

DIERGENEESKUNDIG MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

DIERGENEESKUNDIG
MEMORANDUM

SPONSOREN:



DIERGENEESKUNDIG MEMORANDUM

PERIODIEK TIJDSCHRIFT
ZES EN VIJFTIGSTE JAARGANG
SEPTEMBER 2009-2



IN DIT NUMMER MICROBIOLOGISCHE LABORATORIUMDIAGNOSTIEK
BIJ HOND, KAT EN PAARD

SPONSOREN:



DIERGEENEESKUNDIG MEMORANDUM

De Stichting Diergeneeskundig Memorandum, opgericht in 1953, is een onafhankelijke stichting zonder winstoogmerk en stelt zich ten doel aan dierenartsen in binnen- en buitenland voorlichting te geven van wetenschappelijke en commerciële aard op veterinair gebied.
Ter uitvoering van haar doelstelling is zij uitgeefster van het tijdschrift „Diergeneeskundig Memorandum”

De exploitatie van dit tijdschrift wordt, naast de abonnementen, financieel mogelijk gemaakt door :
Alfasan Diergeneesmiddelen B.V. te Woerden
Janssen Animal Health Benelux te Beerse
VetZ B.V. te Sliedrecht

De abonnementsbijdrage voor Benelux wordt jaarlijks geïnd via een automatische incasso.
Voor het buitenland wordt een factuur verzonden.

De abonnementsstarieven zijn :

	ex BTW	6%BTW	incl. BTW
Benelux :			
Automatische incasso	€ 28,30	€ 1,70	€ 30,-
Factuur	€ 33,02	€ 1,98	€ 35,-
Buitenland :	€ 37,26	€ 2,24	€ 39,50

Extra exemplaren of oudere uitgaven kunnen worden besteld d.m.v. een betaling à € 15,- op onze rekening onder vermelding van het gewenste nummer.

Redactiecommissie :

J. Goudswaard, voorzitter
J. Schrooyen, secretaris
Mw. A. Tolkamp (Alfasan Diergeneesmiddelen)
Mw. C. de Mûelenaere (Janssen Animal Health Benelux)
J.R. van Dongen (VetZ)
J. Hulsen (Vetvice)

Redactie- en Administratieadres:

Halderheiweg 11, 5282 SN Boxtel
tel.: 0411-676822
fax: 0411-671595
e-m: de.em@l2move.nl
website: de-em.nl
Rabobank Boxtel 1688.49.674
BIC RABO NL2U IBAN NL50 RABO 0168 8496 74

Verklaring:

De Redactie en uitgeefster aanvaarden geen aansprakelijkheid voor schade, welke direct of indirect- het gevolg mocht zijn van gebleken onjuistheden in de inhoud van de in dit tijdschrift opgenomen artikelen. Niets uit dit tijdschrift mag worden verveelvoudigd en/of openbaar worden gemaakt door middel van druk, microfilm of op welke andere wijze ook, zonder schriftelijke toestemming van de Redactie.

Opmaak en druk: Leonard Nijmegen bv



Van de Redactie

U herinnert zich nog ongetwijfeld het vorige nummer van het Diergeneeskundig Memorandum "Chirurgische behandeling van ooglidafwijkingen", geschreven door de collegae Frans Stades en Michael Boeve. Het verscheen in April van dit jaar. In dit nummer alsmede in een bijgesloten brief- werd een oproep aan de lezers van het DM gedaan om zich te abonneren op het DM, omdat sponsoring alléén het voortbestaan van het DM in de toekomst niet meer zou kunnen garanderen. In de periode tussen de uitgave van genoemd nummer en het DM nummer, dat U nu ontvangt, hebben zich gelukkig voldoende dierenartsen en dierenartspraktijken aangemeld voor een abonnement. Redactie en Bestuur zullen hun uiterste best doen om uw verwachtingen t.a.v. de in de toekomst uit te geven DM publicaties niet teleur te stellen.

Er is echter meer gebeurd in de afgelopen periode. Uit de opmaak van het voor U liggende DM hebt U waarschijnlijk al de conclusie getrokken, dat zich twee nieuwe sponsors hebben aangemeld. Collegae, die het DM al wat langer ontvangen, weten nog ongetwijfeld, dat Janssen Animal Health Benelux het DM vele jaren heeft gesponsord. Juist door dit bedrijf behoorden vele Belgische collegae tot de trouwe lezers van het Diergeneeskundig Memorandum en...hebben we vaak Vlaamse auteurs van zeer interessante uitgaven gehad: denk aan recente DM's over ziekten bij de duif, cardiovasculaire aandoeningen bij de hond, etc. Janssen A H heeft zich nu wederom aangemeld als sponsor, hetgeen Bestuur en Redactie zeer verheugt.

Voorts is een `vijfenvijftig jarige traditie door VetZ doorbroken: een nieuwe sponsor met een niet farmaceutische achtergrond. VetZ is op het ogenblik marktleider in Duitsland voor gebruik van IT technologie in de dierenartsenpraktijk (gebruik van software t.a.v. praktijkmanagement, digitale Rontgensystemen,etc.) en hoopt datzelfde in Nederland en België te

bereiken. Ook het toetreden van deze sponsor wijst er weer op, dat we met het DM graag met allerlei nieuwe ontwikkelingen mee willen doen : we verwachten veel van de inbreng van de nieuwe Redactie-en Bestuursleden ten aanzien van de in het DM te behandelen onderwerpen c.q. diersoorten.

Collega Jan Hulsen van Vetvice b.v. is ongetwijfeld bekend bij alle landbouwhuisdieren practici en heeft een uitgebreid netwerk in de rundveehouderij. Hij heeft ons verzoek om de redactie te versterken, ingewilligd.

Het is usance, dat een uitgave van het DM in het "Van de Redactie" wordt toegelicht. Dat is in dit geval geen moeilijke "klus". Al weer 10 jaar geleden verscheen een DM , getiteld: "Microbiologische en Immunologische laboratoriumdiagnostiek bij hond, kat en paard"onder redactie van collega Dirk Houwers: een bijzonder overzichtelijk Diergeneeskundig Memorandum, dat paste in de traditie van onze uitgaven. De belangstelling voor dit DM is vele jaren bijzonder groot geweest, met name ook bij studenten, die zich voorbereiden op de praktijk. Al een aantal jaren waren geen exemplaren van deze uitgave meer beschikbaar; daarnaast zijn er in het afgelopen decennium ook veel ontwikkelingen geweest op het gebied van de laboratorium diagnostiek. Twee redenen om eens met collega Houwers te praten over de mogelijkheid voor een heruitgave.

Ondanks zijn drukke werkzaamheden op de Faculteit bleek het niet moeilijk om hem er van te overtuigen, dat een dergelijke heruitgave noodzakelijk was en zegde hij toe om dit DM mogelijk te maken en de mede- auteurs (en nieuwe auteurs) ervoor zover dat mogelijk was- weer bij te betrekken. De Redactie is bijzonder blij, dat dit is gelukt en dat dit "succesnummer"van 10 jaar geleden- volledig geactualiseerd - thans weer als heruitgave kan worden uitgegeven.

Heel belangrijk voor alle practici is met name

het eerste hoofdstuk, waarin U duidelijk wordt gemaakt wat U wel en niet kunt verwachten van het laboratorium onderzoek. Ook is zeer belangrijk- en dit wordt in alle andere hoofdstukken uitgebreid toegelicht- dat de afname van de monsters essentieel is voor de betrouwbaarheid van de uitslag.

Met name ook de studenten, die zich voorbereiden op een toekomst als praktiserend dierenarts, zullen dit DM als Nederlandstalig handboek voor de diagnostiek van alle infectieziekten bij de genoemde diersoorten niet willen en kunnen missen, of het nu de bacte-

riologische-, virologische-, mycologische- of parasitaire diagnostiek betreft.

In overleg met de auteurs is het aantal foto's sterk toegenomen in vergelijking met de vorige uitgave: vooral voor dierenartsenpraktijken, die zelf ook enig onderzoek doen, uitermate nuttig. De Redactie wil graag in dit "Van de Redactie" niet alleen collega Houwers maar ook alle andere collegae, die verantwoordelijk zijn voor de inhoud van dit unieke nummer, hartelijk danken voor hun inzet en spreekt de verwachting uit, dat deze publicatie een vaste plaats zal vinden in iedere dierenartsenpraktijk in Nederland en Vlaanderen.

