Poth et al., 2010). Het bepalen van het chromosomale geslacht en het gonadale geslacht is noodzakelijk voor een correcte classificatie van geslachtsontwikkelingsstoornissen en bijgevolg ook voor het stellen van een correcte diagnose (Hare, 1976; Chaffaux et al., 1980; Meyers-Wallen en Patterson, 1986; Melniczek et al., 1999). In tegenstelling tot in de humane geneeskunde ontbreekt een gestandaardiseerde en precieze nomenclatuur in de diergeneeskunde (Poth et al., 2010). Poth et al. (2010) hebben daarom een nieuwe classificatie opgesteld voor geslachtsontwikkelingsstoornissen op basis van het chromosomale, gonadale en fenotypische geslacht. De nieuwe terminologie is gebaseerd op het aantal chromosomen (namelijk 77, 78 (= normaal aantal), 79); het gonadale geslacht (normaal XX of XY, maar ook XO, XXX of XXY) en fenotypische geslachtsafwijkingen.

Hieronder volgt de beschrijving van een ‘vrouwelijke echte hermafrodiet’, aan de hand van karyotypering, histologisch onderzoek van de gonaden en het inwendige geslachtsapparaat, en het macroscopisch uitzicht van de externe genitalia. Volgens de recente nomenclatuur is dit een hond met een 78, XX ovotestculaire geslachtsontwikkelingsstoornis.

## CASE REPORT

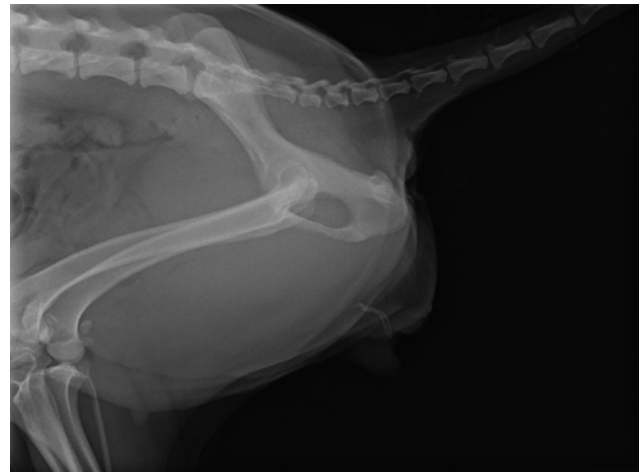
Een twee jaar oude, intacte, zwarte Engelse cocker spaniël werd aangeboden voor electieve castratie.

### Klinisch onderzoek

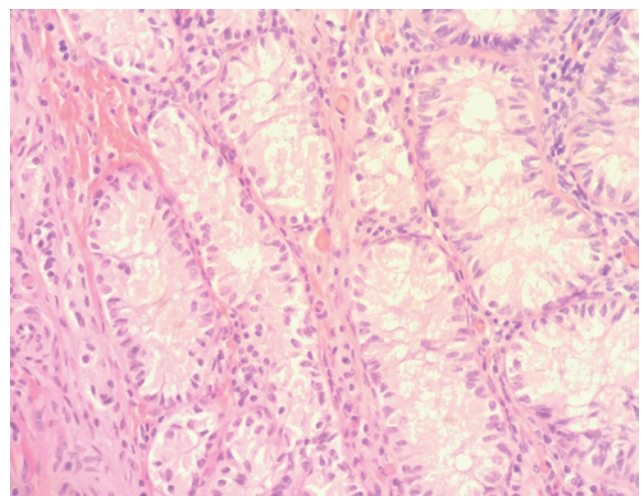
Tijdens het lichamelijk onderzoek werd als toevallsbevinding een sterk vergrote, uit de vulva puijende clitoris waargenomen (Figuur 1). Tijdens het radiografisch onderzoek werd een duidelijk os clitoridis vastgesteld (Figuur 2). Voor dit hondenras waren de ovaria macroscopisch gezien eerder groot, rond en erg vlezig, waardoor de ovaria min of meer op testes leken. De uterus en cervix hadden een normaal macroscopisch aspect. Gezien de zeldzame presentatie



**Figuur 1. Macroscopische opname van de clitoris.**



**Figuur 2. Radiografische opname met een os penis in de clitoris.**



**Figuur 3. Microscopisch beeld van de ovotestis. In het ovariumparenchym is er een uitgebreide aanwezigheid van rudimentaire tubuli seminiferi (testisweefsel) met vermoedelijk sertolicellen (400x-vergroting - hematoxyline-eosinekleuring).**

werden de ovaria en de uterus opgestuurd naar Medlab Bruyland (Kortrijk) voor histologisch onderzoek en werd aanvullend een bloedstaal genomen voor hormoonbepaling en genetisch onderzoek.

De resultaten van de serum-hormoonanalyses waren: 2,91 µg/l anti-Mülleriaan hormoon; <0,5 ng/l 17-beta-oestradiol; 0,43 ng/l progesteron; <2,6 µg/l testosteron.

### Histologie

De uterushoornen (afmetingen beiderzijds 8,5x0,8cm) vertoonden een normale histologische opbouw van de verschillende tunica's met een erge stuwning van de bloedvaten en lokaal oedeem van het endometrium. De ovaria maten 1,5x1,8x1,0cm. Het ene ovarium bevatte vijf corpora lutea en enkele kleine follikels aan de periferie. Centraal in het ovarium waren er talrijke rudimentaire tubuli seminiferi (testisweefsel) met vermoedelijk sertolicellen ingebed in collageen bindweefsel (Figuur 3). Het andere ovarium vertoonde hetzelfde histologisch beeld als het reeds beschreven ovarium, maar dan zonder de corpora lutea.

### Genetisch onderzoek

Het DNA werd onderzocht door middel van lage resolutie volledige genomsequencing. Alle gesequencende DNA-fragmenten werden vervolgens gemapt ten opzichte van het ROS\_Cfam\_1,0 referentiegenoom (National Center of Biotechnology Information), omdat hierin ook het Y-chromosoom vertegenwoordigd is. Het resultaat van deze analyse was op een normaal vrouwelijk individu. Er bleken twee X-chromosomen aanwezig te zijn en er kon geen materiaal van het Y-chromosoom gevonden worden in het DNA.

Uit bovenstaande bevindingen kan geconcludeerd worden dat het chromosomale geslacht van deze hond 78, XX en dus vrouwelijk was. Maar op gonadaal niveau was er sprake van de aanwezigheid van bilaterale ovotestes, die op hun beurt geleid hebben tot het afwijkende vrouwelijke fenotype met als duidelijk masculinisatiekenmerk de vergrote clitoris met aanwezigheid van een os clitoridis. Uit het voorgaande kan besloten worden dat deze hond een 'echte hermafrodiet' is.

## DISCUSSIE

De normale seksuele differentiatie van het geslacht verloopt bij zoogdieren in drie fasen: het chromosomale geslacht wordt bepaald bij de bevruchting, nadien volgt de ontwikkeling van het gonadaal geslacht en tot slot is er de ontwikkeling van het fenotypisch geslacht.

Interseksualiteit is het gevolg van een afwijking

tijdens een van deze drie fasen (Kim en Kim, 2006; Lyle, 2007; Poth et al., 2010). Dit uit zich in een grote verscheidenheid aan afwijkingen waarbij de overkoepelende term 'interseksualiteit' niets zegt over de basis van de afwijking (Kim en Kim, 2006; Lyle, 2007; Poth et al., 2010). Geslachtsontwikkelingsstoornissen worden veroorzaakt door genetische of chromosomale afwijkingen, maar ook iatrogene hormonale of chemische blootstelling kan een rol spelen (Pasello-Legrand en Mowat, 2004).

Het chromosomale geslacht wordt bij de bevruchting bepaald door de versmelting van de vrouwelijke en mannelijke gameet. Onder normale omstandigheden kan het vrouwelijke (XX) dier enkel een X-chromosoom doorgeven terwijl het mannelijke individu (XY) een X- of een Y-chromosoom kan doorgeven. Onder normale omstandigheden hebben de nakomelingen het vrouwelijke XX-chromosomale of het mannelijke XY-chromosomale geslacht. Afwijkingen op dit niveau resulteren in afwijkingen in het aantal geslachtschromosomen (XO, XXX, XXY) of XXY-chimerisme, i.e. het voorkomen van cellen met verschillende genetische achtergronden in één enkel individu of XX-XY-mozaïcisme, i.e. een variatie van genetisch materiaal in verschillende cellen in het lichaam. Het onderscheidt zich van chimerisme doordat bij mozaïcisme alle cellen voortkomen uit één enkele bevruchte eicel (Pasello-Legrand en Mowat, 2004). De hond in deze casereport had de chromosomencombinatie XX. De afwijking bevindt zich in dit geval niet op het chromosomale niveau.

Wanneer het chromosomale geslacht niet overeenstemt met het gonadaal geslacht, spreekt men van *sex reversal*. Er worden twee types onderscheiden, namelijk XX *sex reversal* (XXSR) en XY *sex reversal* (XYSR). Zowel bij XXSR als bij XYSR is er een variabele ontwikkeling van ambigue externe genitaliën in positieve correlatie met de hoeveelheid testiculaire weefsel in de gonaden (Meyers-Wallen en Patterson, 1989; Feldman en Nelson, 2004). Er zijn twee subcategorieën van XXSR, namelijk 'XX echt hermafroditisme' en 'XX mannelijk syndroom' (Meyers-Wallen en Patterson, 1989; Feldman en Nelson, 2004). De kenmerken van een XX echte hermafrodiet zijn de aanwezigheid van zowel ovarieel als testiculaire weefsel in één van de drie verschillende mogelijke variaties (zie supra) (Meyers-Wallen en Patterson, 1989; Feldman en Nelson, 2004). Bij deze dieren is het paramesonefrotisch buisjessysteem (vrouwelijk geslachtsapparaat: uterus) niet beïnvloed, terwijl het mesonefrotisch buisjessysteem (mannelijk geslachtsapparaat) deels kan ontwikkeld zijn. Dit was het geval bij de hond beschreven in deze casuïstiek. Bij een XX mannelijk individu is er geen ovarieel weefsel, maar wel bilateraal niet-spermatogene testes in een ovariele positie en afgeleiden van zowel het mesonefrotisch als paramesonefrotisch buisjessysteem. Het resultaat is een gelijktijdige vorming van zowel vrouwelijke als mannelijke genitale organen in een variabele



graad van ontwikkeling (Meyers-Wallen en Patterson, 1986).

Er wordt een genetische etiologie voor *sex reversal* gesuggereerd (Sarafoglou en Ostrer, 2000; Cotinot et al., 2002). Bij de Amerikaanse cocker spaniël is er een autosomaal recessieve genvariant (allel) bekend die aanleiding geeft tot XX echt hermafroditisme en XX mannelijke dieren (Selden et al., 1984). Waarschijnlijk is dit gen ook aanwezig bij andere rassen zoals de Duitse kortharige pointer, Noorse elandhond, mopshond, de beagle, Engelse cocker spaniël, kerry blue terriër, de weimaraner en Duitse herder (Stewart et al., 1972; Williamson, 1979; Meyers-Wallen et al., 1985; Randolph et al., 1987; Meyers-Wallen en Patterson, 1989; Melniczek et al., 1999; Switonski et al., 2004). De hond in deze casereport was een Engelse cocker spaniël.

Hormoonbepalingen (AMH, oestradiol, progesteron en testosteron) leverden geen specifieke abnormaliteiten of diagnostische indicaties op die van nut waren voor de diagnosestelling.

Tot slot zijn er nog de pseudohermafrodieten, waarbij het fenotypische geslacht afwijkt van het chromosomale en het gonadale geslacht, en waarbij deze laatste wel in overeenstemming zijn. Bij mannelijke en vrouwelijke pseudohermafrodieten kunnen zowel de externe als de interne genitaliën afwijkend zijn (Poth et al., 2010).

## CONCLUSIE

Geslachtsontwikkelingsstoornissen dienen onderverdeeld te worden op basis van het chromosomale, het gonadale en het fenotypische geslacht (Poth et al., 2010). Gebaseerd op de nieuwe nomenclatuur (Poth et al., 2010) moet deze hond gedefinieerd worden als een hond met een 78, XX ovotesticulaire geslachtsontwikkelingsstoornis. Dit werd voorheen beschreven als een ‘vrouwelijke echte hermafrodit’.

## DANKBETUIGING

De auteurs willen het personeel van Medlab Bruyland en het Centrum voor Medische Genetica bedanken voor hun assistentie bij de analyses. Prof. dr. K. Chiers en Prof. dr. L. Van Brantegem (Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent) worden bedankt voor hun tweede opinie betreffende de histologie van de ovaria.