Inhoudsopgave

Van de Redactie	pag. 1
De Auteurs	pag. 6
Hoofdstuk 1. Microbiologische laboratoriumdiagnostiek bij hond, kat en paard	pag 9
Hoofdstuk 2. Betrouwbaarheid van het resultaat van laboratoriumonderzoek	pag 11
Technische procedurele betrouwbaarheid	pag 11
Diagnostische betrouwbaarheid	pag 12
Rekenvoorbeeld	pag 13
Hoofdstuk 3. Het diagnostisch bacteriologisch onderzoek	pag 16
Monsterneming	pag 16
Praktische tips voor het afnemen van monsters	pag 17
Bewaren van monsters	pag 20
Transport van monsters	pag 20
Monstergegevens en anamnese	pag 21
Verzenden	pag 21
Het laboratoriumresultaat	pag 22
Interpretatie	pag 23
Opmerking	pag 24
De meest voorkomende potentieel pathogene bacteriën	pag 25
Verstandig ‘in huis’ BO	pag 28
Hoofdstuk 4. Het diagnostisch parasitologisch en protozoair onderzoek	pag 31
Fecesonderzoek op wormeieren, larven en (oö)cysten	pag 31
Monsterneming en verzending	pag 31
Macroscopisch onderzoek	pag 32
Microscopisch onderzoek	pag 33
De interpretatie van het fecesonderzoek	pag 38
Urine-onderzoek	pag 39
Bloedonderzoek	pag 39
Onderzoek huid en haar op ectoparasieten	pag 40
De meest voorkomende parasieten	pag 42
Hoofdstuk 5. Het diagnostisch mycologisch onderzoek	pag 58
Gisten	pag 58
Mycosen	pag 59
Onychomycose	pag 59
Dermatofytose	pag 59
Monsterneming	pag 61
Verpakken en verzenden	pag 61
Mycologisch onderzoek (MO)	pag 61
‘In huis’ kweek	pag 62
Determinatie	pag 62
Resultaat van MO en interpretatie	pag 64
Cultureel onderzoek (‘kweek’) door een gespecialiseerd laboratorium	pag 64

'In huis' kweek	pag 65
De meest voorkomende dermatofyten/schimmels	pag 65
Hoofdstuk 6. Het diagnostisch virologisch onderzoek	pag 67
De diagnostische betrouwbaarheid van een test	pag 68
Monsterneming en verzending	pag 68
Diagnostiek van de belangrijkste virus-ziekten en de interpretatie van de resultaten van laboratoriumonderzoek	pag 69
Hond	pag 69
Kat	pag 71
Paard	pag 77
Beslisboom/algorithm tot de diagnose FIP bij katten	pag 79
Hoofdstuk 7. De laboratoriumdiagnostiek van enkele specifieke infecties	pag 80
Leptospirose	pag 80
Brucellose	pag 80
Coxiellose (Q koorts)	pag 80
Mycobacteriose	pag 80
Chlamydoophilose	pag 81
Toxoplasmose	pag 81
Neosporose	pag 81
Leishmaniose	pag 81
Haemoplasmose	pag 82
Bartonellose	pag 82
Borreliose	pag 82
Ehrlichiose	pag 82
Babesiose	pag 82
Piroplasmose	pag 84

Surolan® en Otoclean®

Kampioenen in oorbescherming!



OTITIS EXTERNA



BIJ HONDEN EN KAT

Wist u dat polymyxine B en miconazole een synergetische werking hebben bij de afbraak van de bacteriecelwand?

- ▶ bij Gram-positieve én Gram-negatieve bacteriën
- ▶ geen inductie van plasmideresistentie



de beste keuze bij eerstelijnsbehandeling van otitis externa



de oorreiniger met beste ceruminolytische werking

SUROLAN® Oordruppels ter behandeling van oor- en huidinfecties bij honden en katten. Samenstelling: miconazolnitraat, prednisolonacetaat, polymixine B-sulfaat. Diersoorten: hond en kat. Indicaties: *otitis met name: ■ bacteriële otitis veroorzaakt door *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*; ■ mycotische otitis veroorzaakt door *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp., *Candida* spp., *Malassezia pachydermatis* (*Pityrosporum pachydermatis*); ■ veroorzaakt door *Otodectes cynotis*. *huidinfecties met name: ■ bacteriële dermatitis veroorzaakt door *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*; ■ mycotische dermatitis veroorzaakt door *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp., *Candida* spp., *Malassezia pachydermatis*. Dosering en wijze van toediening: *Oor*: na het reinigen van de gehoorgang, tweemaal per dag, enkele druppels Surolan in het oor aanbrengen. Om een goede verdeling van het preparaat te verkrijgen, dienen oor en gehoorgang goed gemasseerd te worden. *Huid*: tweemaal per dag worden enkele druppels Surolan op de letsels aangebracht en goed ingewreven. De behandeling moet zonder onderbreking gedurende enkele dagen na het verdwijnen van de symptomen voortgezet worden. In sommige gevallen kan een behandeling van 2 à 3 weken noodzakelijk zijn. De behandeling van *Otodectes cynotis* is 2 weken (zie indicaties). Contra-indicaties: geen. Bijwerkingen: geen. Registratienummer België: 2578F12 - Nederland: REG.M. 3153; UDA.

OTOCLEAN® Oorreinigingsmiddel voor honden en katten. Samenstelling: Salicylzuur (2,32 mg), propyleenglycol, polyglycol, ethoxydiglycol, gereinigd water, glycerine, melkzuur, cucumis sativus, cetraria islandica, mimosa tenuiflora, oliezuur. Eigenschappen: OTOCLEAN® bevat keratolytische, oorsmeer oplosende, verzachtende, hygiënische en hydraterende bestanddelen die het product buitengewoon geschikt maken voor de hygiëne en verzorging van de uitwendige gehoorgang van hond en kat, doordat het de gehoorgang vrijhoudt van vuil en oorsmeer. Dosering: Gebruik OTOCLEAN® in beide gehoorgangen van de hond resp. kat. Breng voldoende aan, afhankelijk van de grootte van het dier. ■ Bij grote dieren moet voor elk oor een flesje (5 ml) worden gebruikt. ■ Bij middelgrote of kleine dieren kan de inhoud van een flesje over beide oren worden verdeeld. Voorzorgsmaatregelen: Uitsluitend voor uitwendig gebruik. Vermijd contact met de ogen. Bewaren bereiden 30°C. Lees vóór gebruik eerst de bijzuster.

De Auteurs



Dr. Engeline van Duijkeren

Dr. Engeline van Duijkeren

Specialist veterinaire microbiologie, tevens specialist inwendige ziekten paard (np)

1984 dierenartsdiploma, Utrecht.

Daarna 2 jaar werkzaam in verschillende praktijken

1987-heden werkzaam als dierenarts/onderzoeker bij verschillende afdelingen van de Faculteit Diergeneeskunde, Utrecht.

1995 Proefschrift 'Trimethoprim/sulfonamide combinaties in relatie tot salmonellose bij het paard', Universiteit Utrecht.

1995-heden, eerst bij Departement Infectieziekten en Immunologie, thans bij Divisie Klinische Infectiologie van dat departement, Faculteit der Diergeneeskunde, Utrecht.

Onderzoek o.a. gericht op antimicrobiële resistentie.

Auteur/medeauteur van meer dan 70 publicaties op het gebied van de infectiologie.



Dr. Herman F. Egberink

Dr. Herman F. Egberink

Specialist veterinaire microbiologie

1983 Dierenartsdiploma, Utrecht.

1983-heden, Divisie Virologie en Divisie Klinische Infectiologie van het Departement Infectieziekten en Immunologie, Faculteit der Diergeneeskunde, Utrecht.

1991 Proefschrift 'FIV infectie: een diermodel voor AIDS', Universiteit Utrecht.

Onderzoek vooral gericht op de pathogenese, diagnostiek, epidemiologie en preventie van virusziekten bij de gezelschapsdieren. Verantwoordelijk voor het ontwikkelen en verzorgen van onderwijs in de algemene microbiologie en de virusziekten. Lid van de European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD).

Auteur/medeauteur van meer dan 60 publicaties op dierziektekundig gebied.



Dr. Dirk J. Houwers

Specialist veterinaire microbiologie

1976 Dierenartsdiploma Utrecht

1977-1988 Wetenschappelijk medewerker Centraal Diergeneeskundig Instituut, Lelystad, afdeling Virologie (thans CVI)

1988 Proefschrift 'Zwoegerziekte, diagnostiek, pathologie, epidemiologie en bestrijding', Universiteit Utrecht

1991 Erkenning als specialist veterinaire microbiologie (op uitnodiging)

1988-heden, hoofd Veterinair Microbiologisch Diagnostisch Centrum (VMDC), Divisie Klinische Infectiologie, Departement Infectieziekten en Immuno-logie, Faculteit der Diergeneeskunde, Utrecht.

Dr. Dirk J. Houwers

Auteur of medeauteur van meer dan 100 publicaties op infectiologisch gebied.



Dr. ir. Harm W. Ploeger

1986 Zootechniek (Veehouderij), Universiteit Wageningen.

1989 Proefschrift (cum laude): Effecten van maagdarm- en longworminfecties op de produktiviteit van rundvee op melkveebedrijven, Universiteit Wageningen.

Tot 1996: Diverse post-doc posities in Wageningen met diverse parasitologische onderwerpen

1996 – heden. Parasitoloog bij Departement Infectieziekten en Immunologie, eerst afd Parasitologie, thans divisie Klinische Infectiologie, Faculteit der Diergeneeskunde, Utrecht.

Dr. Harm W. Ploeger

Associate member of the European Veterinary Parasitology College (EVPC)

Auteur/medeauteur van meer dan 80 publicaties.



Barend Blankenstein

1979-heden, werkzaam bij de Faculteit der Diergeneeskunde, Utrecht.

1987-heden, bij Veterinair Microbiologisch Diagnostisch Centrum, divisie Klinische Infectiologie, Departement Infectieziekten en Immunologie, als analist voor parasitologie en mycologie.

Barend Blankenstein

Auteur/medeauteur van enkele publicaties en meerdere richtlijnen.

Flubenol^{TRADEMARK} KH

de ideale pasta voor het ontwormen van pups en kittens

Flubenol^{TRADEMARK} KH

- Gemakkelijk toe te dienen
- Lekker voor hond en kat

Flubenol KH pasta-pâte
Oraal wormmiddel voor honden en kittens
Versuipige oral pour chiens et chats



Ontwormingsadvies hond en kat ESCCAP

Pups: 2,4,6 en 8 weken leeftijd;
vervolgens maandelijks tot half jaar.

Kittens: 3,5 en 7 weken leeftijd;
vervolgens maandelijks tot half jaar.

Teef/Poes: Tegelijk met zogende pups/kittens

Overige dieren: Minimaal 4x per jaar.

FLUBENOL KH Pasta, Pasta voor oraal gebruik. **Samenstelling** Per ml 44 mg flubendazol. **Eigenschappen** Flubendazol is een oraal anthelminticum dat werkzaam is tegen spoelwormen, haakwormen, zweepwormen en lintwormen bij honden en katten. Flubenol KH heeft een zeer brede veiligheidsmarge en wordt door de dieren goed opgenomen. **Doeldier** Hond, kat. **Indicaties** Wormbesmettingen bij honden en katten veroorzaakt door spoelwormen: *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Toxascaris leonina*; haakwormen: *Uncinaria stenocephala*, *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma tubaeforme*; zweepwormen: *Trichuris vulpis*; lintwormen: *Taenia pisiformis*, *Taenia hydatigena*, *Taenia taeniaeformis*. **Dosering/Toediening** 1 ml per 2 kg l.g. (=22 mg per kg l.g.). Honden en katten die met spoelwormen en haakwormen besmet zijn: 1 ml pasta per 2 kg l.g., éénmaal daags, gedurende 2 opeenvolgende dagen. Honden en katten die met andere wormsoorten besmet zijn: 1 ml pasta per 2 kg l.g., éénmaal daags, gedurende 3 opeenvolgende dagen. De pasta kan op verschillende manieren worden toegediend: de exacte dosis rechtstreeks in de bek van de hond of kat spuiten; de exacte dosis door het voer mengen (deze toedieningswijze is aangewezen bij moeilijk te manipuleren en agressieve dieren); bij katten kan men de dosis op een van de voorpoten uitsmeren: de kat likt de pasta zelf op. **Bijwerkingen** Bij katten kan Flubenol KH soms speeksel veroorzaken. Deze salivatie is van korte duur en heeft geen invloed op de algemene gezondheid van de katten. Bij de hond zijn geen bijwerkingen bekend. **Waarschuwingen** Terughoudendheid betrachten aan het begin van de dracht **Houdbaarheidstermijn** 3 jaar bij kamertemperatuur (15-25°C). **Registratienummer/Kanalisatiestatus** NL REG NL 2995 VRIJ **Registratienummer/Wijze van aflevering** B 2 IS 70 F 7 VRIJ



JANSSEN
ANIMAL HEALTH

Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse; Postbus 90240, NL-5000 LT Tilburg www.janssenanimalhealth.com

1. Microbiologische laboratoriumdiagnostiek bij hond, kat en paard

onder redactie van dr. D.J. Houwers.

Algemene inleiding

Dit DM is een vernieuwde versie van een uitgave in 1998. Het behandelt verschillende aspecten van de microbiologische laboratoriumdiagnostiek bij hond, kat en paard. Het hoofdstukje over immunologische diagnostiek is om verschillende redenen komen te vervallen. Dit DM is bedoeld als een leidraad voor de practicus en beperkt zich tot de levende patiënt. In de postmortale situatie is sprake van een veel uitgebreider arsenaal aan diagnostisch laboratoriumonderzoek. Er is in de afgelopen jaren het één en ander veranderd in de microbiologische laboratoriumdiagnostiek. Zo zijn de mogelijkheden voor moleculaire diagnostiek, met name d.m.v. de PCR (polymerase chain reaction), sterk toegenomen. Doordat in de praktijk bij het klinisch-diagnostisch en therapeutisch handelen toenemend gebruik gemaakt wordt van laboratoriumdiagnostiek is het aantal aanbieders daarvan ook toegenomen. Daarnaast ontstaat vanzelfsprekend ook de wens om klinisch-chemisch, en meer recent ook microbiologisch, diagnostisch laboratoriumonderzoek 'in huis' uit te voeren. Dit levert onmiskenbaar tijdswinst op, maar brengt ook een niet te onderschatten risico op vals-positieve en -negatieve resultaten met zich mee. Los daarvan staat de vraag in hoeverre 'in huis' bepalingen rendabel (te maken) zijn. De technische mogelijkheden om zelf -op praktische wijze- bepalingen te doen zijn de laatste jaren sterk toegenomen; b.v. de kleine klinisch-chemische analyzers en de testkits voor het aantonen van bepaalde agentia in individuele monsters. Het aanbod van deze zgn. 'patiënt-side' (of 'point of care') tests zal ongetwijfeld verder groeien. Uitbreiding en verfijning van de diagnostische mogelijkheden past in de verdergaande verbetering van de dienstverlening aan de patiënt en zijn eigenaar.

Voor veel infectieziekten zijn er inmiddels 'patiënt-side' testkits op de markt. Zulke tests geven in principe een ja/nee antwoord op de vraag of een bepaald agens aanwezig is (is agens

A aanwezig?, of B?). Of dit allemaal zinvolle uitbreidingen van de diagnostische mogelijkheden zijn, is de vraag. Bij sommige bepalingen is kwantificering van belang en veel 'patiënt-side' testjes geven juist alleen maar een ja/nee resultaat.

'Komt dit agens uitsluitend bij dieren met klachten voor?' is de belangrijkste vraag bij de interpretatie van agens-detectietesten; zo nee, dan is minimaal een kwantitatief resultaat noodzakelijk.

Commerciële diagnostische laboratoria en aanbieders van testkits laten zich eerder leiden door het credo 'het aanbod creëert de vraag' dan door de vraag of iets goed (lees zinvol) is voor de consument/patiënt.

Voorbeeld:

Het weinig kritische gebruik van attractieve, maar relatief dure en niet kwantitatieve Giardia-testkitjes heeft veel zinloze behandelingen teweeggebracht; Giardia is niet per definitie oorzakelijk bij diarree.

Bij de diagnostiek van bacteriële infecties bij individuele patiënten is er weinig veranderd omdat het aantal potentiële verwekkers van een bepaalde aandoening meestal groot is en er bovendien vaak combinaties van bacteriën actief zijn. Meestal is de diagnostische vraag of er bacteriën aanwezig zijn en zo ja welke, en wat hun betekenis is in het kader van de klacht. En niet in de laatste plaats wil de practicus weten voor welke antimicrobiële middelen de verwekker(s) gevoelig is (zijn): antibiogram (ABG). Het is niet waarschijnlijk dat de 'klasieke bacteriologie' (kweken, determineren en ABG) in de nabije toekomst door eenvoudigere en snellere technieken zal kunnen worden vervangen. Niettemin komen er PCR- testen voor het detecteren van bepaalde specifieke bacteriën

beschikbaar. Een voorbeeld hiervan is een PCR-test voor *Rhodococcus equi* waarmee zijn aan-/afwezigheid in bijvoorbeeld een longspoelsel van een veulen kan worden vastgesteld. De keerzijde is echter dat er geen gevoeligheidsbepaling kan worden gedaan en dus eventuele veranderingen in de antibioticum-gevoeligheid niet, of slechts achteraf, worden vastgesteld. Een ander voorbeeld is een PCR voor *Borrelia*-species in bijvoorbeeld een huidbiopt: de aanwezigheid van die bacterie kan daarmee uitstekend worden vastgesteld, maar de vraag of dat ziektekundige betekenis heeft blijft onbeantwoord want dit komt ook voor bij dieren zonder klachten (zie hoofdstuk 7 voor borreliose-diagnostiek)

Het aantonen van een agens wordt geleidelijk eenvoudiger; het bepalen van de etiologische betekenis van het aantonen van een agens blijft in veel gevallen lastig en vergt expertise.

De laatste jaren groeit het aanbod aan diagnostiek van virale infecties bij hond, kat en paard, ook en met name in de vorm van PCR-tests. Veel van die bepalingen hebben echter maar een beperkte individuele diagnostische waarde en bovendien zijn de therapeutische mogelijkheden nog steeds beperkt. Natuurlijk is testen 'for the sake of knowing' te rechtvaardigen; het simpel kunnen aanvinken maakt het echter ook wel erg verleidelijk. Pas als het resultaat in huis is komt vaak de vraag: wat kan ik hier eigenlijk mee? Er zijn ook situaties waarbij dit wel zinvol kan zijn, zoals bij voorbeeld als preventieve vaccinatie tot de mogelijkheden behoort. Echter, in zo'n geval biedt antistofbepaling wellicht meer houvast – minder kans op vals-negatief resultaat. De toenemende behoefte aan mycologisch onderzoek, vooral op het gebied van de dermatofyten, vindt zijn oorzaak o.a. in het groeiend aantal huisdieren, vooral katten, de pogingen van de katten-liefhebbersverenigingen om infecties te voorkomen en het groeiend zoönosebewustzijn. Kweek met een gekwantificeerde uitslag is, en blijft voorlopig, de standaard. De praktische relevantie van het parasitologisch onderzoek is de laatste decennia niet wezenlijk veranderd. Niettemin hebben o.a. de wettelijke regelingen t.a.v. anthelmintica en antiparasitica (receptuurplicht voor paarden), de groeiende

resistentieproblematiek alsook het zoönosebewustzijn de parasitologische diagnostiek geactualiseerd. Veranderende inzichten m.b.t. de vermeende onschadelijkheid van bepaalde maag-darm-infecties dragen daar verder aan bij.

Dit DM is disciplinair ingedeeld en elk hoofdstuk is van de hand van een specialist op het betreffende gebied. In hoofdstuk 2 wordt de aandacht gevestigd op een aspect dat vrij gemakkelijk over het hoofd wordt gezien, namelijk het besef dat de betrouwbaarheid van het resultaat van laboratoriumonderzoek/testkits intrinsieke beperkingen kent en dat een testresultaat ook nog een diagnostische vertaalslag behoeft. In de volgende hoofdstukken komen de verschillende disciplines aan bod en er is een hoofdstuk gewijd aan de diagnostiek van een aantal specifieke infecties en infectieziekten. Er wordt relatief veel aandacht besteed aan aspecten die van belang zijn voor de kwaliteit van de diagnostiek. Verder worden de mogelijkheden en beperkingen (de betrouwbaarheid) van 'in huis' diagnostiek besproken. Omdat het parasitologische onderzoek zich bij uitstek leent voor uitvoering in de praktijk, is het betreffende hoofdstuk tevens bedoeld als handleiding. Dit geldt in mindere mate voor de bacteriologische en mycologische diagnostiek, waarvan bepaalde gedeelten goed in de praktijk kunnen worden uitgevoerd. De 'in huis' virologische diagnostiek is beperkt tot commercieel verkrijgbare testkits.