## REFERENTIES

Alam M. R., Cho Y. G., Cho S. J., Lee J. I., Lee H. B., Tae H. J., Kim I. S., Kim N. S. (2007). Male pseudohermaphroditism in dogs: three case report. *Veterinarni Medicina* 52(2), 74-78.  
Chaffaux S., Mailhac J. M., Cribiu E. P., Popescu C. P.,

Cotard J. P. (1980). L'intersexualité chez le chien (*canis familiaris*). A propos de quatre cas. *Record Médecin Vétérinaire* 156, 179-192.  
Cotinot C., Pailhoux E., Jaubert F., Fellous M. (2002). Molecular genetics of sex determination. *Seminars in Reproductive Medicine* 20, 157-168.  
Feldman E. C., Nelson R. W. (2004). Infertility, associated breeding disorders, and disorders of sexual development. In: Feldman, E.C., Nelson, R.W. (editors). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Third edition, Saunders, pp. 893-898.  
Hare W. C. D. (1976). Intersexuality in the dog. *Canadian Veterinary Journal* 17, 7-15.  
Kim K. S., Kim O. (2006). A hermaphrodite dog with bilateral ovotestes and pyometra. *Journal of Veterinary Science* 7(1), 87-88.  
Lyle S. K. (2007). Disorders of sexual development in the dog and cat. *Theriogenology* 68, 338-343.  
Melniczek J. R., Dambach D., Prociuk U., Jezyk P. F., Henthorn P. S., Patterson D. F., Giger U. (1999). Sry-negative XX sex reversal in a family of Norwegian Elkhounds. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 13, 564-569.  
Meyers-Wallen V. N., Patterson D. F. (1986). Disorders of sexual development in the dog. In: Morrow, D.A. (editor). *Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Diseases in Animals*. Second edition, WB Saunders, pp. 567-574.  
Meyers-Wallen V. N., Patterson D. F. (1989). Sexual differentiation and inherited disorders of sexual development in the dog. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 39, 57-64.  
Meyers-Wallen V. N., Bowman L., Acland G. M., Palmer V. L., Schlafer D., Fajt V. (1995). Sry-negative XX sex reversal in the German Shorthaired Pointer dog. *Journal of Heredity* 86, 369-373.  
Meyers-Wallen V. N., Schlafer D., Barr I., Lovell-Badge R., Keyzner A. (1999). Sry-negative XX sex reversal in purebred dogs. *Molecular Reproduction and Development* 53, 266-273.  
Meyers-Wallen V. N. (2001). Inherited abnormalities of sexual development in dogs and cats. In: Concannon P.W., England G., Versteegen III J. and Linde-Forsberg C. (editors). *Recent Advances in Small Animal Reproduction, International Veterinary Information Service*. Ithaca NY (www.ivis.org), A1217.0901.  
Meyers-Wallen V.N. (2009). Review and update: genomic and molecular advances in sex determination and differentiation in small animals. *Reproduction in Domestic Animals* 44, 40-46.  
Passello-Legrand F., Mowat V. (2004). Two cases of spontaneous pseudohermaphroditism in cyanomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of Veterinary Medicine* 51, 344-347.  
Poth T., Breuer W., Walter B., Hecht W., Hermanns W. (2010). Disorders of sex development in dog – Adoption of a new nomenclature and reclassification of reported case. *Animal Reproduction Science* 121, 197-207.  
Randolph J. F., Center S. A., McEntee M., Goldberg E. H. (1987). H-Y antigenpositive XX true bilateral hermaphroditism in a German Shorthaired Pointer. *Journal of the American Animal Hospital Association* 24, 417-420.  
Sarafoglou K., Ostrer H. (2000). Familial sex reversal: a review. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85, 483-493.

Schlafer D. H., Miller R. B. (2007). Pathology of the genital system of the non gravid female. In: Grant Maxie, M. (editor). *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Volume 3, fifth edition. Elsevier Saunders, pp. 431-444.

Selden J. R., Moorhead P. S., Koo G. C., Wachtel S. S., Haskins M. E., Patterson D. F. (1984). Inherited XX sex reversal in the cocker spaniel dog. *Human Genetics* 67, 62-69.

Stewart R. W., Menges R. W., Selby L. A., Rhoades J. D., Crenshaw D. B. (1972). Canine intersexuality in a Pug breeding kennel. *The Cornell Veterinarian* 62, 464-473.

Switonski M., Nowacka J., Skorczyk A., Chmurzynska A., Nizanski W. (2004). Hereditary sex-reversal syndrome (78,XX; SRY-negative) in German Shepherd puppies. *Medycyna weterynaryjna* 60, 705-707.

Williamson J. H. (1979). Intersexuality in a family of Kerry Blue Terriers. *Journal of Heredity* 70, 138-139.



© 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/>).

## OP EEN PAARD

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

Trijntje Fop (Kees Stip, 1951)

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

## Urolithiase bij reptielen

### *Urolithiasis in reptiles*

T. Hellebuyck

Department of Pathobiology, Pharmacology and Zoological Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

Tom.Hellebuyck@ugent.be

## SAMENVATTING

Urolithiase, vooral cysto- en cloacolithiase, komt vaak voor bij in gevangenschap gehouden reptielen. De aandoening betreft de vorming en aanwezigheid van macroscopische precipitaties of stenen (calculi) in het urinewegstelsel en wordt voornamelijk bij hagedissen en schildpadden gezien, waarbij er uitgesproken soortpredisposities lijken te bestaan. De vorming van een uroliet kan in de meeste gevallen met inadequate voeding en huisvesting in verband gebracht worden. Alhoewel het vaststellen van een cysto- of cloacoliet bij reptielen een toevallsbevinding kan zijn, treden symptomen meestal op eens de calculus een aanzienlijke afmeting heeft bereikt; deze zijn dan meestal specifiek en chronisch, tenzij de calculus obstructie veroorzaakt. In geval van ureterolithiase treden er meestal acute symptomen op die gelijkaardig zijn aan degene die bij conventionele huisdieren gezien worden. Bij de diagnostische benadering van urolithiase bij reptielen zijn het signalement, het afnemen van een gedetailleerde anamnese en een grondige evaluatie van het management essentieel. Bevestiging van de diagnose berust in hoofdzaak op een adequaat klinisch en radiografisch onderzoek. Naargelang de betrokken soort, locatie en afmeting van de calculus kan er gekozen worden voor coeliotomie of voor een endoscopie-geassisteerde benadering. In tegenstelling tot ureterolithiase is de prognose van cysto- en cloacolithiase bij reptielen meestal erg gunstig tenzij er een ernstige primaire oorzaak zoals spinale osteomyelitis wordt vastgesteld of tenzij er reeds ernstige secundaire complicaties aanwezig zijn op het ogenblik van de initiële diagnose.

## ABSTRACT

Urolithiasis, especially cysto- and cloacolithiasis, is a commonly observed disorder in captive reptiles. The condition involves the formation and presence of macroscopic precipitates or stones (calculi) in the urinary tract system and is mainly seen in lizards and chelonians, and there appear to be marked species predispositions. In most cases, the formation of a urolith can be linked to inadequate nutrition and housing. Although the detection of a cysto- or cloacolith in reptiles can be incidental, symptoms usually appear once the calculus has reached a significant size and are mostly nonspecific and chronic, unless the calculus causes obstruction. In case of ureterolithiasis, acute symptoms are usually observed, similar to those seen in conventional pets. As for the diagnostic approach to urolithiasis in reptiles, the signalment, a detailed history and a thorough evaluation of the captive management are essential. Confirmation of the diagnosis mainly relies on adequate clinical and radiographic examination. Depending on the species, location and size of the calculus, coeliotomy or an endoscope-assisted approach can be applied. Unlike ureterolithiasis, the prognosis for cysto- and cloacolithiasis in reptiles is generally favorable unless a severe primary etiology, such as spinal osteomyelitis, is identified, or severe secondary complications are present at the time of initial diagnosis.



## INLEIDING

Urolithiase is de vorming en aanwezigheid van macroscopische precipitaties of stenen (calculi) in het urinewegstelsel als gevolg van kristallisatie en aggregatie van minerale en organische stoffen die normaal in de urine zijn opgelost (Keller, 2019; Reavill en Schmidt, 2010; Osborne et al., 2009). Ook bij reptielen kan urolithiase optreden en de aandoening wordt vooral bij schildpadden en hagedissen gezien (Keller, 2019; Mader, 2006). Alhoewel calculi zich bij reptielen voornamelijk in de urineblaas vormen (cystoliet) en in de blaas of cloaca aangetroffen worden, worden er sporadisch gevallen van ureterolithiase gerapporteerd bij slangen en schildpadden (Keller, 2019; Reavill en Schmidt, 2010; Innis en Kincaid, 1999). Renale calculi daarentegen werden nog niet beschreven bij reptielen (Keller et al., 2015; Mader, 2006).

Terwijl alle schildpaddensoorten een urineblaas bezitten en er bij aquatische soorten eveneens accessoire urineblazen aanwezig zijn, is de aanwezigheid van een urineblaas bij hagedissen afhankelijk van het taxon en bezitten slangen geen urineblaas (Divers, 2019; Keller, 2019; Reavill en Schmidt, 2010). Bij slangen kunnen uraten na retrograde passage vanuit de cloaca concrementen of pseudocalculi vormen in het colon (Divers, 2019). Er lijken uitgesproken soortpredisposities te bestaan bij reptielen wat betreft het ontwikkelen van urolithiase, met name van blaasstenen (Keller, 2019).

Terwijl urolithiase bij honden, katten en kleine zoogdieren een veelvoorkomende aandoening is, wordt het voorkomen van de aandoening vermoedelijk sterk ondergediagnosticeerd bij in gevangenschap gehouden reptielen. Ook bij in het wild levende schildpadden werden cystolieten reeds aangetroffen, veelal als toevalsbevinding bij gestorven dieren (Jacobson et al., 2009; Homer et al., 1998). Vermoedelijk kan het onder- of niet diagnosticeren van cystolithiase bij reptielen in hoofdzaak toegewezen worden aan de specifieke en vage symptomen die dikwijls pas optreden wanneer cystolieten een aanzienlijke afmeting bereikt hebben (Keller, 2019; Mader, 2006). Bovendien draagt ook een gebrek aan kennis omtrent het voorkomen van cystolithiase bij reptielen onder praktiserende dierenartsen bij tot het niet herkennen van deze aandoening; dit in vergelijking met de meer intuïtieve differentieel diagnostische benadering die bij conventionele huisdieren met indicatieve symptomen van urolithiase evident lijkt te zijn.

In dit artikel worden het voorkomen en de klinische presentatie alsook de diagnostische en therapeutische benadering van urolithiase, met de nadruk op cystolithiase, bij reptielen besproken.

## VOORKOMEN EN PREDISPONERENDE FACTOREN VAN UROLITHIASE BIJ REPTIELEN

Alhoewel urolithiase als een frequent voorkomende aandoening wordt beschouwd bij schildpadden en hagedissen en zowel pathologische bevindingen als de behandeling van cystolithiase bij reptielen behoorlijk gedocumenteerd zijn (Colon en Di Girolamo, 2024; Keller, 2019; Keller et al., 2015), lijkt er weinig bekend te zijn omtrent de etiologie en prevalentie van urolithiase (Colon en Di Girolamo, 2024).

Reptielen zijn uricotelisch, waarbij stikstof als afvalstof van de eiwitstofwisseling vooral bij terrestrische en semi-aquatische soorten als weinig oplosbaar urinezuur uitgescheiden wordt in tegenstelling tot ureum bij zoogdieren. Urinezuur wordt makkelijk omgezet tot uraatzouten die normaal gezien door de nier gefilterd worden (Divers, 2019; Keller, 2019; Reavill en Schmidt, 2010). Onoplosbare uraten die in de blaas terecht komen, kunnen aggregaten en dus een nidus voor blaassteenvorming vormen (Keller, 2019). Bij aquatische reptielensoorten heeft de stikstofmetaboliet een hoger aandeel ureum en ammoniak dan uraat dan bij terrestrische soorten (Takani et al., 2021). Dit zou kunnen verklaren waarom cystolithiasis opvallend minder voorkomt bij aquatische dan bij terrestrische schildpaddensoorten.

Nutritionele oorzaken zoals vitamine A- en D-deficiëntie, overmatige opname van dierlijke proteïnen (e.g. wanneer excessieve hoeveelheden honden- of kattenvoeder of volledige prooidieren aan herbivore reptielensoorten gevoerd worden) of groenvoer met te lage vezelgehaltes of te hoge gehalten aan oxalaten (e.g. spinazie) worden het meest frequent vooropgesteld als predisponerende factoren voor de ontwikkeling van urolithiase bij reptielen. Ook te beperkte bewegingsruimte wordt vooral bij schildpadden als een belangrijke factor beschouwd en waarschijnlijk gaat het in de meeste gevallen om het gecombineerd optreden van de factoren die hier vermeld worden (Keller, 2019; Mader, 2006). Dehydratatie kan een primaire oorzaak zijn van de vorming van urolieten bij reptielen of kan hun ontstaan ten gevolge van andere oorzaken bespoedigen (Keller, 2019). Alhoewel dehydratatie acuut kan optreden, is chronische dehydratatie, e.g. bij groene leguanen (*Iguana iguana*) met nierfalen, vermoedelijk een sterk onderschat probleem bij in gevangenschap gehouden reptielen. In tegenstelling tot zoogdieren kunnen reptielen urine modificeren (Divers, 2019; Reavill en Schmidt, 2010). Urine die via de ureters in de cloaca terechtkomt, kan retrograad naar de blaas en/of het colon vloeien en urine kan vanuit de blaas terug naar het colon vloeien. Het epitheel van zowel de blaas als het colon kan hierbij water absorberen met concentratie van urine tot gevolg (Divers, 2019). Zo zal er in geval van waterdeprivatie, inadequate watervoorziening of te lage rela-

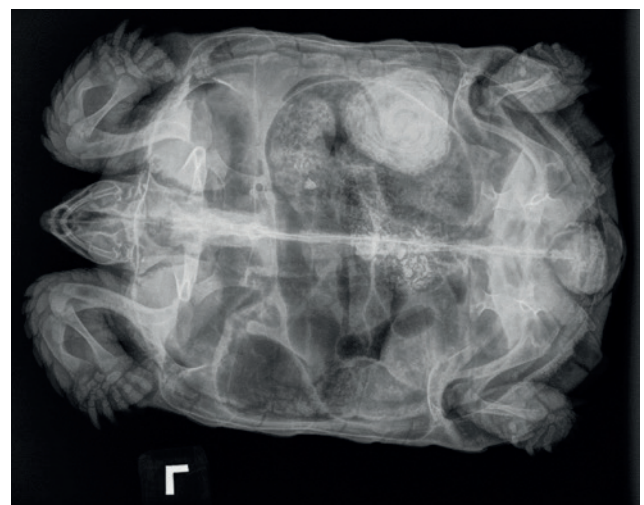
tieve luchtvochtigheid, verminderde wateropname of chronische oververhitting, een verhoogde absorptie van water vanuit de urineblaas en het colon optreden, waardoor een bijkomende supersaturatie en concentratie van de urine optreden in de urineblaas met een verhoogde kans tot vorming van cystische calculi tot gevolg (Keller, 2019; Keller et al., 2015). Naar analogie met wat gezien wordt bij mensen en conventionele huisdieren, kan bacteriële cystitis eveneens een rol spelen in het ontstaan van blaasstenen bij reptielen, waarbij bacteriën en ontstekingscellen een primaire nidus vormen (Solanes et al., 2023). Aangezien de urineblaas bij reptielen niet als een steriel milieu kan beschouwd worden, omwille van de passage van urine via de cloaca vooraleer ze in de urineblaas opgeslagen wordt, is het ondubbelzinnig aantonen van bacteriële cystitis bij reptielen echter uitdagend (Divers, 2009).

Ondanks de verschillende oorzaken die voor het ontstaan van cystolithiase bij reptielen gepostuleerd worden, werden de hypothesen nauwelijks afgetoetst aan epidemiologisch onderzoek (Colon en Di Girolamo, 2024). Op basis van een retrospectieve analyse (1982-2012) van de klinische dossiers van 789 in gevangenschap gehouden schildpadden werd een prevalentie van 5,1% vastgesteld en werd de hoogste prevalentie bij de woestijnschildpad (*Gopherus agassizii*, 77,5%) gezien gevolgd door de Afrikaanse sporenschildpad (*Centrochelys sulcata*, 7,5%) (Keller et al., 2015). In een survey-onderzoek dat uitgevoerd werd bij 101 in gevangenschap gehouden schildpadden met cystolithiase in Japan werd de hoogste prevalentie vastgesteld bij Afrikaanse sporenschildpadden (41,6%) en sterschildpadden (*Geochelone elegans*, 29,7%). Er kon geen duidelijke correlatie vastgesteld worden met biochemische afwijkingen in het bloedonderzoek die bovendien slechts bij een klein aantal van de aangetaste schildpadden vastgesteld werden (Takami et al., 2021). In een recente studie van Colon et al. (2024) die uitgevoerd werd bij 1033 in gevangenschap gehouden schildpadden in de Verenigde Staten (VS) werd een prevalentie van 4,4% vastgesteld. Op basis van de resultaten van deze studie lijken landschildpadden 64 keer meer risico te lopen op het ontwikkelen van cystolithiase dan aquatische schildpadden (Colon en Di Girolamo, 2024). Ook in deze studie werd cystolithiase het meest frequent bij Afrikaanse sporenschildpadden vastgesteld en er werden significante correlaties vastgesteld met continue binnenhuisvesting en een aanzienlijke hoeveelheid fruit in het dieet. Er leek geen significante correlatie met de leeftijd of het geslacht van de schildpadden te bestaan maar algemeen leken mannelijke dieren vaker aangetast te zijn dan vrouwelijke schildpadden naar analogie met wat bij de mens en zoogdieren gezien wordt (Colon en DiGirolamo, 2024). In overeenstemming met de meeste rapporteringen van cystolithiase bij reptielen in de literatuur werd er bij nagenoeg alle gevallen in de voorgenoemde studies slechts één cystoliet per geval aangetroffen. Aangezien woestijnschildpadden en sterschildpadden respectievelijk va-

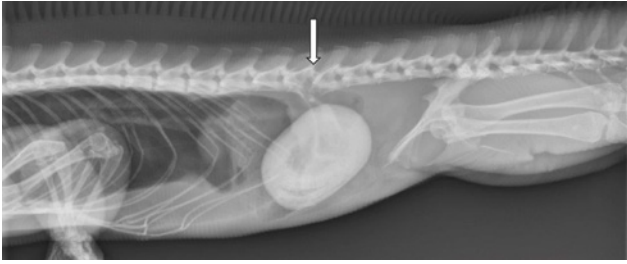
ker als huisdier worden gehouden in de VS en Azië dan in andere continenten, kan een variatie in prevalentie met betrekking tot de meest frequent aangetaste soorten hieraan worden toegeschreven. Op basis van persoonlijke observaties lijken gelijkaardige soortpredisposities te bestaan in België en Nederland wat betreft de ontwikkeling van cystolithiase bij in gevangenschap gehouden reptielen. Niet alleen bij de sporenschildpad en sterschildpad, wordt cystolithiase gediagnosticeerd, maar ook vaak bij de Russische vierteenschildpad (*Testudo horsfieldii*), vooral bij juveniele dieren. Naar analogie met wat in de literatuur beschreven wordt, wordt cystolithiase bij hagedissen het meest frequent bij soorten gezien die van nature in droge gebieden voorkomen, zoals doornstaartagamen (*Uromastyx* spp.) en chuckwalla's (*Sauromales* spp.) (Wolf et al., 2008; Sahner et al., 2007). Vermoedelijk spelen bij deze soorten eveneens diëtaire factoren (e.g. overmatige hoeveelheid eiwit in de voeding) een doorslaggevende rol in de etiologie van cystolithiase. Groene leguanen en andere leguanensoorten die in tropische regio's voorkomen, zijn eveneens erg gevoelig voor de ontwikkeling van cystolithiase (Solanes et al., 2023; Cerreta et al., 2022; Nagappan et al., 2018; Kwantes, 1992) en alhoewel ook voor deze soorten hoge eiwitgehalten in de voeding een belangrijke rol kunnen spelen, is chronische dehydratatie in gevangenschap waarschijnlijk de meest doorslaggevende factor.

## PATHOGENESE EN SAMENSTELLING VAN CYSTOLITHEN BIJ REPTIELEN

Ongeacht de onderliggende of faciliterende oorzaak liggen de overmatige aanwezigheid van urinezuur en het ontstaan van een nidus aan de basis van de vorming van blaasstenen bij reptielen en kan er



**Figuur 1.** Dorsoventrale radiografische opname van een sporenschildpad (*Centrochelys sulcata*). In de caudale coeloomholte is aan de rechterzijde een grote cystoliet aanwezig. Bemerk het uitgesproken radiopake en lamellaire uitzicht van de cystoliet.



**Figuur 2.** Laterolaterale radiografische opname van een witzwarte grondleguaan (*Ctenosaura similis*). In de urineblaas is een cystoliet aanwezig met een lamellair uitzicht. Ter hoogte van de lumbale wervels zijn er tekenen van spinale osteomyelitis aanwezig (pijl).

relatief veel tijd gaan over de vorming van een cystoliet, waardoor het optreden van symptomen vaak lang uitblijft (Keller, 2019). Het typisch lamellaire uitzicht van blaasstenen bij reptielen tijdens visuele inspectie of op radiografische opnames levert hiertoe ontegensprekelijk bewijs (Mader, 2006) (Figuur 1 en 2). Vooral bij schildpadden maar ook bij hagedissen kunnen veel aandoeningen, inclusief de predisponerende factoren met betrekking tot de ontwikkeling van cystolithiase bij reptielen (zie supra), urinaire stase, atonie en overvulling van de urineblaas uitlokken (Reavill en Schmidt, 2010). Deze afwijkingen worden bovendien ook routinematig gezien bij systemische ziekte en elke aandoening die aanleiding geeft tot veralgemeende verzwakking en meer specifiek bij veelvoorkomende aandoeningen die leiden tot calciumtekort en inversie van de calcium-fosfor verhouding (e.g. secundaire nutritionele (SNHP) en renale hyperparathyroïdie (RSHP)), met verminderde contractiliteit van de urineblaas tot gevolg (Divers, 2019). De fysiologische capaciteit van de urineblaas van reptielen om grote volumes urine te stockeren in functie van de mogelijkheid tot resorptie van water tijdens periodes van waterdeprivatie en de dunne musculus detrusor, werken urinaire stase en overvulling van de urineblaas in de hand. In tegenstelling tot supersaturatie en concentratie van urine in de urineblaas kan overvulling van de urineblaas eveneens aanleiding geven tot de vorming van cystolieten indien er overvloedige uraatconcrementen aanwezig zijn en er sedimentatie optreedt. Ook voor spinale osteomyelitis werd onder andere bij de witzwarte grondleguaan (*Ctenosaura similis*) reeds een causaal verband gepostuleerd tussen urinaire stase veroorzaakt door spinale compressie en cystolietvorming (Solanas et al., 2023) (Figuur 2). Spinale osteomyelitis komt ook frequent voor bij slangen, onder andere als comorbiditeit van reptarenavirusinfectie (*inclusion body disease*) (Simard et al., 2020), met paralytische ileus en de opstapeling van uraatconcrementen of pseudocalculi in het colon tot gevolg. Bij slangen worden dergelijke concrementen soms als toevallsbevinding gezien waarbij onvoldoende wateropname of dehydratatie waarschijnlijk de meest voor de hand liggende oorzaak is. Occasioneel worden ectopische eieren in de urineblaas aangetrof-

fen bij schildpadden met dystokie na retrograde migratie van één of meerdere eieren doorheen de urethra die op hun beurt een nidus kunnen vormen voor afzetting van kristallen en aldus pseudocalculi vormen (Hellebuyck en Solanes, 2023).

Zoals aangetoond bij andere diersoorten wordt de vorming van cystische calculi ook bij reptielen beïnvloed door factoren zoals urinaire pH, verminderd urinevolume, en verhoogde concentraties van de betrokken ionen en stoffen. Bij schildpadden werd vastgesteld dat als de urinaire  $\text{pH} < 5$ , er urinezuur aanwezig is in de urine, terwijl urinezuur als uraat of uraatzouten uitgescheiden wordt als de  $\text{pH} > 6,5$  (Shekarriz en Stoller, 2002). Net zoals andere herbivoren, hebben de meeste landschildpadden alkalische urine die de vorming van uraten bespoedigt (Reavill en Schmidt, 2010).

Urolieten bij reptielen zijn meestal samengesteld uit uraatzout dat zich kan binden met calcium en fosfaat (Keller, 2019; Keller et al., 2015). Gemengde urolieten die voornamelijk uit struviet, calciumfosfaat, calciumoxalaat of calciumcarbonaat bestaan, worden slechts sporadisch beschreven bij reptielen (Cerreta et al., 2022; Jacobson et al., 2009; Mathes et al., 2009; Osborne et al., 2009).

## SYMPTOMEN VAN UROLITHIASE BIJ REPTIELEN

Zowel bij in gevangenschap gehouden als in het wild levende reptielen worden cystolieten soms aangetroffen als toevallsbevinding, dikwijls post mortem. In de meeste van deze gevallen kunnen de calculi niet met pathologische afwijkingen geassocieerd worden (Mader, 2006).

De afmeting van urolieten speelt dikwijls een doorslaggevende rol in het ontstaan van symptomen. In het geval van cysto- of cloacolieten treden deze in de meeste gevallen aldus pas op in een chronisch stadium (Keller, 2019; Mader, 2006). Cystische calculi met een kleine afmeting kunnen echter irritatie van de blaaswand veroorzaken. Grotere calculi, vooral als ze een onregelmatig oppervlak hebben, kunnen leiden tot verdikking en hypertrofie van de blaaswand en kunnen zelfs druknecrose (van de wand) veroorzaken. In sommige gevallen wordt hematurie opgemerkt alhoewel dit een relatief ongewone bevinding is bij reptielen (Mader, 2006).

Alhoewel ureterale calculi veel minder frequent voorkomen bij reptielen, kunnen ze net zoals bij conventionele huisdieren ureterale obstructie met hydronefrose, hematurie, anurie en postrenale azotemie veroorzaken (Mader, 2006; Innis en Kincaid, 1999). Dikwijls zijn ureterolieten bij reptielen bilateraal aanwezig, waardoor de prognose erg ongunstig is en deze aandoening geassocieerd wordt met acute, ernstige symptomen en een hoge mortaliteit (Innis en Kincaid, 1999). Cystolieten daarentegen veroorzaken meestal meer chronische en specifieke symptomen, zoals ano-



rexie en apathie (Keller, 2019). Zowel bij hagedissen als schildpadden met cystolithiase kunnen meer suggestieve symptomen, zoals tenesmus, strang- of dysurie, een abnormale houding of diffuse opzetting en zelfs parese of paralyse van de achterpoten ten gevolge van compressie van de bekkenzenuwen of cloacale prolaps opgemerkt worden (Keller, 2019, Mader, 2006). Terwijl urolithiase bij mensen en zoogdieren veelal gepaard gaat met uitgesproken tekenen van pijnsensitisatie, zijn deze tekenen meestal niet aanwezig of niet te herkennen bij reptielen met cystolithiase. Wanneer het om blaasstenen gaat met een erg grote afmeting kan het ruimte-innemend effect van de calculus bij hagedissen gepaard gaan met gelocaliseerde distentie van het caudale coeloom, dyspnee en tenesmus (Mader, 2006). Zowel bij hagedissen met cystolithiase als bij slangen met pseudocalculi in het colon kan er hierdoor eveneens secundair dystokie of fecale impactie optreden met veralgemeende distentie van het caudale coeloom tot gevolg. Bij schildpadden kan distentie van de linker prefemorale fossa optreden indien een grote cystoliet aanwezig is en kan zich bilaterale distentie van de prefemorale fossae voordoen indien er bijkomend urinaire stase optreedt. Bij waterschildpadden kunnen er bovendien afwijkingen in het drijfvermogen optreden ten gevolge van het ruimte-innemend effect van grote cystolieten (Mader, 2006). Bij juveniele schildpadden met cystolithiase is groeiachterstand soms het meest opvallende symptoom (Mader, 2006).