Omdat de klinische bacteriologie van nature gecompliceerd is en er vooralsnog weinig structurele vereenvoudigingen verwacht mogen worden, zal hierop meer uitgebreid worden ingegaan. Met het oog op het belang van een goede klinische interpretatie van het resultaat van dat bacteriologisch onderzoek wordt per orgaansysteem per diersoort beschreven welke bacteriën globaal als potentiële ziekteverwekker kunnen worden aangemerkt. In de andere hoofdstukken wordt een ziekte/agens-opsomming gegeven, met daarbij de gangbare diagnostische benadering.

De aanvrager van microbiologisch diagnostisch onderzoek dient zich van tevoren af te vragen wat de mogelijk uitkomsten zijn en wat daaruit geconcludeerd kan worden.

2. Betrouwbaarheid van het resultaat van laboratoriumonderzoek

door dr. D.J. Houwers.

Technisch procedurele betrouwbaarheid

Als de practicus in een bepaalde situatie besluit om microbiologisch diagnostisch laboratoriumonderzoek te (laten) doen, dan is dat in feite het begin van een traject waarin elke stap cruciale invloed heeft op de volgende. De betrouwbaarheid c.q. bruikbaarheid van het eindresultaat van het laboratoriumonderzoek hangt af van de kwaliteit van alle stappen in het traject, te beginnen bij de monsterneming. Zo kan bijvoorbeeld een onjuiste monsterneming uiteindelijk leiden tot een -gerichte-antibioticumtherapie bij een feitelijk steriele ontsteking. In feite zal ieder laboratoriumresultaat kritisch moeten worden beschouwd in relatie tot de patiënt en de monsterneming, voordat conclusies worden getrokken die eventueel leiden tot een therapie.

Ieder laboratoriumresultaat moet kritisch worden beschouwd in relatie tot patiënt en monsterneming.

Testmethoden waarmee een agens (of antistoffen ertegen) wordt aangetoond, moeten gevalideerd zijn. Hun specificiteit en sensitiviteit zijn vastgesteld. De diagnostische betrouwbaarheid is daardoor bekend.

Binnen het traject van een diagnostisch laboratoriumonderzoek kan het besluit tot een dergelijk onderzoek als de eerste stap worden gezien. Daarbij is een belangrijke overweging of er een redelijke kans is dat er een bruikbaar resultaat uitkomt, wat o.a. samenhangt met de vraag of er voor het onderzoek geschikt materiaal van de patiënt te verkrijgen is. De tweede stap is de monsterneming. Bij alle onderzoek waarbij een agens gekweekt moet worden, is 'steriele' monsterneming essentieel; contaminanten kunnen misleiden of een

onderzoek zelfs technisch onmogelijk maken. De hoeveelheid monster is ook van belang; is er een redelijke kans dat het gezochte agens daadwerkelijk in het monster aanwezig is? Uiteraard zijn er hierbij beperkende factoren, zowel van de zijde van de patiënt als van het laboratorium. De derde stap is de identificatie van het monster en het schrijven van een zo volledig mogelijke aanvraag. De vierde stap is het vervoer/verzenden van het monster plus aanvraagformulier naar het laboratorium. In het algemeen kan men stellen dat biologisch/organisch materiaal aan 'bederf' onderhevig is en dat koelen dat vertraagt. Voor monsters voor bijvoorbeeld virusisolatie is gekoeld transport een vereiste. Bij verzenden per post of koerier is deugdelijke verpakking zelfs wettelijk vereist; er is internationale regelgeving m.b.t. het -veilige- vervoer van diagnostische monsters. De vijfde stap is de ontvangst en de registratie van het monster op het laboratorium. De zesde stap is de uitvoering van de gevraagde bepaling, de zevende de registratie van het resultaat en pas bij de achtste stap wordt het resultaat naar de zender gezonden. Er is weinig fantasie voor nodig om in te zien dat er bij iedere stap wel iets fout kan gaan dat de uitkomst van de rest van het traject bepaalt. Een simpel voorbeeld is als de aard van het monster of de herkomst of de diersoort en de leeftijd van de patiënt, niet vermeld zijn en het laboratorium als gevolg daarvan niet het juiste onderzoek inzet en/of zich op de verkeerde agentia concentreert.

De practicus kan/moet het gedeelte van het traject tot aan het laboratorium zorgvuldig uitvoeren. Daar waar keuze uit laboratoria mogelijk is, zal kwaliteitsbewust gekozen moeten worden. Daarna ligt de verantwoordelijkheid bij het laboratorium. In goede laboratoria wordt volgens vaste protocollen onder een bepaalde kwaliteitswaarborg gewerkt die door onafhankelijke instanties wordt bewaakt. Ondanks alle voorzorgen blijven menselijke fouten mogelijk. Ieder laboratoriumresultaat moet men dus eigenlijk in het licht van het bovenstaande beschouwen. Gelukkig zijn er

vele resultaten die vanuit technisch oogpunt als zeer betrouwbaar kunnen worden aange-merkt. Niettemin zal men zich moeten realiseren dat de betrouwbaarheid van het resultaat immer gerelateerd is aan een reeks van handelingen/gebeurtenissen, waarbij iets fout kan gaan.

Diagnostische betrouwbaarheid

Bij de interpretatie van een technisch procedureel betrouwbaar resultaat moet in bepaalde gevallen nog rekening worden gehouden met wat men zou kunnen noemen 'diagnostische betrouwbaarheid'. Dit speelt vooral bij testen waarmee de aan- of afwezigheid van een bepaald agens wordt onderzocht.

Van een gevalideerde test of methode zijn in principe de 'sensitiviteit' en de 'specificiteit' bekend. De sensitiviteit van een test geeft weer het percentage van de positieve dieren dat door de test ook als positief wordt herkend. Deze parameter geeft in wezen het percentage vals-negatieven. De specificiteit geeft weer het percentage van de negatieve dieren dat door de test ook als negatief wordt herkend. Deze parameter geeft in wezen aan welk percentage er vals-positief zal worden gescoord en is het meest van belang voor het bepalen van betrouwbaarheid.

De uitslag van een test kan in een getal worden uitgedrukt, b.v. als een titer, of als 'positief' of 'negatief', maar kan dan in werkelijkheid ook 'vals-positief' of 'vals-negatief' zijn. Vals-positief is terug te voeren op onvoldoende specificiteit van de gebruikte test. Vals-negatief wordt veroorzaakt door onvoldoende sensitiviteit. Hierbij is ook het begrip 'detectiegrens' van een testmethodiek relevant; dit is de kleinste hoeveelheid van een agens of antistof die een test nog in een bepaalde hoeveelheid monster kan detecteren. Iedere test heeft een detectiegrens. Zo neemt de diagnostische betrouwbaarheid dus af bij een voor de toegepaste test niet optimale monstergrootte; de kans op een vals-negatief resultaat neemt toe. Een PCR, bij voorbeeld, heeft vaak een zeer lage detectiegrens, kan dus een zeer geringe hoeveelheid DNA/RNA van een agens detecteren, in theorie zelfs 1 molecuul, maar de techniek kent tegelijkertijd ernstige beperkingen betreffende de grootte van het verwerk-bare monster. Bij een klein monster –feitelijk

Hoewel de 'PCR' bekend staat als een zeer gevoelige methode wordt de betrouwbaarheid van een negatieve uitslag sterk beperkt door de zeer geringe hoeveelheid van het monster die uiteindelijk wordt getest en de technische beperkingen die aan bepaalde monsters (zoals bv feces) kleven.

PCR-positief voor agens X, mits uitgevoerd door een goed laboratorium, is over het algemeen een betrouwbaar resultaat.

een heel klein deel van de patiënt- neemt de kans toe dat het gezochte agens niet aanwezig is en dus niet kan worden gedetecteerd.

In een goed laboratorium is iedere gebruikte test aan een validatieprocedure onderworpen geweest. Hierbij wordt in principe de diagnostische betrouwbaarheid vastgesteld, m.a.w. hoe groot de kans is dat bij een gestandaardiseerde uitvoering en een bepaalde monstergrootte het resultaat onjuist, dus 'vals', is. Helaas zijn er geen testen met zowel een sensitiviteit als een specificiteit van 100%. Er zijn wel testen die daar in de buurt komen en desondanks onder bepaalde omstandigheden onverwacht lage diagnostische betrouwbaarheid vertonen. Om de diagnostische betrouwbaarheid van een testresultaat te bepalen, is - naast de sensitiviteit en de specificiteit van de test - ook de prevalentie (= mate van voorkomen op een bepaald moment) van het agens of een aandoening in de populatie van belang. Immers, die bepaalt de trefkans van de bepaling. Bij een prevalentie van b.v. 1 % is de kans dat het agens werkelijk wordt aangetoond dus maar 1 op 100. Bij een test die slechts 1% vals-positieven geeft (specificiteit 99%) zullen in dit geval dus 2 (1 x echt-positief + 1 x vals-positief) van de 100 dieren positief zijn, hetgeen in feite betekent dat de helft van de positieve testen onjuist is. De diagnostische betrouwbaarheid is dus maar 50%! Bij een prevalentie van 10% volgt dat er dus 11/100 testen positief zullen zijn, waarvan maar 1 vals-positief; de diagnostische betrouwbaarheid van het -po-

	Positief geteste dieren	Negatief geteste dieren	Totaal
Werkelijk positieve dieren	A	B	A+B
Werkelijk negatieve dieren	C	D	C+D
Totaal	A+C	B+D	A+B+C+D

	Positief geteste dieren	Negatief geteste dieren	Totaal
Werkelijk positieve dieren	9,9	0,1	10
Werkelijk negatieve dieren	9,9	980,1	990
Totaal	19,8	980,2	1000

satieve- testresultaat is nu ruim 90% (10/11). Een negatief testresultaat is uiteraard in beide situaties in hoge mate betrouwbaar.