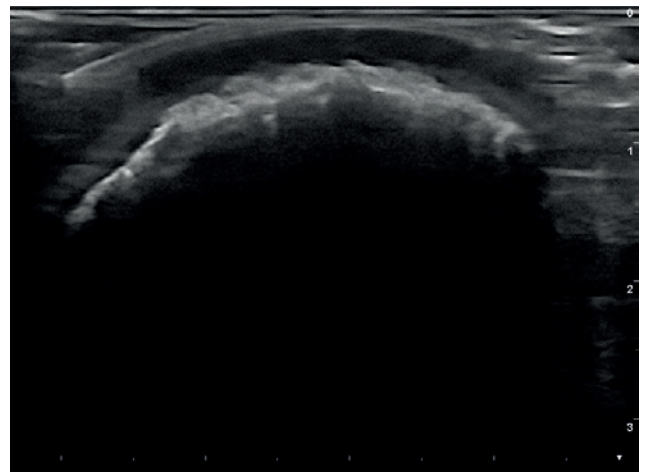
Cloacolieten zijn meestal cystolieten die vanuit de blaas via de urethra of het urodeum in het coprodeum terechtgekomen zijn en daar partiële of complete obstructie veroorzaken. Bij schildpadden en hagedissen kan dit gepaard gaan met onrustig gedrag, tenesmus en de onmogelijkheid om te defeceren en urineren of met het optreden van obstructieve dystokie.

## DIAGNOSTISCHE BENADERING VAN UROLITHIASE BIJ REPTIELEN

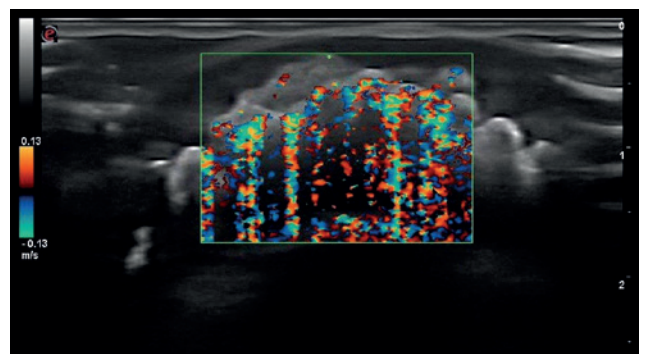
De eerste stap bij de diagnose van urolithiasis is het bevestigen van de aanwezigheid en locatie van de uroliet. Bij hagedissen zijn cystolieten gemakkelijk te detecteren door palpatie van het caudale coeloom en bij schildpadden kunnen grote cystolieten vaak worden gepalpeerd in de linker prefemorale fossa wanneer het dier verticaal geïmponeerd wordt (Keller, 2019; Keller et al., 2015; Mader, 2006). Cloacolieten kunnen afhankelijk van de afmeting van het dier vastgesteld worden via digitale palpatie van (het lumen van) de cloaca of rechtstreeks gevisualiseerd worden na het openspreiden van de cloacale opening.

Medische beeldvorming, vooral radiografisch onderzoek, is van fundamenteel belang bij het bevestigen van de diagnose van urolithiase en laat ook toe om de locatie van de calculi te bepalen, bijvoorbeeld wanneer deze zich in het bekkenkanaal bevinden en aldus niet kunnen gepalpeerd worden of om de aanwezigheid van meerdere urolieten te detecte-

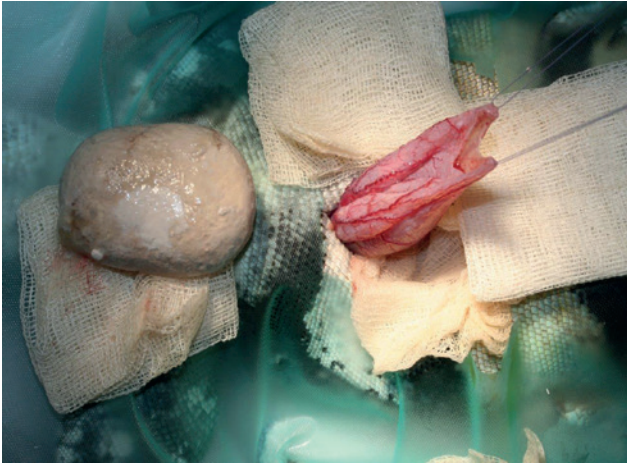
ren. Radiografische beeldvorming laat bovendien de simultane detectie en identificatie toe van primaire oorzaken van urolithiase zoals spinale osteomyelitis en metabole aandoeningen (e.g. N/RSHP) (Solanes et al., 2023; Mader, 2006). Het is steeds aangewezen om minstens een dorsoventrale en laterolaterale radiografische opname te beoordelen. Bij schildpadden kan een craniocaudale opname eveneens waardevol zijn. Radiografisch zijn urolieten, voornamelijk cysto- en cloacolieten, typisch zichtbaar als radiopake, laminaire structuren in het caudale coeloom of het bekkenkanaal (Keller, 2019; Mader, 2006) (Figuur 1 en 2). Radiolucente urolieten komen slechts uitzonderlijk voor bij reptielen (Keller et al., 2015). Echografie en computertomografie kunnen eveneens waardevol zijn voor de primaire diagnose van urolithiasis, evenals voor het diagnosticeren van primaire oorzaken en comorbiditeiten (Keller, 2019). Tijdens echografisch onderzoek zal een cystoliet een ‘akoestische schaduw’ veroorzaken (Figuur 3A). Dit artefact wordt echter ook gezien bij bijvoorbeeld intestinale zandimpactie als gevolg van de accidentele of bewuste opname van bodemsubstraat door schildpadden of hagedissen. Dif-



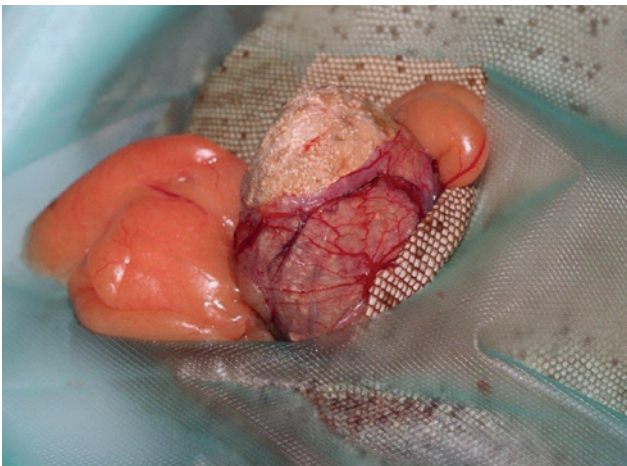
**Figuur 3A.** Distale akoestische schaduw veroorzaakt door een cystoliet tijdens echografische visualisatie met een microconvexe probe via de linker prefemorale fossa bij een sporenschildpad (*Centrochelys sulcata*).



**Figuur 3B.** Dopplerechografie waarbij een karakteristiek twinkling artefact wordt veroorzaakt door een cystoliet bij een Russische vierteenschildpad (*Testudo horsfieldii*) tijdens echografische visualisatie met een microconvexe probe via de linker prefemorale fossa.



**Figuur 4.** Cystotomie via een paramediane coeliotomie bij een witzwarte grondleguaan (*Ctenosaura similis*) ter verwijdering van een cystoliet. De blaas wordt gefixeerd met steunhechtingen.



**Figuur 5.** Verwijdering van een cystoliet via cystotomie bij een gewone chuckwalla (*Sauromales ater*). De grote cystoliet was de oorzaak van obstructieve dystokie.



**Figuur 6.** Verwijdering van een uraatconcrement (pseudocalculus) uit het distale colon van een haakneusslang (*Heterodon nasicus*) door middel van massage van het caudale coeloom.

ferentiatie is mogelijk via dopplerechografie, waarbij een karakteristiek *twinkling* artefact kan vastgesteld worden wanneer het om een cystoliet gaat (Figuur 3B). Dit artefact lijkt op een fonkelend of sprankelend effect en verschijnt als een snel veranderend kleursignaal distaal van het oppervlak van de calculus tijdens kleurendopplerbeeldvorming. Er wordt aangenomen dat het veroorzaakt wordt door het ruwe oppervlak van de steen, dat meerdere kleine reflecties en verstrooiing van het dopplersignaal creëert.

In vergelijking met de waarde van andere diagnostische methoden die vaak worden aangewend bij honden of katten met urolithiasis, lijken plasmabiochemie, hematologie en urineonderzoek geen uitgesproken meerwaarde te hebben voor de diagnose van urolithiasis bij reptielen (Keller, 2019; Keller et al., 2015). Alhoewel in enkele studies onder andere hyperuremie, hyperurikemie en milde leukocytose vastgesteld werden bij schildpadden met cystolithiasis, lijkt er zelden een duidelijk causaal verband aangetoond te kunnen worden tussen vastgestelde afwijkingen en cystolithiasis (Takami et al., 2021; Homer et al., 1998; Keller et al., 2015). Biochemische veranderingen kunnen wel optreden in geval van obstructieve ureterolithiasis (Keller et al., 2015; Mans en Sladky, 2012). Bij urineonderzoek van reptielen dient er rekening gehouden te worden met de fysiologische aanwezigheid van uraatkristallen in de urine (Mader, 2006). Indien primaire of secundaire cystitis vermoed wordt, dient er bij de interpretatie van het microbiologisch onderzoek van een urinestaal rekening mee gehouden te worden dat de urineblaas van reptielen geen steriel milieu vormt (Divers, 2019).

## BEHANDELING VAN UROLITHIASIS BIJ REPTIELEN

Onafhankelijk van de locatie en afmeting van de uroliet is ook bij reptielen een adequate preoperatieve evaluatie van het grootste belang. De primaire oorzaak van urolithiasis dient opgespoord en indien mogelijk geremedieerd te worden om recidieven te vermijden. In de meeste gevallen houdt dit hoofdzakelijk een optimalisatie van het management in (Mader, 2006). In geval van ureterolieten is de prognose meestal erg ongunstig en indien deze bilateraal aanwezig zijn, is behandeling meestal niet aangewezen. Cystolithiasis is over het algemeen een chronische aandoening en behandeling ervan is niet spoedeisend, tenzij de calculus bijvoorbeeld secundaire obstructieve dystokie of obstructie van de urethra of cloaca veroorzaakt. Indien een primaire oorzaak zoals spinale osteomyelitis vastgesteld wordt, is de prognose uiterst ongunstig en is het verwijderen van de cystoliet niet zinvol (Solanes et al., 2023). Medicamenteuze dissolutie van urolieten werd tot op heden niet gedocumenteerd bij reptielen en is waarschijnlijk niet efficiënt. Dit kan in hoofdzaak te wijten zijn aan de samenstelling en grote



afmeting van de calculi op het ogenblik van de initiële diagnose (Mader, 2006).

Chirurgische benadering van cystolithiase bij reptielen hangt zowel af van de soort, de locatie en grootte van de cystoliet (Keller, 2019). Op het tijdstip van de diagnose hebben cystolieten dikwijls een aanzienlijke afmeting bereikt en het is niet uitzonderlijk dat het gewicht van de calculus meer dan 10% van het lichaamsgewicht van het reptiel bedraagt (Mader, 2006). Bij hagedissen kan cystotomie in functie van de verwijdering van een cystoliet routinematig via klassieke ventrale, paramediane of lumbale coeliotomie uitgevoerd worden (Figuur 4 en 5). Bij slangen kunnen uraatconcrementen die zich in het distale colon bevinden, in de meeste gevallen makkelijk verwijderd worden via massage van het distale coeloom (Figuur 6). In de meeste gevallen van cystolithiasis bij schildpadden is cystotomie via transplastroncoeliotomie of een endoscopie-geassisteerde prefemorale benadering vereist om de cystoliet te verwijderen. Deze operationele procedures werden in detail gedocumenteerd bij verschillende schildpaddensoorten (Hellebuyck en Solanes, 2023; Solanes et al., 2023; Divers, 2019; Divers en Wüst, 2019; Keller, 2019; Stahl, 2019; Wüst en Divers, 2019; Nagappan et al., 2018; Keller et al., 2015; Mans en Sladky, 2012; Kwantes, 1992; Wolf et al., 2008). Gepaste analgetische en anesthesische protocollen en antimicrobiële profylaxe dienen toegepast te worden naargelang de betrokken soort en de vastgestelde etiologie en pathologie. Bij schildpadden hangt de keuze van de operationele benadering af van de afmeting van de prefemorale fossa in relatie tot de afmeting van de cystoliet. Aangezien schildpaddensoorten waarbij cystolithiase het meest frequent gediagnosticeerd wordt, vaak een restrictieve fossa hebben, geniet transplastroncoeliotomie meestal de voorkeur (Keller, 2019; Mader, 2006) (Figuur 7 en 8). Relatief kleine cystolieten kunnen rechtstreeks via cystoscopie of via endoscopie-geassisteerde coelioscopie en cystoscopie verwijderd worden en cloacolieten via cloacoscopie of rechtstreekse visualisatie (Keller, 2019; Mans en Sladky, 2012; Mader, 2006). Bij deze benadering is er dikwijls fragmentatie van de calculus noodzakelijk en vooral in geval van cystoscopische verwijdering bestaat het risico dat er restanten van de calculus in de urineblaas achterblijven die potentieel een nidus vormen met recidieven tot gevolg (Mans en Sladky, 2012). Keller et al. (2015) beschreven het gebruik van holmium:yttrium-aluminium-garnet (Ho:Yag) laserlithotripsie bij schildpadden met cystolithiase maar de toepassing van deze techniek bij schildpadden is omslachtig en is niet altijd effectief.

Bij schildpadden met een zacht plastron, zoals bij jonge, opgroeiende schildpadden, en bij pannenkoekschildpadden (*Malacochersus tornieri*) waar dit van nature voorkomt en die restrictieve prefemorale fossa bezitten, wordt gemodificeerde transplastroncoeliotomie uitgevoerd. Bij het toepassen van deze procedure wordt bij pannenkoekschildpadden de coeloomholte



**Figuur 7.** Cystotomie via een transplastroncoeliotomie bij een sporenschildpad (*Centrochelys sulcata*).



**Figuur 8.** Illustratie van de afmeting van een cystoliet na verwijdering via transplastroncoeliotomie gevolgd door cystotomie bij een sporenschildpad (*Centrochelys sulcata*).

benaderd door een middellijnincisie te maken ter hoogte van de naad tussen de abdominale schildsegmenten die horizontaal verlengd wordt ter hoogte van de overgang naar de pectorale en femorale schildnaden (Figuur 9). Bij juveniele schildpadden kan een U-vormige incisie ter hoogte van het caudale plastron gemaakt worden (Figuur 10). Na het uitvoeren van een routinecoeliotomie en cystomie ter verwijdering van de cystoliet, wordt de coelomale membraan routinematig gesloten met een doorlopende hechting, terwijl het plastron wordt gesloten met een continu of enkelvoudig patroon en er bijkomend cyanoacrylaat-adhesieve weefsellijm aangebracht wordt ter hoogte van de incisie.

Alhoewel een relatief hoge mortaliteit beschreven wordt bij schildpadden die operatief behandeld worden voor cystolithiase (Keller et al., 2015), kent de operationele behandeling van cystolithiasis bij reptielen algemeen een erg gunstige prognose ongeacht





**Figuur 9.** Gemodificeerde transplastroncoeliotomie uitgevoerd bij een pannenkoekschildpad (*Malacochersus tornieri*)  
**A.** Incisie van het plastron. **B.** Visualisatie en openen van de coelomale membraan. **C.** De plastronincisie wordt gesloten met een doorlopende hechting. **D.** Postoperatieve opname van het geheeld plastron vier maanden na de ingreep.

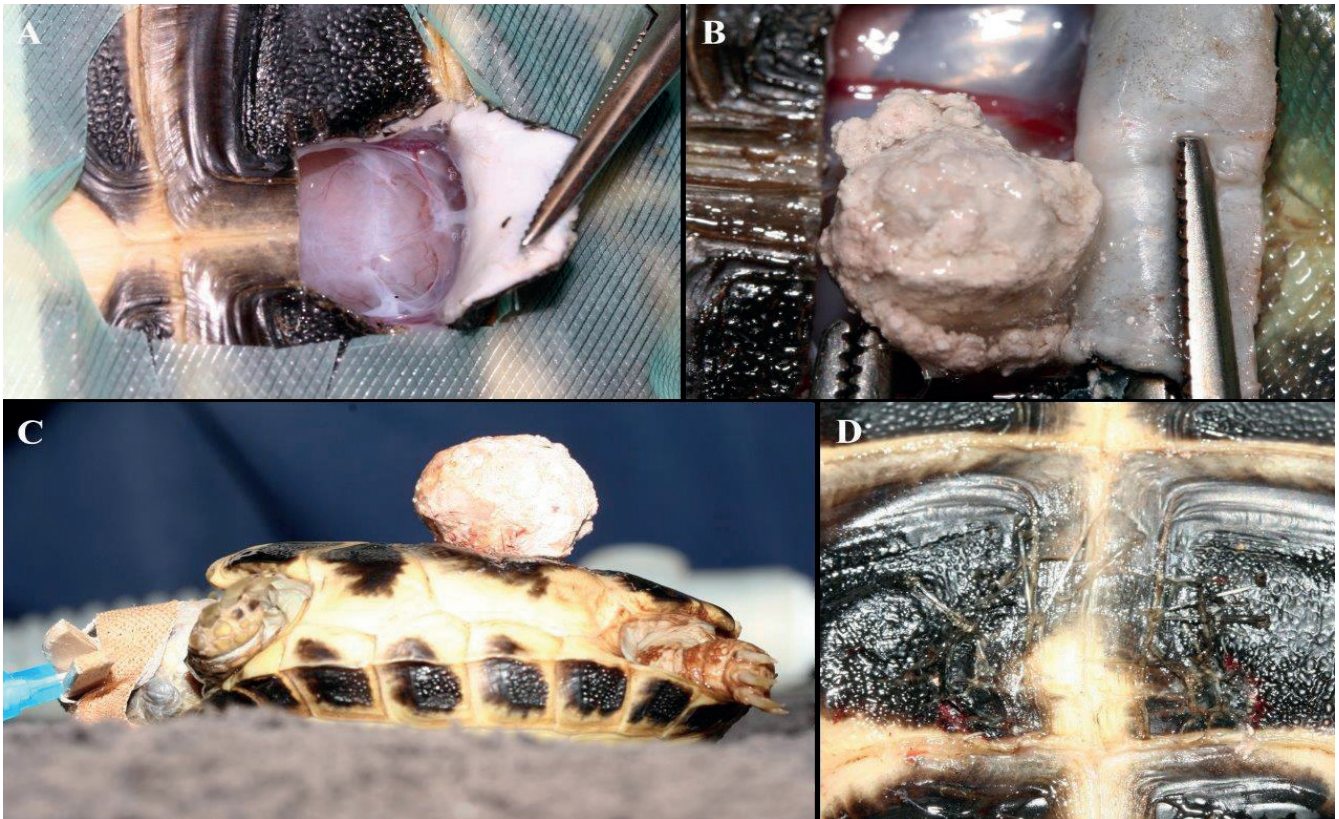
de toegepaste procedure, tenzij er op het moment van de behandeling een ernstige primaire aandoening of complicaties aanwezig zijn.

## CONCLUSIE

Vooraf cysto- en cloacolithiase is een vaak voorkomende aandoening bij in gevangenschap gehouden hagedissen en schildpadden en er bestaan uitgesproken soortpredisposities. Vooral de toepassing van een suboptimaal management vormt een belangrijke predisponerende factor voor de ontwikkeling van urolithiase bij reptielen, maar ook bij in het wild levende schildpadden werd cystolithiase reeds gedocumenteerd. Het vaststellen van cystolithiase bij reptielen

kan een toevallsbevinding zijn en meestal gaat het om een chronische aandoening. Eens de cysto- of cloacaliet een aanzienlijke afmeting bereikt, kunnen symptomen optreden. Deze zijn meestal specifiek, tenzij de calculus obstructie veroorzaakt. De diagnose van cystolithiase berust voornamelijk op een gedegen klinisch en radiografisch onderzoek. Eens de locatie en afmeting van de calculus bepaald werden, dringt een operatieve behandeling zich meestal op. Naargelang de betrokken soort en afmeting van de calculus kan er gekozen worden voor coeliotomie of een endoscopische benadering. De prognose van deze behandeling is in de meeste gevallen uitstekend, tenzij er een ernstige primaire oorzaak of fatale secundaire complicaties aanwezig zijn op het ogenblik van de initiële diagnose.





**Figuur 10.** Verwijdering van een cystoliet bij een juveniele Russische vierteenschildpad (*Testudo horsfieldii*). **A.** U-vormige incisie van het caudale plastron met visualisatie van de coelomale membraan die de urineblaas bedekt. **B.** Verwijderen van de cystoliet en uraatconcrementen via cystotomie. **C.** Illustratie van de afmeting van een operatief verwijderde cystoliet ten opzichte van de lichaamsgrootte van een juveniele Russische vierteenschildpad. **D.** Sluiting van de plastronincisie met enkelvoudige hechtingen die nadien bedekt wordt met cyanoacrylaat adhesieve weefsellijm.

## REFERENTIES

- Amat, A.C., Gabriel, B., Chee, N.W. (2012). Cystic calculi removal in African spurred tortoise (*Geochelone sulcata*) using transplastron coeliotomy. *Veterinary World* 5, 489-492.
- Cerreta, A.J., Keller, K.A., Gardhouse, S.M., Lulich, J.P., Sanchez-Migallon Guzman, D. (2022). Clinicopathologic findings and urolith composition for green iguanas (*Iguana iguana*) with urolithiasis: 21 cases and 132 stones (1996-2020). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 260, 1216-1221.
- Colon, V., Di Girolamo, N. (2024). Prevalence of urolithiasis in client-owned chelonians and its association with selected housing and dietary parameters in African spurred tortoises (*Centrochelys sulcata*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 34, 145-149.
- Divers, S.J. (2019). Urinary tract. In: Divers S.J., Stahl S.J. (editors). *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. St Louis Elsevier Inc., 1071-1076.
- Divers, S.J., Wüst, E. (2019). Chelonian transplastron coeliotomy. In: Divers S.J., Stahl S.J. (editors). *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. St Louis Elsevier Inc., 1058-1062.
- Hellebuyck, T., Solanes Vilanova, F. (2022). The use of prefemoral endoscope-assisted surgery and transplastron coeliotomy in chelonian reproductive disorders. *Animals* 12, 3439.
- Homer, B.L., Berry, K.H., Brown, M.B., Ellis, G., Jacobson, E.R. (1998). Pathology of diseases in wild desert tortoises from California. *Journal of Wildlife Diseases* 34, 508-523.
- Innis, C.J., Kincaid, A.L. (1999). Bilateral calcium phosphate ureteroliths and spirorchid trematode infection in a red-eared slider turtle, *Trachemys scripta elegans*, with a review of the pathology of spirorchiasis. *Bulletin of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians* 9, 32-35.
- Jacobson, E.R., Berry, K.H., Stacy, B., Huzella, L.M., Kalasinsky, V.F., Fleetwood, M.L., Mense, M.G. (2009). Oxalosis in wild desert tortoises, *Gopherus agassizii*. *Journal of Wildlife Diseases* 45, 982-988.
- Keller, K.A. (2019). Urolithiasis (cystic calculi and cloacal uroliths). In: Divers S.J., Stahl S.J. (editors). *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. St Louis Elsevier Inc., 1173-1176.
- Keller, K.A., Hawkins, M.G., Scott Weber, E.P., Ruby, A.L., Guzman, D.S.M., Westropp, J.L. (2015). Diagnosis and treatment of urolithiasis in client-owned chelonians: 40 cases (1987-2012). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 247, 650-658.
- Kwantes, L.J. (1992). Surgical correction of cystic urolithiasis in an iguana. *Canadian Veterinary Journal* 33, 752-753.
- Mader, D.R. (2006). Calculi: urinary. In: Mader D.R. (editor). *Reptile Medicine and Surgery*. St Louis Elsevier Inc., 763-671.
- Mans, C., Sladky, K.K. (2012). Endoscopically guided re-

- removal of cloacal calculi in three African spurred tortoises (*Geochelone sulcata*). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 240, 869-875.
- Mathes, K., Günther, P., Kowaleski, N., Fehr, M. (2009). Firmly embedded urolithiasis in the pelvic area of a mediterranean spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*). *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere* 37, 427-432.
- Nagappan Govendan, P., Made Ananthawijaya, I.G., Gede Jayawarditha, A.A. (2018). Case report : urolith surgical removal in a green Iguana (*Iguana iguana*). *Jurnal Veteriner* 19, 143.
- Osborne, C.A., Albasan H., Lulich, J.P., Nwaokorie, E., Koehler, L.A., Ulrich, L.K. (2009). Quantitative analysis of 4468 uroliths retrieved from farm animals, exotic species, and wildlife submitted to the Minnesota Urolith Center: 1981 to 2007. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* 39, 65-78.
- Reavill, D.R., Schmidt, R.E. (2010). Urinary tract diseases of reptiles. *Journal of Exotic Pet Medicine* 19, 280-289.
- Sahner, A., Geyer, B., Selzer, D. (2007). Umfangreicher Blasenstein bei einem Chuckwalla (*Sauromalus obesus*). *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere* 35, 219-221.
- Simard, J., Marschang, R.E., Leineweber, C., Hellebuyck, T. (2020). Prevalence of inclusion body disease and associated comorbidity in captive collections of boid and pythonid snakes in Belgium. *Plos one* 15, e0229667.
- Solanes Vilanova, F., Van Caelenberg, A., Pontes, J., Hellebuyck, T. (2023). Vertebral Osteomyelitis in a black spiny-tailed iguana (*Ctenosaura similis*) and a red tegu (*Salvator rufescens*). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 33, 101-108.
- Stahl, S.J. (2019). Lizard coeliotomy. In: Divers S.J., Stahl S.J. (editors). *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. St Louis Elsevier Inc., 1047-1053.
- Takami, Y., Koieyama, H., Sasaki, N., Takumi, I., Takaki, Y., Takihiro, W., Miwa, Y. (2021). Survey of tortoises with urolithiasis in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science* 83, 435-440.
- Wüst, E., Divers, S.J. (2019). Chelonian prefomoral coeliotomy. In: Divers S.J., Stahl S.J. (editors). *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. St Louis Elsevier Inc., 1054-1056.
- Wolf, K.N., Troan, B.V., DeVoe, R. (2008). Chronic urolithiasis and subsequent cystectomy in a San Esteban Island Chuckwalla, *Sauromalus varius*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 18, 106-112.