Het hierboven geschetste voorbeeld komt sterk overeen met de situatie die globaal voor het Feline Immunodeficiëntie Virus (FIV) in Nederland geldt; bij 1% van de gezonde en bij 7% van chronisch zieke katten komt de FIV-infectie voor.

De diagnostische betrouwbaarheid kan ook aan de hand van een formule berekend worden, die gebaseerd is op de voorgaande 2x2 tabel.

Sensitiviteit, specificiteit en prevalentie kunnen als volgt worden weergegeven.

Sensitiviteit: $A / (A+B) \times 100$

Specificiteit: $D / (C+D) \times 100$.

Prevalentie: $(A+B) / (A+B+C+D) \times 100$

De diagnostische betrouwbaarheid van een test is het percentage van de dieren met een positieve/negatieve uitslag dat ook werkelijk positief/ negatief is.

Diagnostische betrouwbaarheid van een positieve uitslag: $A / (A+C) \times 100$. Diagnostische betrouwbaarheid van een negatieve uitslag:

$D / (B+D) \times 100$.

Rekenvoorbeeld

Stel, wij gebruiken een zeer goede FIV-test met een specificiteit van 99% en een sensitiviteit van 99% en wij gaan uit van een prevalentie van 1 % onder de gezonde Nederlandse katten. Volgens de berekening kan de be-

trouwbaarheid als volgt worden vastgesteld.

Sensitiviteit van de test is 99%: van de 10 werkelijk positieve dieren (prevalentie is 1 %, dus 10 van de 1000 katten) wordt 99% als positief herkend: $A=9,9$ $B=0,1$

Specificiteit van de test is 99%: van de 990 werkelijk negatieve dieren wordt 99% als negatief herkend: $C= 980,1$ $D= 9,9$

De diagnostische betrouwbaarheid van de positieve uitslag bij de gezonde kat is dus: $9,9/9,9+9,9 \times 100= 50\%$ (!). M.a.w. de helft van de positieve uitslagen is onjuist. Voor een zieke kat is deze waarde hoger omdat de prevalentie van FIV onder chronisch zieke katten hoger ligt. In Nederland gemiddeld 7%. De berekening leert dat bij een chronisch zieke kat de diagnostische betrouwbaarheid dan bijna 90% is. Wordt er echter een test gebruikt met een iets lagere specificiteit van b.v. 95% en gelijke sensitiviteit (99%) dan is de diagnostische betrouwbaarheid van een positief resultaat volgens de formule: $69,3 : (69,3 + 46,5) \times 100= 60\%$. Een geringe afname van de specificiteit van de gebruikte test heeft onder de gegeven omstandigheden dus grote gevolgen voor de diagnostische betrouwbaarheid van een positief resultaat!

Goede patiëntselectie vergroot de kans dat het agens/de aandoening aanwezig is. De diagnostische betrouwbaarheid van een positief testresultaat neemt daardoor aanzienlijk toe.

Bij een negatief resultaat (agens x niet aangetoond) nooit concluderen dat agens x niet in de patiënt aanwezig is/was. De waarschijnlijkheid daarvan is meestal wel toegenomen. Bij een positief resultaat (agens x aangetoond) nooit concluderen dat agens x in de patiënt aanwezig is/was. De waarschijnlijkheid daarvan is meestal wel groot.

De diagnostische betrouwbaarheid van een test wordt bepaald door - patiëntselectie en vraagstelling; - monsterneming en verzending; - verstrekken van benodigde gegevens aan de uitvoerende instantie; - kwaliteit van het laboratorium c.q. test; - sensitiviteit en specificiteit van de toegepaste test; - prevalentie van agens/aandoening in de (geselecteerde) populatie.

Samenvattend: naarmate een aandoening/infectie meer voorkomt neemt de diagnostische betrouwbaarheid van een positief testresultaat toe. Omgekeerd heeft een negatief testresultaat voor een weinig voorkomende aandoening/ infectie grote diagnostische betrouwbaarheid. Hieruit volgt dat adequate patiëntselectie de diagnostische betrouwbaarheid van het positief testresultaat gunstig beïnvloedt, of omgekeerd: voor een diagnostisch zo betrouwbaar mogelijk testresultaat is adequate patiëntselectie essentieel.

Antimicrobiële Injectievloeistoffen



Alfacilline 15/15 pro inj.	REG NL 1579
Alfamycine 5% pro inj.	REG NL 1474
Alfatrim 24% pro inj.	REG NL 1580
Amoxicilline 20% pro inj.	REG NL 9421
Ampicilline 20% pro inj.	REG NL 8480
DHS 25% pro inj.	REG NL 8909
Kanapen 4/20 pro inj.	REG NL 1741
Lincomycine 10% pro inj.	REG NL 3731
Lincomycine-Spectinomycine pro inj.	REG NL 8271
Oxytetracycline 10% PVP pro inj. 100 ml	REG NL 1227
Oxytetracycline 10% PVP pro inj. 250 ml	REG NL 1227
Oxytetracycline 10% PVP pro inj. 500 ml	REG NL 1227
Procaine-Penicilline 30 pro inj.	REG NL 9204
Tylosine 20% pro inj.	REG NL 8296



Alfasan

DIERGENEESMIDDELEN BV

Kuipersweg 9 3449 JA Woerden

Postbus 78 3440 AB Woerden

Tel: 0348 416945 Fax: 0348 483676

diergeneesmiddelen@alfasan.nl

www.alfasan.com

3. Het diagnostisch bacteriologisch onderzoek

door dr. E. van Duijkeren

De klinische bacteriologie d.m.v. kweek uit patiëntenmateriaal is nog steeds de hoeksteen van de diagnostiek van door bacteriën veroorzaakte infecties. Als men tot een bacteriologisch onderzoek (BO) besluit, dient men zich te realiseren dat een goed uitgevoerd BO op een slecht monster vrij gemakkelijk tot verkeerde conclusies leidt. Voor een goed monster en een slecht uitgevoerd BO geldt hetzelfde. Zelfs een goed genomen monster en een goed uitgevoerd BO kunnen bij een onjuiste interpretatie leiden tot verkeerde conclusies, gevolgd door een verkeerde therapie.

Monsterneming

Het is van cruciaal belang dat het materiaal ('het monster') voor het BO zo weinig mogelijk irrelevante kiemen (contaminanten) bevat. Vaak echter kan het monster onmogelijk 'steriel' worden afgenomen en raakt dus toch met kiemen van de lichaamseigen flora gecontamineerd. Zo zal materiaal uit een ontsteking van de huid bijna altijd kiemen bevatten die tot de normale huidflora behoren. Bij de beoordeling van het kweekresultaat zal, behalve naar pathogene bacteriën, ook moeten worden gekeken naar de relatieve aantallen voorwaardelijk pathogene kiemen; zijn er daarvan teveel aanwezig, dan kan dat oorzakelijke betekenis hebben. Dit is het centrale probleem van de klinische bacteriologie: het -kunnen- beoordelen wat 'normale kiemen in normale aantallen' voor het betreffende monster zijn en wat niet.

Voor het afnemen van materiaal voor BO gelden de volgende algemene regels

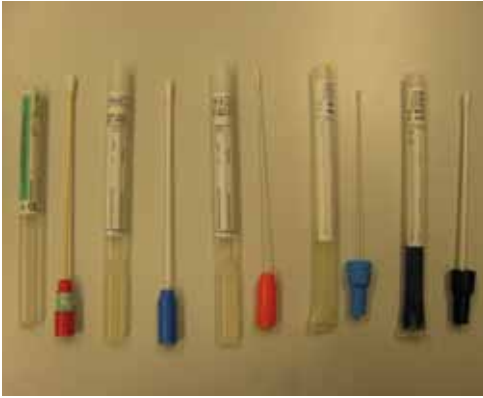
1. Het materiaal moet afkomstig zijn van de plaats van infectie met de grootste kans op aanwezigheid van de pathogenen en met zo weinig mogelijk contaminanten van de omgevende flora. Dit is vooral van groot belang bij infecties die door de eigen microflora (dus normaal op/in de patiënt aanwezige bacteriën) kunnen worden veroorzaakt en bij monsters afkomstig van de huid en slijmvliezen (waar altijd een endogene flora

aanwezig is). Er zijn verschillende manieren om contaminatie van materiaal met eigen flora te vermijden of te minimaliseren:

- afname van het monster op de plaats van infectie;
- schoonmaken en desinfecteren van het doelgebied, waarbij het materiaal zelf niet in contact mag komen met het desinfectans;
- omzeilen van de normale flora d.m.v. puncties (b.v. blaaspunctie bij hond of kat);
- kweken op selectieve media;
- kwantificeren van de bacteriën;
- vermijden van contact met omgevingsflora.

2. Er moet voldoende materiaal worden afgenomen. Voor urine, feces en bloed zijn hoeveelheden vaak cruciaal. Materiaal op swabs zonder transportgel kan uitdrogen en sommige micro-organismen zullen dan doodgaan. Het is daarom beter om, indien mogelijk, biopten of een aantal ml's van het materiaal op te sturen. Als dit niet mogelijk is kan men gebruik maken van swabs met transportgel (zie verder).
3. Het materiaal moet worden afgenomen op een zodanig tijdstip dat de kans op isolatie van de verwekker het grootst is. Over het algemeen is dit zo vroeg mogelijk na het optreden van de klinische verschijnselen. Ook moet het materiaal het liefst zijn afgenomen vóór de toediening van antibiotica. Als er al antibiotica zijn toegediend dan moet dit, met de naam, vermeld worden. Bij de bewerking kan hier rekening mee worden gehouden.
4. Het materiaal dient te worden afgenomen met de juiste hulpmiddelen. Deze moeten uiteraard steriel zijn.