© 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/>).



---

## UDDER CLEFT-DERMATITIS

---

### VRAAG

**“Hoe ver staat het onderzoek naar udder cleft-dermatitis bij melkvee? Het komt vaak voor en geneest moeilijk. Kunnen er preventieve maatregelen genomen worden? Is er een mogelijke behandeling?”**

### ANTWOORD

Udder cleft-dermatitis (UCD) is een huidandoening bij melkvee die wereldwijd voorkomt en zich manifesteert tussen twee uierhelften en op de overgang van het abdomen naar de uier. Een breed scala aan risicofactoren op het niveau van het bedrijf (zoals het gebruik van rubberen matten, te kleine ligboxen en het gebruik van voetbaden) en de koe (zoals pariteit  $\geq 3$ , lactatieparameters en uierconformatie), dragen bij tot de multifactoriële ontwikkeling van UCD. Eigenschappen zoals een diepe uier, grote voorwartieren, losse voorste uieraanhechting en een scherpe hoek tussen uier en buikwand verhogen het risico op het voorkomen van UCD. Het toenemen van de DIM (*days in milk*), een hoge melkgift, ECM (*energy-corrected milk*) ( $>32$  kg) en melk-ureumgehaltenes  $\leq 2$  of  $\geq 6$  mM/L zijn eveneens potentiële risicofactoren (Ekman et al., 2018; Persson Waller et al., 2014).

In de afgelopen jaren zijn er verschillende studies verricht naar de veranderingen in het microbioom, de risicofactoren en prevalentie van UCD. Recent werden in een aantal *omic*-studies belangrijke eigenschappen aangetoond van het moleculaire landschap van UCD. Zowel bij milde als ernstige UCD-letsels is er sprake van een sterk verstoord huidmicrobiom (Vermeersch et al., 2024ab; Ekman et al., 2020). Opportunistische kiemen kunnen toeslaan en goedaardige commensale bacteriën worden verdrongen. Concreet wordt ervan uitgegaan dat er door de hierboven geschetste omstandigheden ter hoogte van de uier, een anaeroob milieu wordt gecreëerd dat zorgt voor een dysbiose en een positieve selectie van opportunistische bacteriën, wat tezamen met de letsels die ontstaan door het tegen elkaar schuren en wrijven van de huid, wordt aanzien als belangrijkste uitlokkende factor van deze huidandoening. In UCD-letsels is een verhoogde proportie van bacteriën zoals *Corynebacterium* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Brevibacterium luteolum*, *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Anaerococcus* spp., *Porphyromonas* spp. en *Prevotella* spp. aanwezig (Vermeersch et al., 2024a; Sorge et al., 2019). Op de gezonde huid zijn *Bifidobacterium* spp. talrijker aanwezig (Vermeersch et al., 2024a; Ekman

et al., 2020a). Mastitis-typerende kiemen worden als onbelangrijk aanzien bij het ontstaan van milde of ernstige UCD-letsels (Vermeersch et al., 2024a; Ekman et al., 2020a). Ondanks de aanwezigheid van een kleine hoeveelheid treponemen (i. e. *Treponema pedis*, *T. denticola* en *T. putidum*) in ernstige UCD-letsels, kon het verband tussen treponemen en UCD wetenschappelijk nog niet aangetoond worden (Vermeersch et al., 2024ab; Ekman et al., 2020; Sorge et al., 2019; Persson-Waller et al., 2014; Evans et al., 2010). De aanwezigheid van *Treponema* spp. kan te wijten zijn aan overdracht via digitale dermatitisletsels, een lokale infectie of via het milieu. Uit onderzoek blijkt dat de prevalentie van digitale dermatitis in de pathogenese van UCD zeer laag is, waardoor het moeilijk is om hieruit een definitieve conclusie te trekken (Persson Waller et al., 2014; Hansen en Nissen, 2010). In de literatuur wordt de link tussen schurftmijt en UCD weerlegd (Sorge et al., 2019; Warnick et al., 2002). In een studie van Vermeersch et al. (2024a) werd bij ernstige UCD-letsels eveneens een verschuiving in virulentiefactoren en antibioticaresistentiegenen vastgesteld, wat vermoedelijk bijdraagt tot het creëren van een slecht helende huidwonde. Er is ook sprake van een chronische, persistente ontstekingsreactie die een abnormaal patroon vertoont en gepaard gaat met een gebrekkige wondheling en een verstoorde huidbarrière (Vermeersch et al., 2023).

Tot op heden is er nog geen consensus aangaande een effectieve preventie- en behandelingsstrategie. Het staat vast dat het genezingsproces van (vooral ernstige) UCD-letsels lang kan aanslepen (Bouma et al., 2016). Volgens Ekman et al. (2020b) kan het tot wel 21 weken duren vooraleer de letsels genezen zijn, waarvan zich bijna de helft na de genezing opnieuw manifesteert. Een vroegtijdige detectie van UCD is essentieel gezien de slechte wondheling en mogelijke secundaire infecties (Turner et al., 2017). De prevalentie van UCD in een kudde wordt vaak onderschat (Ekman et al., 2018).

Risicoanalyses bieden inzicht in enkele korte- en langetermijnsingrepen die kunnen helpen om UCD te voorkomen. Onder meer kwalitatieve huisvesting en fokprogramma's die optimale been- en uiereigenschappen vooropstellen, kunnen mogelijk helpen bij de preventie van UCD (Ekman et al., 2020b). Hoewel een hoge melkgift cruciaal is voor een melkveebedrijf, gaat dit vaak gepaard met ongewenste gevolgen zoals een gedaalde duurzaamheid, vruchtbaarheids- en andere gezondheidsproblemen (Brito et al., 2021). Voetbaden zijn van onmiskenbaar belang voor de klauwgezondheid op het bedrijf, maar vormen tegelijkertijd een risicofactor voor het ontwikkelen van

UCD (Olde Riekerink et al., 2014).

Het gebruik van een spray met gechelateerd koper en zink wordt in de literatuur met wisselende resultaten beschreven. Ekman et al. (2021) vonden geen positieve impact op de wondheling, terwijl Lammers et al. (2017) een positief effect rapporteerden. Zink stimuleert de regeneratie van de huid terwijl koper mogelijke secundaire huidinfecties elimineert. In een studie van van Weren et al. (2018) bleek het gebruik van een barrièrefilm drie keer per week niet succesvol bij milde letsels. Een significante verbetering van ernstige letsels werd in die studie gezien bij het gebruik van 5-10 gram enzyme-alginogel (BoTop, Flen Health, België). De behandelde wonden hadden 3,4 keer meer kans op genezing dan de onbehandelde groep binnen een periode van twaalf weken (van Weren et al., 2018). Dit kan verklaard worden door de antimicrobiële, debriderende en absorberende eigenschappen van het product (Strohal et al., 2017; Cooper, 2013). Biofilmvorming wordt vermeden en zelfs gehinhibeerd dankzij het enzymatisch complex aanwezig in dat product (Cooper, 2013).

In de humane geneeskunde bracht een soortgelijk product een significante verbetering teweeg in de snelheid van wondheling en in de ervaring van pijn bij beenulcers en brandwonden (Kyriopoulos et al., 2010; Lacarrubba et al., 2005). Anderzijds worden vaak topicale anti-inflammatoire producten aanbevolen die op de markt zijn voor de behandeling van huidaandoeningen zoals intertrigo en atopische dermatitis bij de hond (Lourenço et al., 2016). Het is uitermate belangrijk om een steriele wondomgeving te creëren, infectie te voorkomen en tegelijkertijd de huidregeneratie te bevorderen. Ernstige letsels hebben een hogere kans tot genezing wanneer ze gedebrideerd worden (Ekman et al., 2021).

## REFERENTIES

- Bouma, A., Nielen, M., van Soest, E., Sietsma, S., van den Broek, J., Dijkstra, T., van Weren, T., (2016). Longitudinal study of udder cleft dermatitis in 5 Dutch dairy cattle herds. *Journal of Dairy Science* 99, 4487-4495.
- Brito, L., Bedere, N., Douhard, F., Oliveira, H.R., Arnal, M., Peñagaricano, F., Schinckel, A.P., Baes, C.F., Miglior, F., (2021). Review: Genetic selection of high-yielding dairy cattle toward sustainable farming systems in a rapidly changing world. *Animal* 15, 100292.
- Cooper, R., (2013). Inhibition of biofilms by glucose oxidase, lactoperoxidase and guaiacol: the active antibacterial component in an enzyme alginogel. *International Wound Journal* 10, 630-637.
- Ekman, L., Bagge, E., Nyman, A., Persson Waller, K., Pringle, M., Segerman, B., (2020). A shotgun metagenomic investigation of the microbiota of udder cleft dermatitis in comparison to healthy skin in dairy cows. *PLoS ONE* 15, e0242880.
- Ekman, L., Bagge, E., Nyman, A., Persson Waller, K., Pringle, M., Segerman, B., (2020). A shotgun metagenomic investigation of the microbiota of udder cleft dermatitis in comparison to healthy skin in dairy cows. *PLoS ONE* 15, e0242880.
- Ekman, L., Nyman, A., Persson Waller, K., (2021). Recovery from udder cleft dermatitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 104, 3532-3546.
- Ekman, L., Nyman, A.-K., Landin, H., Magnusson, U., Waller, K.P., (2018). Mild and severe udder cleft dermatitis-Prevalence and risk factors in Swedish dairy herds. *Journal of Dairy Science* 101, 556-571.
- Ekman, L., Nyman, A.-K., Persson Waller, K., (2020). Incidence of udder cleft dermatitis (UCD) in dairy cows and risk factors for transitions to UCD. *Journal of Dairy Science* 103, 11736-11749.
- Evans, N., Timofte, D., Carter, S.D., Brown, J.M., Scholey, R., Read, D.H., Blowey, R.W., (2010). Association of treponemes with bovine ulcerative mammary dermatitis. *Veterinary Record* 166, 532-533.
- Hansen, M.J., Nissen, M., (2010). A clinical study of udder cleft dermatitis on a Danish dairy farm. (MS Thesis). *Department of Large Animal Sciences, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark.*
- Kyriopoulos, E., Van den Plas, D., Papadopoulos, O., Papadopoulos, S., Zapandioti, P., Tsoutsos, D., (2010). The use of a new wound alginogel for the treatment of partial-thickness hand burns. *Wounds* 22, 161-164.
- Lacarrubba, F., Patania, L., Micali, G., (2005). Open-label evaluation of an alginates hydrogel in the treatment of leg ulcers. *Italian Journal of Dermatology and Venereology* 140, 83-88.
- Lammers, G., Vulders, C., van Berkel, R., (2017). Chelated copper and zinc to combat udder cleft dermatitis. *International Dairy Topics* 16, 29-30.
- Lourenço, A.M., Schmidt, V., São Braz, B., Nóbrega, D., Nunes, T., Duarte-Correia, J.H., Matias, D., Maruhashi, E., Rème, C.A., Nuttall, T., (2016). Efficacy of proactive long-term maintenance therapy of canine atopic dermatitis with 0.0584% hydrocortisone aceponate spray: a double-blind placebo controlled pilot study. *Veterinary Dermatology* 27, 88-92e25.
- Olde Riekerink, R.G.M., van Amersfort, K., Sampimon, O.C., Hooijer, G.A., Lam, T.J.G.M., (2014). Short communication: prevalence, risk factors, and a field scoring system for udder cleft dermatitis in Dutch dairy herds. *Journal of Dairy Science* 97, 5007-5011.
- Persson Waller, K., Bengtsson, M., Nyman, A.-K., (2014). Prevalence and risk factors for udder cleft dermatitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 97, 310-318.
- Sorge, U., Binger, E., Schefers, J., Plummer, P., (2019). Short communication: Metagenomic evaluation of skin biopsies of udder sores in dairy cows. *Journal of Dairy Sciences* 102, 11470-11475.
- Strohal, R., Assenheimer, B., Augustin, M., Hämmerle, G., Läuchli, S., Pundt, B., Stern, G., Storck, M., Ulrich, C., (2017). Wundbehandlung mit enzym-alginogelen. *Der Hautarzt* 68, 36-42.
- Turner, A., Wood, S., Millar, M., (2017). Two cases of embolic pneumonia associated with udder cleft dermatitis in dairy cattle from the same farm. *Veterinary Record*, e000453.
- van Weren, T., Wilmink, J., Sietsma, S., van den Broek, J., Nielen, M., (2018). A randomized clinical trial of topical treatments for mild and severe udder cleft dermatitis in

- Dutch dairy cows. *Journal of Dairy Science* 101, 8259-8268.
- Vermeersch, A.-S., Ali, M., Gansemans, Y., Van Nieuwerburgh, F., Ducatelle, R., Geldhof, P., Deforce, D., Callens, J., Opsomer, G., (2024a). An in-depth investigation of the microbiota and its virulence factors associated with severe udder cleft dermatitis lesions. *Journal of Dairy Science* 107, 3219-3234.
- Vermeersch, A.-S., Ali, M., Gansemans, Y., Van Nieuwerburgh, F., Geldhof, P., Ducatelle, R., Deforce, D., Callens, J., Opsomer, G., (2023). Severe udder cleft dermatitis lesion transcriptomics points to an impaired skin barrier, defective wound repair and a dysregulated inflammatory response as key elements in the pathogenesis. *PLoS ONE* 18, e0288347.
- Vermeersch, A.-S., Van Nieuwerburgh, F., Gansemans, Y., Ali, M., Ducatelle, R., Geldhof, P., Deforce, D., Callens, J., Opsomer, G., (2024b). Multi-omics analysis elucidates the host-microbiome interplay in severe udder cleft dermatitis lesions in dairy cows. *Journal of Dairy Science Communications*. In press. aanpassen indien status gewijzigd
- Warnick, L., Nydam, D., Maciel, A., Guard, C., Wade, S., (2002). Udder cleft dermatitis and sarcoptic mange in a dairy herd. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 221, 273-276.