Het moeilijkste van klinische bacteriologie is het -kunnen- beoordelen wat voor het betreffende monster klinisch relevante kiemen zijn.



(afb. 1). Swabs, hier afgebeeld met bijbehorende kokertjes, zijn in verschillende uitvoeringen te krijgen, met en zonder transportmedium

Praktische tips voor het afnemen van monsters

Urine

Urine kan worden verkregen via cystocentesis (blaaspunctie, niet bij het paard!), catheterisatie of via het opvangen van 'midstream' urine. De wijze van afname is essentieel voor de interpretatie van het BO. Daarom is het belangrijk om de methode op het aanvraagformulier te vermelden, zeker als de urine naar een extern laboratorium wordt opgestuurd.

Cystocentesis heeft het voordeel dat hierbij contaminatie van het monster en de blaashoud met endogene flora uit vagina, preputium en urethra wordt voorkomen en is daarom voor BO veruit het meest geschikt. De techniek is zowel bij de hond als bij de kat veilig, eenvoudig en snel uit te voeren, mits de blaas gevuld is. Helaas is dit bij een cystitis niet altijd het geval. Eventueel kan na algemene klinische diagnostiek een diureticum worden toegediend. Aangezien de blaas normaal gesproken steriel is, zijn alle bacteriën in een punctiemonster, ook als zij in lage aantallen aanwezig zijn, klinisch relevant. Contaminatie kan ontstaan door het aanprikken van een darm of door de huidflora. De kans op het aanprikken van een darm is zeer klein en men vindt dan een mengcultuur, terwijl men bij een cystitis een reincultuur verwacht. Contaminatie met huidflora kan worden vermeden door het scheren en desinfecteren van

een klein stukje huid op de punctieplaats. Catheterisatie is bij de reu een redelijk alternatief. Bij de kat is catheterisatie zonder sedatie meestal niet mogelijk. Het is hierbij essentieel dat de bacteriën gekwantificeerd worden, omdat er bijna altijd contaminatie met endogene flora optreedt. De normaal in de vagina, distale urethra en preputium aanwezige bacteriën zijn dezelfde soorten die ook cystitis kunnen veroorzaken en dit bemoeilijkt de interpretatie (N.B.: een blaasinfectie ontstaat vrijwel altijd ascenderend!). Bij catheterisatie bestaat overigens nadrukkelijk het risico dat er een blaasinfectie wordt geïnduceerd. Ook bij 'midstream' urine is kwantificatie noodzakelijk.

Bij de kat kan vaak urine worden verkregen door manuele lediging van de blaas als blaaspunctie niet mogelijk is. Over het algemeen geldt bij catheter- en spontane urine: meer dan 10.000 bacteriën/ml urine is een aanwijzing voor een bacteriële cystitis en minder dan 10.000 bacteriën/ml urine is meestal contaminatie. Bij de interpretatie moet echter ook rekening worden gehouden met de monsterneming (bij blaaspunctie zijn lage aantallen bacteriën ook relevant), de pathogeniteit van de gekweekte bacterie, of het een meng- of een reincultuur is en de beoordeling van het sediment (bijvoorbeeld het aantal leucocyten). Bij het paard kan 'midstream' urine of catheterurine worden gebruikt voor BO. Voor een verantwoorde interpretatie van het BO is een kiemtelling noodzakelijk en daarvoor is een volume van minimaal 0,5 ml nodig; urine op een swab is dus geen goed monster.

Urine van hond en kat leent zich goed voor 'in huis' BO aangezien niet anaëroob gekweekt hoeft te worden en het aantal mogelijke verwekkers klein is. Als men gebruik maakt van een extern laboratorium moet men transportgroei zoveel mogelijk voorkomen. Urine is namelijk een goed groeimedium. Voor het op-

Urine verkregen per blaaspunctie levert het betrouwbaarste resultaat bij BO. Het is bovendien minder belastend en geeft minder risico voor de patiënt dan catheterisatie.

sturen maakt men daarom het beste gebruik van een dip-slide, bijvoorbeeld Urotube of Uricult (zie 'Verstandig 'in huis' BO')

Feces

In feces komen van nature grote hoeveelheden micro-organismen voor ($>10^{10}$ bacteriën per g). Uit deze overmacht aan normale flora moeten de eventuele pathogenen worden geïsoleerd. Het is daarom van belang dat het monster representatief is voor de inhoud van de darm. Een rectaal genomen monster is ideaal. Als de feces bloed en/of slijm bevat zijn deze gedeelten het meest geschikt voor het BO. Bij feces wordt o.a. naar Salmonella gezocht en daarvoor moet ook worden opgehoopt. Voor een zinvolle ophoping is minimaal 5-10 g feces nodig. Fecesmonsters op swabs zijn dus ongeschikt. Verder is de versheid van de fecesmonsters van belang i.v.m. de betrouwbaarheid van een negatief BO. Fecesmonsters moeten in steriele, goed afsluitbare containers worden opgestuurd, maximaal voor driekwart gevuld i.v.m. gasproductie. Een éénmalig negatief onderzoek op Salmonella sluit salmonellose zeker niet uit! Als de klinische verschijnselen sterk wijzen op een infectieuze oorzaak en het eerste BO negatief was, kan herhaling van het BO zinvol c.q. noodzakelijk zijn. Uit onderzoek bij paarden is namelijk gebleken dat het aantal Salmonella-positieven toeneemt als men meerdere mestmonsters van een patiënt onderzoekt. Afgaande op een éénmalig mestmonster wordt bij 50 % van de paarden met klinische salmonellose, de diagnose gemist. Daarom verdient het aanbeveling om bij paarden verdacht van klinische salmonellose, minstens drie mestmonsters af te nemen en bij verdachte dragers minstens vijf. Het interval tussen de afname van de mestmonsters kan voor klinische zieke paarden 24 uur zijn en voor dragers minimaal één week. Niet alleen bij verdachte dragers, maar ook bij lijders kan men de Salmonellae soms alleen via ophoping aantonen. 69 % van de Salmonella-positieve mestmonsters van paarden met klinische salmonellose bleek alleen positief na ophoping in seleniet. Paarden waarbij Salmonellae alleen via ophoping werden gevonden, bleken geen betere prognose te hebben dan paarden waarbij uit de feces direct

Salmonellae werden geïsoleerd. Dit geldt in grote lijnen ook voor hond en kat.

Huid

Bij huidontstekingen met epitheeldefecten is er vaak sprake van sterke 'begroeiing' met secundaire kiemen die in feite profiteren van de gewijzigde toestand. Het beste wordt dan getracht enig vocht uit te knijpen en met een swab op te nemen. Bij diepe wonden wordt, bij voorkeur met spuit en naald, wat wondvocht/pus opgezogen. Voor gesloten pustels en abscessen geldt: indien mogelijk na desinfectie van het oppervlak vocht/pus uit de dikte aspireren, anders pus uitknijpen en opnemen met swab. Wondvocht/pus kan na het verwijderen van eventuele luchtbellen in een luchtdicht afgesloten spuit worden opgestuurd om zowel aëroob als anaëroob te kunnen kweken. Swabs kunnen het beste in een kokertje met transportgel worden verzonden. Bij paarden verdacht van dermatofilose kan men het beste een pluk haar met korstmateriaal opsturen. Indien dergelijk onderzoek wordt gewenst, moet men dat wel aangeven omdat de kweek van Dermatophilus een speciale procedure en media vergt.

Cerumen

Het is belangrijk dat het materiaal met een swab zo diep mogelijk uit de gehoorgang wordt afgenomen, eventueel na verwijdering van excessief cerumen. De swab wordt het beste opgestuurd gestoken in een zogenaamde transportgel. Bij otitis externa kan een Gram-preparaat belangrijke informatie geven; een extra 'droge (zonder gel)' swab is daartoe wenselijk.

Keel

Vanwege de daar aanwezige flora, geven monsters uit het keelgebied vaak moeilijk te interpreteren resultaten. Veel of overwegende groei van bepaalde pathogene kiemen kan niettemin klinisch relevant zijn. Een swab van het aangegetaste slijmvlies gestoken in een transportgel vormt een bruikbaar monster.

Diepere luchtwegen

Voor de diagnostiek van infecties van de diepere luchtwegen zijn monsters van neus-uitvloeiing of keeluitstrijkjes ongeschikt.

Monsterneming van de diepere luchtwegen gebeurt via een lokaal spoelsel dat op verschillende manieren kan worden verkregen; de transtracheale benadering geeft meestal de minste kans op contaminatie. Veel commensalen in bek, neusgangen en farynx moeten, wanneer zij diep in de trachea worden gevonden, als pathogeen worden beschouwd. Bij een bemonstering via bronchoscopie kunnen die ook als contaminant mee naar binnen zijn gekomen. Dit maakt de interpretatie van het BO moeilijk en afhankelijk van de wijze waarop het monster is verkregen.

Bij de tracheaspoeling (paard) wordt de trachea ongeveer halverwege de hals in de middenlijn gepuncteerd. De huid wordt eerst geschoren en gedesinfecteerd. Dan wordt, na lokaal-anesthesie en eventueel een kleine huidsnede, een canule tussen twee trachearingen door in de trachea gebracht. Via de canule schuift men nu de spoelcatheter in de trachea. Vervolgens wordt 20-100 ml fysiologische zoutoplossing ingebracht (afhankelijk van de grootte van het paard) en probeert men zoveel mogelijk vloeistof weer terug te zuigen.



(afb. 2). Voorbeelden van uteruslijmmonster-apparaten voor éénmalig gebruik

Vagina (hond)

Materiaal uit de vagina van de teef kan het beste met behulp van een spreidspeculum uit het meest craniale deel van de vagina worden afgenomen met een swab (met een transportgel).

Uterus (paard)

Uterusmonsters moeten liefst worden genomen als de merrie in oestrus is.

Na het bandageren van de staart en het reinigen en weer drogen van vulva en omgeving kan men beginnen met de monsterneming. Hiervoor kan een gesteriliseerd Knudsenapparaat of een disposable slijmmonsterapparaat (bijv. Accu-CulShure®, InstruVet) worden gebruikt. De monsterneming kan het beste gebeuren met behulp van een speculum. Het speculum moet gladgemaakt worden met een geringe hoeveelheid glijmiddel zonder desinfectans. Nadat het speculum en de buislamp zijn ingebracht, wordt het slijmmonster-apparaat door de cervix tot in de uterus geschoven. Hierna kan de buislamp worden verwijderd en het monster wordt genomen door het slijmmonster-apparaat uit te schuiven en in de uterus te laten bewegen. Dan wordt het apparaat weer gesloten alvorens het uit de uterus terug te halen. Voordelen van deze methode zijn de hygienische manier van werken en het verkrijgen van extra informatie via het vaginoscopisch beeld.

Een andere manier is het inbrengen onder manuele begeleiding. Hierbij kan men het beste over de exploratiehandschoen nog een steriele operatiehandschoen dragen. De rug van de hand wordt gladgemaakt met een weinig glijmiddel. Men neemt het uiteinde van het slijm-apparaat in de handpalm en brengt het beschermd in de vagina tot voor de cervix. De vingers omsluiten de cervix en het slijmmonster-apparaat wordt naar binnen gebracht. Men mag niet met de vingers in de cervix gaan. Het monster wordt dan genomen als bij de speculum-methode. Deze methode is makkelijk uitvoerbaar maar heeft een groot risico op contaminatie en de informatie van het vaginacopisch beeld ontbreekt.

Clitoris en vestibulum vaginae bij het paard

Clitoris- en vestibulum vaginae-monsters worden voornamelijk genomen ten behoeve van C.E.M.-onderzoek bij het paard. Hiervoor wordt verwezen naar het C.E.M.-protocol.

Sperma (hengst)

Met behulp van een kunstschede kan sperma worden gevangen, waarna een monster van het onverdunde sperma voor BO kan worden opgestuurd. Eventueel kan daarnaast ook nog een monster van het verdunde sperma worden ingezonden om de kwaliteit van de verdunner

te testen. Voor de bemonstering van hengsten in het kader van C.E.M.-onderzoek wordt verwezen naar het C.E.M.-protocol.

Bloed

Bloed voor BO kan (theoretisch) het beste worden afgenomen vóór het bereiken van de koortspiek. In de praktijk is dit moment na-



(afb. 3). Flesjes voor de kweek van bloed en punctaat. Helder: geen groei van bacteriën. Troebel: groei van bacteriën.

tuurlijk nooit te voorspellen. De venepunctie moet gebeuren na scheren en onder strikt aseptische techniek, liefst met operatiehandschoenen aan. Het is niet verstandig om bloed voor BO af te nemen uit een catheter. Het beste kan men bij de afname gebruikmaken van het vacutainer-systeem en het bloed rechtstreeks opvangen in een buisje/flesje met een vloeibaar groeimedium. Als dit niet mogelijk is, kan het bloed worden afgenomen met een spuit en na desinfectie van de dop worden overgebracht in het vloeibare groeimedium. Aangezien dit een medium is waarin ook zeer kleine aantallen bacteriën worden gekweekt, zijn strikte aseptische technieken bij de afname essentieel. Voor bloedkweken geldt verder dat het afgenomen volume bepalend is voor de

gevoeligheid; de concentratie van bacteriën in het bloed bij patiënten met een bacteriëmie is namelijk meestal heel laag. De kans op een positieve bloedkweek neemt dan ook toe als een groter volume bloed op kweek wordt gezet. Voor hond en kat moet voor een bloedkweek minimaal 5 tot 10 ml bloed per keer worden afgenomen. Bij het paard zijn theoretisch grotere volumina nodig, maar die passen niet in de gebruikelijke buizen/flesjes voor bloedkweek. De verhouding bloed : bouillon moet namelijk ongeveer 1:10 zijn.

Het beste kan men twee of drie opeenvolgende monsters afnemen met minimaal een uur tussentijd, eventueel van verschillende punctieplaatsen. Een praktisch alternatief is twee of drie monsters uit verschillende venen op hetzelfde moment.

Synovia

Voor een gewrichtspunctie moet het gebied ruim geschoren worden en is chirurgische desinfectie gewenst. Synovia kan met een steriele spuit worden afgenomen en in een groeimedium worden overgebracht. Eventueel kan de gesloten spuit, zonder luchtballen in het punctaat, worden opgestuurd. Synovia, ingestuurd op een swab, geeft kans op miswijzingen.

Bewaren van monsters

Het is van belang dat monsters zo snel mogelijk worden ingezet of naar het laboratorium worden gebracht of gestuurd. Als het transport om de één of andere reden uitgesteld moet worden, dienen de monsters in de koelkast te worden bewaard. Uitzondering op deze regel zijn bloed in een groeimedium en liquor die bij kamertemperatuur (bloed, liquor) of bij 37°C (bloed) moeten worden bewaard. Het koelen van de monsters is van belang om de overlevingskans van de bacteriën te vergroten, maar ook om de relatieve aantallen van de bacteriën te bewaren. Dit is vooral van belang als er gekwantificeerd moet worden, zoals bij urine. De groei van contaminanten wordt bij 4°C ook geremd.

Transport van monsters

In het algemeen kan puncteerbaar materiaal het beste per punctie verzameld worden en in de luchtdicht afgesloten spuit aan het laboratorium worden aangeboden.

Bemonstering van huid en slijmvliezen gebeurt in principe met een swab (wattenstokje). Er zijn droge swabs verkrijgbaar en swabs waarvan het kokertje een gel-achtig materiaal op de bodem heeft (transportgel), waarin de kop van de swab wordt gestoken. Als het transport van de swab langer gaat duren dan enkele uren, kan men het beste gebruikmaken van een transportgel. Er zijn verschillende transportmedia in de handel, bijvoorbeeld Amies- of Stuart- transportgel, met en zonder houtskool. De gel voorkomt dat het materiaal uitdroogt (en de bacteriën afsterven) en dat er al bacteriegroei optreedt. De houtskool bevattende varianten belemmeren tot op zekere hoogte de toetreding van zuurstof, waardoor eventueel aanwezige anaërobe kiemen langer kweekbaar blijven (natuurlijk alleen zinvol als er ook anaëroob gekweekt wordt). Voor de meeste BO's is een swabje met Stuart- of Amies-gel adequaat. Daar waar een Grampreparaat waardevolle extra informatie kan geven (bijvoorbeeld bij otitis externa of pus uit een abces) is het wenselijk om ook nog een droge swab te nemen.

Voor de kweek en/of het transport van urine zijn speciale dip-slides te verkrijgen (Uricult of Urotube) (afb. 6). Dit zijn potjes met een schroefdop waaraan een platte schijf vastzit. Op beide kanten van deze schijf zit een agar gegoten. Op één van deze agars groeien zowel Gram-positieve als Gram-negatieve microorganismen, de andere is selectief voor Gram-negatieve staven. Er zijn ook versies met nog een selectieve agar voor b.v. *Pseudomonas aeruginosa* of *E. coli*. De dip-slides worden geïnoculeerd door ze in de urine in het potje te dopen, daarna de urine weg te gooien en vervolgens de schroefdop-slide weer op het potje te plaatsen. Daarna wordt de dip-slide in de broedstoof geplaatst of verzonden. Apart meesturen van een buisje met een paar ml 'losse' urine maakt het doen van een Gramkleuring op het sediment mogelijk (extra informatie).

Monstergegevens en anamnese

Het is absoluut noodzakelijk dat zowel het monster als de bijgaande aanvraag-/inzendbrief duidelijk zijn geïdentificeerd. Alle containers moeten zijn voorzien van een label met

de benodigde gegevens (minimaal naam praktijk en patiënteigenaar).

Het aanvraagformulier bevat gegevens over

het monster:

aard van het materiaal;

datum van afname;

wijze van afname (essentieel bij o.a. urine).

de patiënt:

diersoort, evt. ras, geslacht; leeftijd;

naam + naam eigenaar.

de aanvrager:

naam en adres;

en/of: relatienummer.

de anamnese:

klinische verschijnselen;

eventuele behandelingen en wanneer;

specifieke pathogenen waaraan eventueel gedacht wordt.

Deze gegevens zijn niet alleen maar van administratief belang; ze zijn essentieel voor de kwaliteit van het kweekresultaat, de interpretatie en het behandeladvies!

Verschillende materialen van verschillende diersoorten vragen elk om een specifieke benadering bij BO. Als de aanvrager denkt dat het materiaal pathogenen bevat die een bijzonder gevaar opleveren voor het laboratoriumpersoneel (bijvoorbeeld *Mycobacterium tuberculosis*) moet dit op het aanvraagformulier worden vermeld. Het laboratoriumpersoneel kan dan vóór het uitpakken van het monster extra maatregelen nemen om zich te beschermen tegen besmetting. Om verwisseling van monsters te voorkomen is het verstandig deze altijd direct na afneming te identificeren.

Verzenden

Voor het verzenden van diagnostische monsters gelden veiligheidseisen. Deze eisen zijn vastgesteld door o.a. TNT Post op basis van UN-regelgeving (verpakkingsinstructie P650). Correct verpakte zendingen kunnen gewoon in de brievenbus of aan een courier worden meegegeven.

Toegestane verpakkingen voor postzendingen hebben het predikaat 'TNT Post toegelaten'. Naast deze tekst dient tevens de tekst

‘Diagnostisch monster’ en ‘UN3373’ goed leesbaar te zijn aangebracht op de buitenzijde van de verpakking. Zendingen, die niet aan deze eisen voldoen, worden geweigerd. Kant en klare toegestane verpakkingen in brievenbusformaat zijn te verkrijgen bij o.a. Carepack, Klinipath, Minigrip en Transposafe.