Dr. A.-S. Vermeersch  
Faculteit Farmaceutische Wetenschappen, Universiteit Gent,  
Ottergemsesteenweg 460, 9000 Gent  
Prof. dr. G. Opsomer  
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,  
Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke

## Oproep

### Vragen uit de dierenartsenpraktijk

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

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





## EXAMENUITSLAGEN EERSTE EN TWEEDE ZITTIJD 2023-2024

### Behaalden de academische graad van dierenarts

#### Optie gezelschapsdieren

Allary Annelies, Andries Margot, Ariens Sofie, Asselberg Elke, Bakali Ambrine, Blochousse Lore, Boelhouwer Hanna, Boer Anna, Boils Marie-Sylvie, Borghys Thomas, Bosmans Max, Bossuyt Fleur, Brans Sebastiaan, Burema Yara, Buytaert Emily, Caals Aline, Casier Caitlin, Casteleyn Ciska, Caudron Lauren, Charlier Marguerite, Christiaensen Saba, Coolen Kimberly, Danschotter Larissa, De Beir Anouk, de Jong Laura, de Melker Bente, De Meulemeester Nicolas, De Neef Amber, den Haan Sanne, De Prins Ellen, Descamps Elise, De Schepper Margo, De Tender Merel, de Vries Valérie, Dewaele Katrijn, De Wilde Marise, Dewulf Annabelle, D'haenens Lynn, Doyen Alexia, Du Kim Daphne Trinh, Faes Jill, Feijen Anne, Feys Janaika, Florus Yoni, Folie Marion, Fontanesi Lisa, Frank Rick, Gavard Livia, Geenens Clara, Gerlach Isabel, Gielen Stéphanie, Govers Roy, Guillaume Chloé, Haesebrouck Tine, Haesen Shauni, Hannaart Linda, Hellebaut Laura, Hellemans Camille, Hemmeryckx Carla, Hendriks Emilie, Hubart Nastassia, Hurkens Kehly, Ingels Emmelien, Jacobs Meagan, Jager Annedette, Jansen Anke, Keyaerts Clarisse, Kipp Stephan, Kippersluis Tim, Kittler Michael, Kolsters Ilse, Krekels Charlie, Kuiper Myrthe, Lampe Sophie, Landrieu Yalanka, Laporte Astrid, Lievaart Jaimy, Lijnen Loes, Lina Fay, Mackloet Maria, Maes Maxime, Martens Benjamin, Meeuws Yana, Moons Astrid, Moors Jannes, Nijhof Maura, Noben Charlotte, Oostdam Sensi, Oprins Jacob, Pelfrene Jana, Persoons Lotte, Platteau Rag, Poels Frederik, Poels Yaël, Polderman Kaylee, Roelands Renske, Roggen Nimue, Roose Sofie, Rotthier Marieke, Rubbrecht Carolyn, Ruta Aleksandra, Schellekens Mayke, Schellens Thäis, Schuurmans Eline, Shao ChenYi, Smelt Amber, Soete Arwen, Soete Lies, Speelberg Aleida Helena, Spiessens Emma, Stemkens Thom, Struyf Maurine, ten Broeke Loek, ter Wisscha Mitchell, Timmerman Bas, Vanbosterhaut Silke, Van Crombrugge Amber, Van Damme Margot, van de Laar Océa, Vandenberghe Emma, Van den Bremt Amber, Van den Kerchove Emma, van der Heiden Francis, van der Maaten Nicole Annique, van der Meer Bauke, van der Pasch Ayla, Van der Plas Femke, van der Sar Ezra, Vandierendonck Veronique, Van Doren Jasper, van Eijk Bibi, Van genechten Anouk, Vangoel Oliver, van Gulik Remi, Van Hellemond Lotte, Van Herreweghe Lidewij, Van Hoof Kyan, Van Isterdael Reinout, van Look Britney, van Nerven Anouk, Vanneste Achilles, van Oosten Melanie, van Poeteren Britt, Van Poucke Louise, Van puyvelde Matthieu, Van ranst Thomas, Van Renterghem Meriban, Velthof Marlon, Vercoelen Senne, Vermaere Fien, Verschoren Joeri, Voeten Romilde, Volckaert Louise, Wagenaar Claudia, Wentzel Lara, Withagen Lisa

#### Optie herkauwers

Becker Shirley, Bergman Lilian, Coene Camille, Coppens Hannah, Decraemer Nathan, Defreyne Simon, Degroote Sara, de Kok Jacoba Cornelia, De Meulenaer Bavo, Desart Sam, De Schutter Eva, De Smedt Eline, De Wyngaert Stijn, Frericks Joyce, Gils Vincent, Hofstede Naomi, Koenis Jet, Labarriere Alyssa, Leenders Nele, Lepoutre Laura, Mensonides Pien, Merckx Mattijs, Nijhuis Anne, Paul Julia, Porrez Paulien, Reker Sylvana, Roman Ophélie, Rombaut Linde, Santema Merle Mo, Theys Adam, 't Manneltje Lisa, van der Beek Peter, Van Hoever Alec, Van Mol Lau, Van Ryckeghem Emma, van Wezel Reintje, Voortman Marina

**Optie varken, pluimvee en konijn**

Coessens Margo, Struys Alexandra

**Optie paard**

Avermate Karlijn, Breitenstein Eléonore, Bury Xena, Clerbaux Estelle, Colpaert Delphine, Daenen Sien, Dankers Emma, Debets Anneloes, de Klerk Wolters Kirsten, Delhem Julie, De Loor Laurence, de Ruitter Anne, De Scheerder Laura, Detailleur Esther, Detremmerie Laura, de Vogel Suzanne, De Vos Esther, De Vriendt Stephanie, de Vries Myrte, Dierckx Mathias, Dudok van Heel Lianne, Dumon Sofie, Eijssen Joanna, Flion Ella, Franken Yvette, Galle Luke, Geerinckx Eileen, Goût Rébecca, Haesendonck Amber, Hamerlinck Jeroen, Heynderickx Immanuel, Hosewol Joyce, Jakma Iris, Konings Chloé, Leunissen Kelly, Maene Camille, Marin Britt, Mouws Raf, Ongena Laure, Orgers Marit, Pauwels Yanice, Peeters Amber, Ramaekers Sara, Rebry Marie-Julie, Rens Iris, Rensen Maaïke, Rosiers Stijn, Sanders Patrik, Schryvers Fien, Sonnemans Myrthe, Stegen Stefanie, Tas Annelien, Van den Bossche Lien, Van den Brande Kiala, van der Molen Adriana, van der Neut Iris, Vandionant Hélène, Van Goethem Nicky, Van Holder Pieter-Jan, Vanhoutte Laura, Van Kerckhove Hannah, van Leiden Hilde, van Tuijl Cassandra, van Wijk Merel, Vergauwen Ellen, Vervaeet Caro, Vissers Helena, Vogelsang Asja, Wevers Merel, Wouters Selina

**Optie onderzoek**

Azzouza Pauline, De Bondt Flore, de Meij Emma, Heirman Lennert, Hendrickx Fleur, Kaviani Camille, Rosschaert Stijn, Van Denberghe Emma

## Distemper



Figuur 1. Een advertentie in het *Vlaamsch Diergeneeskundig Tijdschrift* (mei 1939).

Hondenziekte bestaat vermoedelijk al sinds het begin van de domesticatie van de hond. In Europa werd deze ziekte voor het eerst in 1761 in Spanje vermeld. Edward Jenner (1749-1823), de ontdekker van de koepokentstof, beschreef de ziekte in 1809. Voor pokken was hij erin geslaagd na enting op de huid de ziekte te induceren zonder de interne organen al te zeer aan te tasten. Dit vormde de basis van zijn profylaxe. Door het succes van deze enting verkeerde men een tijdlang in de mening dat een enting met vaccinia ook bruikbaar zou zijn voor runderpest en andere ziekten. Dit bleek niet het geval te zijn. Jenner entte honden met vaccinia om ze tegen hondenziekte te beschermen, maar moest zijn pogingen opgeven.

In de 19<sup>de</sup> eeuw probeerde men neusslijm van zieke honden bij gezonde dieren te enten. In 1844 werd dit inoculum op de lippen en het tandvlees van de honden

gewreven. Omdat dit dier weinig economische waarde had bleven deze proeven beperkt. Volgens sommigen was de ziekte na enting even erg als bij natuurlijke infectie. Het virus van *canine distemper* werd in 1903 door Henri Carré (1870-1938) gedetecteerd, vijf jaar nadat het eerste dierlijk virus, dat van mond-en-klawwzeer, ontdekt werd en elf jaar nadat het bestaan van filtreerbare virussen, pathogenen kleiner dan bacteriën, aangetoond werd.

De ziekte wordt aerogeen overgedragen: er is geen direct contact nodig. Zoals bekend tast het virus het respiratoir en digestief stelsel aan met koorts en leukopenie. Na beschadiging door het virus van de epitheelcellen, met catarrale bronchopneumonie en hemorragische enteritis als gevolg, kunnen secundaire bacteriële besmettingen optreden. Dit is onder meer te wijten aan immunosuppressie en gaat gepaard met leukocytose. Typisch voor hondenziekte zijn de intranucleaire en intracytoplasmatische inclusielichaampjes in de epitheelcellen van het ademhalings- en maagdarmstelsel, de blaas en het nierbekken. Na een ogenschijnlijk herstel volgt de aantasting van het centrale zenuwstelsel met een nonpurulente meningo-encefalomyelitis en uitgebreide demyelinisatie. Lokalisatie van het virus in de hersenen veroorzaakt een convulsief syndroom, met myoclonieën en epileptische convulsies die tot de dood leiden.



Bij transfer van hyperimmuun serum, of de globulinefractie ervan, wordt een passieve immuniteit opgewekt die een beperkte tijd aanhoudt (Figuur 1).

Ook met dood virus, dat zich niet kan vermeerderen, treedt een tijdelijke immuniteit op. Geïnactiveerde vaccins werden intussen wegens gebrek aan werkzaamheid verlaten. Hondenziekte, runderpest en mazelen zijn immunologisch verwant: ze worden alle drie door een RNA-virus van het type Morbillivirus veroorzaakt. Runderpest is door vaccinatie en eradicatie sinds 2011 uitgeroeid. Tegen mazelen en hondenziekte worden sterk afgezwakte levende virusvaccins gebruikt.

In 1948 werd het virus, na een passage op fretten, op geëmbryoneerde kippeneieren gekweekt, met een verdere daling van de virulentie bij hond en fret. In 1952 werd het virus op de chorio-allantoïsmembraan van het kippenembryo geadapteerd. In de jaren 1950 tenslotte werden weefselcultuurvaccins ontwikkeld op hondencellen.

In de eerste levensfase zijn de jonge honden, zolang de maternale immuniteit aanhoudt, onvatbaar voor vaccinatie met een levende verzwakte entstof. Na herstel van de ziekte is er levenslange immuniteit. Gevaccineerde honden kunnen door contact met het wild virus hun immuniteit op peil houden. Als ze niet in aanraking komen met soortgenoten is hervaccinatie noodzakelijk (Figuur 2).

Deze vreselijke ziekte werd vooral verspreid door de handel in niet of onvoldoende immune jonge hondjes. Tegenover het buitengewoon infectieus karakter, het verschrikkelijk verloop en de onmacht van de diergeneeskundige therapie staat de effectiviteit van de vaccinatie. Twijfelaars en antivaxers krijgen hiermee eens te meer lik op stuk.



**Figuur 2.** Een vaccindoosje uit de museumcollectie *Diergeneeskundig Verleden*.

### Geraadpleegde bronnen

*Canine Medicine*, 1953, p 480-487; *Canine Medicine*, 1968, p 111-122; C. Huygelen, VDT 1997/2, p 50-60; C. Huygelen, Argos 1997/16, p 237-240; L. Devriese, Argos 2021/64, p 121-130; L. Devriese, VDT 2022/5, p 242-243; *The Merck Veterinary Manual*, 1973, p 311-313; de cursussen van Prof. A. Devos, J. Hoorens en M. Pensaert en het internet.

Johan De Smet



**ACVETMED**  
**ACADEMIE VOOR**  
**DIERGEENEESKUNDE**  
FACULTEIT  
DIERGEENEESKUNDE

**NU ONLINE!**

**Nieuw programma**  
**Academie voor**  
**Diergeneeskunde**  
**2024-2025**



**UNIVERSITEIT**  
**GENT**



[www.instagram.com/acvetmed\\_ugent](https://www.instagram.com/acvetmed_ugent)



[www.facebook.com/acvetmed](https://www.facebook.com/acvetmed)



[acvetmed.ugent.be](https://acvetmed.ugent.be)





Sint Truidersteenweg 193  
3700 Tongeren  
info@savab.be

## Fase 2 van de overgang naar nieuwe voorschriften van start

0 XXXXX XXXXXXXX Naam Voornaam Adres GSM e-mail		<b>DIERGENEESKUNDIG VOORSCHRIFT</b>		Datum van afgifte : ...../...../..... Geldig tot : ...../...../..... <i>Geldigheid van het voorschrift voor antimicrobiële geneesmiddelen: maximaal 5 dagen (alle diersoorten), voor andere geneesmiddelen: maximaal 15 dagen voor voedselproducerende dieren.</i>					
Bedrijfsbegeleidingsdierenarts van het beslag <sup>1</sup> <input type="checkbox"/>		Beslagnummer <sup>1</sup> (of beslageticket)							
VERANTWOORDELIJKE Naam : Adres :			BESLAGADRES <sup>1</sup>						
Identificatie van het te behandelen dier of groepen dieren	Benaming geneesmiddel (met inbegrip van de werkzame stoffen), de farmaceutische vorm en sterkte	Hoeveelheid (aantal/groote verpakkingen)	Doseringsschema		Wachtijd(en) (M <sup>1</sup> V <sup>2</sup> /E <sup>3</sup> ) (zelfs als nul) <sup>1</sup>	Waarschuwingen voor een juist /verstandig gebruik	C,P,M,L <sup>2</sup>	Diagnose indien van toepassing <sup>4</sup>	Lotnummer <sup>5</sup>
			Posologie	Duur					
							C□ P□ M□ L□		
							C□ P□ M□ L□		
							C□ P□ M□ L□		
							C□ P□ M□ L□		
Handtekening dierenarts		Handtekening verantwoordelijke van de dier(en) <sup>1</sup>			Datum uitvoering van het voorschrift <sup>1</sup> : ...../...../..... Naam/namen van de apotheker(s)-titularis(sen), het adres van de apotheek en handtekening van de apotheker <sup>2</sup>				
<sup>1</sup> Alleen in te vullen voor voedselproducerende dieren; <sup>2</sup> C,P,M,L: Gebruik buiten de voorwaarden van de VHB (Cascade), gebruik van antimicrobiële geneesmiddelen voor Profylaxe of Metafylaxe, Laboratorium: aanvinken indien van toepassing; <sup>3</sup> In te vullen door de apotheker op de witte en gele luiken; <sup>4</sup> In te vullen indien gebruik van antimicrobiële geneesmiddelen voor metafylaxe of indien bedrijfsbegeleiding; <sup>5</sup> M <sup>1</sup> V <sup>2</sup> /E: Melk/Vlees/Eieren;									

Wit luik te behouden door de apotheker/geel luik te behouden door de verantwoordelijke van de dier/roze luik te behouden door de dierenarts

Op 3 september 2024 verscheen het ministerieel besluit in het Belgisch Staatsblad. Dit wil zeggen dat we officieel in fase 2 zitten in de overgang naar nieuwe voorschriften. In fase 2 begint de overgangperiode van 6 maanden.

### FASE 2: VANAF PUBLICATIE MINISTERIEEL BESLUIT

Een nieuw Belgisch model van voorschrift wordt gepubliceerd in een ministerieel besluit. Vanaf deze publicatie geldt een overgangperiode waarna de drie modellen van voorschriften naast elkaar bestaan.

- Het nieuwe Belgische model
- Het oude Belgische model voor niet-voedselproducerende dieren (tweeluik)
- Het oude Belgische model voor voedselproducerende dieren (drieluik)

Meer info: <https://www.savab.be/nl/nieuws>



### FASE 3: NA AFLOOP VAN DE OVERGANGSPERIODE VAN ZES MAANDEN

Alleen het nieuwe Belgische model is nog geldig. Vanaf de publicatie in het staatsblad te tellen, zal dit dus zijn vanaf 3 maart 2025.

### FASE 4: EEN MODELFORMAAT VOOR DE DIERGENEESKUNDE VOORSCHRIFTEN VAN DE EUROPESE COMISSIE

De Europese Commissie kan door middel van uitvoeringshandelingen een modelformaat voor de diergeneeskundige voorschriften vaststellen. Zodra de uitvoeringshandelingen zijn gepubliceerd, zal alleen het Europese model nog geldig zijn.

## SAVAB-leden hebben reeds gratis toegang tot de verschillende pakketten van Vetlexicon, maar dit wordt nu gratis uitgebreid



Vetlexicon is een grote online encyclopedie waar dierenartsen terecht kunnen voor het opzoeken van allerlei aandoeningen. Gaande van symptomenbeeld, diagnosevorming en therapeutische opties en opvolging.

**Inbegrepen in het SAVAB lidmaatschap** was reeds de pakketten **Canis, Felis, Lapis en Exotis** (waarin Cavia, Fret en Reptielen vervat zitten). Op die manier kan je dus over alle courante huisdieren die in de gezelschapsdierenpraktijk langs komen informatie opzoeken. Vetlexicon voegde onlangs ook **Avis** toe. Avis legt zich toe op het **hobbypluimvee**, dat ook steeds couranter wordt in de gezelschapsdierenpraktijk.

SAVAB heeft met Vetlexicon samen gezeten en ervoor gezorgd dat ook Avis toegevoegd wordt aan het pakket voor SAVAB leden. **Vanaf 1 september krijgen alle bestaande leden automatisch toegang tot het pakket Avis, bovenop hun bestaande pakketten.**

**Ben je nog geen lid bij SAVAB?** Dan kan je op dit moment nog lid worden aan voordeeltarief via de SAVAB-website. Je kan dan ook reeds proeven tot het einde van het jaar van alle ledenvoordelen om volgend jaar uiteraard van in het begin van het jaar lid te worden en zo te blijven genieten van de talrijke voordelen.

## Verplicht gebruik antibiogram vanaf 1 september 2024

Vanaf 1 september 2024 is het verplicht om het gebruik (toedienen, afleveren of voorschrijven) van quinolonen en derde- en vierdegeneratiecefalosporinen (kritisch belangrijke antibiotica) voor alle diersoorten te verantwoorden door middel van een antibiogram.

Deze verplichting bestaat al voor het gebruik van kritisch belangrijke antibiotica bij voedselproducerende dieren en zal vanaf 1 september 2024 voor alle dieren gelden (gewijzigd koninklijk besluit van 21 juli 2016). De voorwaarden voor het gebruik van quinolonen en 3de en vierdegeneratiecefalosporinen, met uitzondering van intra-mammaire preparaten (d.w.z. moleculen waaraan een rode AMCRA-kleurcode is toegekend), zullen **vanaf 1 september 2024** gelden



voor alle dieren, inclusief gezelschapsdieren en paarden. Dierenartsen zullen daarom alleen kritisch belangrijke antibiotica mogen voorschrijven, leveren of toedienen als een gevoeligheidstest (antibiogram) aantoont dat de te behandelen infectie wordt veroorzaakt door een bacteriestam die alleen gevoelig is voor het geteste kritisch belangrijke antibioticum. Er gelden kwaliteitsnormen voor laboratoria die antibioticagevoeligheidstesten uitvoeren.

Voor uitzonderingen op de toepassing van het antibiogram voor het gebruik van kritisch belangrijke antibiotica: <https://www.savab.be/nl/nieuws>

The logo for FVet, featuring the letters 'FVet' in a stylized, green, sans-serif font. The 'F' and 'V' are connected, and the 'e' is lowercase.The logo for FUJIFILM, with 'FUJI' in black and 'FILM' in black with a red vertical bar above the 'I'. Below it, the tagline 'Value from Innovation' is written in a smaller, black, sans-serif font.

Maak kennis met onze  
**ARIETTA Echografie systemen**  
(voorheen Aloka) door een vrijblijvende  
demonstratie bij u op de praktijk

Wij leveren 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)

## Hoe een doordeweeks practicum een schokgolf joeg doorheen de immunologie

De ontdekking in 1989 van nanobodies door Cécile Casterman, Serge Muyldermans en Raymond Hamers

Het is intussen al meer dan dertig jaar geleden, en nu wereldwijd bekend, vooral bij liefhebbers van geld en beurswaarden, maar de ontdekking in 1989 van een voorheen onbekend type antistoffen in het departement Biologie van de VUB levert ons een mooie illustratie op van de manier waarop belangrijke vooruitgang in het wetenschappelijk onderzoek door toeval kan gebeuren. Dergelijk toeval, geholpen door inzicht, noemt men 'serendipiteit': het vermogen van alerte geesten om uit toevallige waarnemingen, die niet overeenkomen met de gangbare kennis, valabele conclusies te trekken. De rare term werd afgeleid uit een oosters sprookje dat zich afspeelt in Sri Lanka, in het Perzisch Serendip. De ontdekking van penicilline door Fleming is het klassieke voorbeeld daarvan. Aan de basis ligt niet louter geluk: de onderzoeker moet een brede en stevig gefundeerde achtergrondkennis hebben en – vooral – in staat zijn onconventioneel te denken en te oordelen.

Het verhaal speelt zich af in omstandigheden die men ook al niet licht zal associëren met prestigieus wetenschappelijk onderzoek: een routinepracticum Immunologie aan de VUB, Faculteit Biologie. Alles wordt klaargezet om de jaarlijkse oefening 'fractionering van immunoglobulines' uit te voeren. Dat gebeurt in gelelektroforese: polyacrylamide filmplaten met konijnenserum. Cécile Casterman, die het practicum leidt, trekt een diepvrieskast open en haalt er serum uit, dat toevallig was blijven liggen. De studenten zetten zich aan het werk, maar bij het aflezen van de testjes blijken de normaal te verwachten 'lichte' eiwitbanden te ontbreken. Enkel de 'zware' fractie is goed zichtbaar. De meeste VDT-lezers zullen zich nog wel herinneren dat immunoglobuline G van mensen en verwante dieren bestaat uit twee lichte en twee zware ketens. Cameliden (kameelachtigen) hebben dit niet, zo blijkt. Ze moeten het stellen met enkel 'zware' ketens. De kameelantistoffen hebben daardoor een kleiner moleculair gewicht. Vandaar de term nanobodies, afgeleid van het Latijnse woord voor klein, dwerg. Denk aan het Franse woord "nain" of aan nanometer.

Wat is er gebeurd bij dat Brusselse practicum? Contaminatie of wat? En wat moest men daarmee aan? Het hele boeltje in het vat 'Klein Gevaarlijk Afval' kieperen en de misbaksels vergeten? Hier was in elk geval meer dan toeval aan de hand: herhalingen leverden hetzelfde resultaat op. De practicummonsters bleken Marokkaans dromedarisserum te bevatten, in plaats van het gebruikelijke konijnenserum. Het meest waarschijnlijk is dat het die bewuste drukke practicumdag ontbrak aan tijd en/ of goesting om nog konijntjes uit de proefdierstallen te halen en serum te prepareren. Een heel gedoe. Ontdekking dus te wijten aan luiheid? Of was het dierenliefde?

Hoe dan ook, de onderzoeksgroep onder leiding van prof. Hamers zet door, een doctoraatstudent bijt er zich in vast en dit resulteert onder andere in een artikel in *Nature* (Hamers-Casterman et al., 1993). En toen was het hek van de dam. Raymond Hamers werd samen met zijn vrouw Cécile Casterman medeoprichter van Ablynx in het Wetenschapspark – Zwijnaarde, en dat werd een farmaceutisch - wetenschappelijk succesverhaal. Hamers kon daarmee een van zijn dromen waarmaken: de creatie van een leerstoel aan de VUB: History and Philosophy of Sciences (2013). Beide echtgenoten zijn intussen overleden: Cécile in 2020 en Raymond een jaar later.



Scan de QR-code  
voor tickets:



**26 &  
27 OKT**

# Expovet 2024: Een onvergetelijk weekend voor de dierenarts van morgen

Expovet, hét event voor de dierenarts van de toekomst, vindt plaats op 26 en 27 oktober 2024 in de Oktoberhallen, Wieze. Dit jaar groter en inspirerder dan ooit, georganiseerd door diergeneeskundestudenten, met volop kansen om te leren, netwerken en de nieuwste innovaties te ontdekken.

## Een Weekend Vol Innovatie en Educatie

Expovet staat bekend om zijn inspirerende lezingen en workshops, speciaal ontworpen voor dierenartsen en studenten. Dit jaar werken ze samen met Symposium om interactieve sessies te bieden rond actuele thema's in de diergeneeskunde, van baanbrekende behandelingen met monoklonale antistoffen tot diagnostiek en behandeling van kruisbandrupturen bij honden. De lezingen bieden bijscholingspunten (NGROD-geaccrediteerd) en helpen je om bij te blijven in je vakgebied.

## Samenwerkingen die het Verschil Maken

Expovet is meer dan een beurs—het is een ontmoetingsplek. Dankzij hun samenwerking met VetJob, waar bedrijven en dierenartsen elkaar vinden, vergroot je je kansen in de sector, of je nu op zoek bent naar talent of een nieuwe uitdaging.

## De Kracht van Jong Talent

Ons team bestaat uit gepassioneerde diergeneeskundestudenten, gedreven om een evenement te creëren waar kennis en innovatie samenkomen in een inspirerende omgeving. Ze brengen Expovet tot leven met een frisse blik en aandacht voor detail.

## Mis het Niet!

Zet 26 en 27 oktober 2024 in je agenda en kom naar de Oktoberhallen te Wieze voor een weekend vol kennis en inspiratie. Bezoek [expovet.be](http://expovet.be) voor meer info en schrijf je in!



@expovet\_vdk



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



**Oktoberhallen te Wieze:**  
Schrovestraat 22A,  
9280 Lebbeke, België





# X-Ray VERACHTERT Digital nv

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

new

## Alles voor uw Dentale RX



SMART MICRO ST 



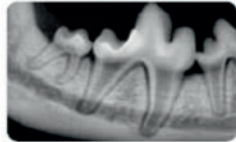
### Dentale Digitale Ontwikkeling:

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

new



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



new life radiology

## VetiX S300 iFast + iVocal + iSolo



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

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



**mindray**  
animal care

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

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

mail : [info@xrayverachttert.be](mailto:info@xrayverachttert.be)  
web : [www.xrayverachttert.be](http://www.xrayverachttert.be)