Bij vloeibaar materiaal moet de verpakking uit drie lagen bestaan: primair een container liefst van kunststof. Daaromheen een barrière van absorberend materiaal, dat de gehele vloeistof moet kunnen opnemen in geval van breuk of lekkage. Als derde laag een secundaire verpakking, die lek- en luchtdicht moet zijn (sealbag). De primaire of de secundaire verpakking moet bovendien een luchtdrukverschil kunnen weerstaan van minimaal 0,95 atmosfeer (0,95 kPA). Hieromheen moet een buitenverpakking. Het geheel moet een val van 1,2 meter kunnen doorstaan. TNT Post stelt bovendien de eis dat de verpakking bestand moet zijn tegen doorboring. In het geval van verzending van droog/vast diagnostisch materiaal kan het absorberend materiaal achterwege blijven en vervalt de 0,95 kPA eis. Algemeen geldt dat materiaal in steriele containers moet worden verzonden. Deze moeten goed afsluitbaar zijn en niet lekken. Containers nooit tot aan de rand vullen, maar maximaal voor driekwart i.v.m. eventuele gasvorming. Correct afgenomen monsters voor BO behoeven meestal geen koeling tijdens transport.

Het laboratoriumresultaat

BO en antibiogram (ABG)

Het resultaat van het BO vermeldt in principe de kiemen die op grond van bepaalde overwegingen als relevant worden beschouwd; een kweek levert in veel gevallen natuurlijk ook groei van contaminanten op. Het bepalen van wat relevante en wat niet-relevante groei (contaminanten) is, vereist kennis en ervaring. De kolonies, waarvan op grond van aantal en morfologie wordt verondersteld dat zij relevant kunnen zijn, worden nader getypeerd. Als daaruit blijkt dat het onder de gegeven omstandigheden inderdaad potentieel pathogene kiemen (zie tabel) betreft, zal in de meeste gevallen een antibioticum-gevoeligheidsbepaling (ABG) worden gedaan, tenzij de gevoeligheid voorspelbaar is, zoals

bij *Arcanobacterium* (voorheen *Actinomyces*) *pyogenes*.

Gevoeligheidsbepaling

Er zijn verschillende methoden voor de gevoeligheidsbepaling. Bij de agar-verdunningsmethode en de vloeistof-verdunningsmethode gebruikt men een standaard inoculum van de bacteriën die men toevoegt aan een antibioticum-verdunningsreeks in buizen (vloeistof-verdunningsmethode) of vaste voedingsbodems (agar-verdunningsmethode). Men be-



(afb. 4) Voorbeeld van een ABG met de agar-diffusiemethode. Het roodoranje tabletje is een sneltest op \square -lactamase-vorming, hier positief. Let op de geleidelijke overgang in de rand van de remzone rond de vlakbij liggende tablet met penicilline.

paalt zo de minimaal remmende concentratie (MRC). De verdunningsmethoden zijn weliswaar nauwkeurig, maar ook bewerkelijk. Daarom is de gangbare methode voor de routine-diagnostiek de zogenaamde agar-diffusiemethode. Hierbij wordt een agarplaat bestreken met een gestandaardiseerde bacteriesuspensie van een reïncultuur en op het oppervlak worden met antibiotica geïmpregneerde papierschijfjes of tabletten gelegd. Deze plaat wordt 16-18 uur bij 37°C bebroed en daarna afgelezen. Het antibioticum diffundeert vanuit de tabletten in de agar (diffusiegradiënt), terwijl de bacteriën beginnen te groeien. Tot aan de laagste effectieve concentratie wordt de groei geremd. Hoe gevoeliger de onderzochte bacterie, des te gro-

ter dus de remzone rond het schijfje zal zijn. De grootte van de remzone wordt mede bepaald door de concentratie van de bacteriesuspensie, de samenstelling van het medium, de dikte van de agarlaag, de pH, de duur van incubatie, de temperatuur en natuurlijk de hoeveelheid antibioticum in de tabletten/schijfjes. Het is dus van groot belang om een gevoeligheidsbepaling onder gestandaardiseerde omstandigheden uit te voeren, omdat de resultaten anders volstrekt onbetrouwbaar zijn. Een gevoeligheidsbepaling is alleen betrouwbaar indien volgens de regels uitgevoerd.

Een andere gevoeligheidstest is de E-test. Dit is een kunststofstrip die aan één kant is voorzien van een antibioticumgradiënt en aan de andere kant is bedrukt met een MRC-schaal, waarop de verschillende concentraties van het antibioticum staan aangegeven. De strip wordt op een met de te testen bacterie beënt medium gelegd. Na bebroeden is de MRC eenvoudig aan de hand van de remzone op de schaalverdeling af te lezen. Deze test is ook in de praktijk gemakkelijk uitvoerbaar en de resultaten zijn betrouwbaar. Helaas is de E-test aanzienlijk duurder dan de agar-diffusiemethode en daardoor niet geschikt voor routinematige toepassing.

Interpretatie

Agar-diffusiemethode

Na de incubatie is bij een gevoelige bacterie rondom het schijfje/tablet een zone te zien waarin de bacterie niet tot groei is gekomen, de zogenaamde remzone. De diameter van deze remzone wordt gemeten en aan de hand van tabellen wordt de bacterie als gevoelig (S van sensitief), matig gevoelig (I van intermediair) of resistent (R) voor het geteste middel gekenmerkt. De remzone correspondeert met de laagste concentratie van het antibioticum waarbij de kiem niet wil groeien (de MRC = minimaal remmende concentratie, beter bekend als MIC = minimum inhibitory concentration). Aan de hand van de antibioticumconcentratie die in vivo na normale dosering in plasma zou kunnen worden bereikt (meestal bij gezonde mensen of dieren bepaald!) worden door een landelijke commissie de zogenaamde kritische antibioticumconcentraties afgesproken, die vervolgens worden vertaald in de kritische remzones in het ABG. De fa-

brikanten van de testtabletjes/schijfjes geven zelf ook tabellen met kritische remzones uit, die overigens weinig afwijken van de landelijk afgesproken kritische remzones. Bovendien zijn er ook Europese richtlijnen voor de beoordeling van gevoeligheidstesten.

Is de bij het ABG gevonden remzone groter of gelijk aan de kritische waarde, dan wordt de kiem als sensitief (S) voor het betreffende antibioticum beschouwd. Is de gevonden waarde een beetje kleiner (enkele mm) dan is de uitslag intermediair (I). Is de remzone nog kleiner of zelfs geheel afwezig, dan is de kiem resistent (R) voor het antibioticum. Uit het bovenstaande volgt dat, met uitzondering van de situatie zonder groeiremming, de op deze wijze bepaalde gevoeligheid in werkelijkheid geen zwart-wit situatie is.

E-test

Het punt waar de ellipsvormige remzone de strip raakt is de MRC-waarde.

Antibioticumpanelen

In het laboratorium bepaalt men de gevoeligheid van een bacterie voor een beperkt aantal antibiotica. De keuze van deze antibiotica hangt in eerste instantie af van de aard van de bacterie en het materiaal waaruit deze werd gekweekt. Ieder antibioticum heeft een bepaald antimicrobieel werkingsspectrum en bepaalde, soms diersoortgebonden, klinische toepassingsmogelijkheden. Bovendien zijn er registratiebeperkingen. Dit leidt ertoe dat voor bepaalde kiemen en bepaalde indicaties specifieke antibioticumpanelen worden samengesteld, om zodoende per kiem en situatie de meest relevante antibiotica te testen. De samenstelling van de antibioticumpanelen is gebaseerd op een reeks van afwegingen, waaronder verstandig antibioticumgebruik, en is derhalve altijd een compromis.

Keuze van het antibioticum voor behandeling

In eerste instantie zal men kiezen uit de als S geteste antibiotica. De als I geteste antibiotica komen pas in tweede instantie aan bod, eventueel in een hogere dosering. Voor lokale toepassing, bijvoorbeeld als oorzalf, vormen de I geteste antibiotica meestal nog wel een goede keus. De uiteindelijke keuze uit de als S geteste antibiotica is afhankelijk van vele fac-

toren zoals diersoort (er kunnen antibiotica als S worden afgegeven die voor de betreffende diersoort toxisch zijn), leeftijd (sommige antibiotica kunnen bij jonge dieren niet worden toegepast vanwege bijwerkingen, o.a. tetracycline en quinolonen), ras, farmacokinetiek (het antibioticum moet voldoende doordringen op de plaats van infectie), toxiciteit, registratie, toedieningswijze en 'last but not least' de kosten.

Als de klinische toestand van de patient erom vraagt of als de ingestelde laboratoriumdiagnostiek aangeeft dat er sprake is van een relevante bacteriële infectie kan/moet een therapiekeuze worden gemaakt. Die keuze is dan afhankelijk van:

- kennis van de farmacokinetiek en alle factoren die hierop van invloed zijn;
- kennis van de toxiciteit en bijwerkingen en alle factoren die hierop van invloed zijn;
- kennis van klinische effectiviteit door klinische ervaring of klinische effectiviteitsstudies;
- beleidsmatige aspecten (b.v. formularium, resistentie-ontwikkeling, toedieningswijze, wachttijden);
- kosten.

Gelukkig zijn er formularia die het maken van de keus vereenvoudigen. Deze formularia worden met enige regelmaat door deskundigen bijgewerkt.

Opmerking

Bacteriële infecties zijn vaak secundair. De meeste pathogene bacteriën zijn normaal op of in de directe omgeving van het dier aanwezig. Pas als de normale, gezonde situatie verstoord is geraakt, kunnen bacteriën daar gebruik van maken en zich vestigen op plaatsen waar ze niet thuishoren en/of zich vermeerderen tot abnormaal grote aantallen. Vervolgens kunnen zij de verstoring instandhouden. In veel gevallen is de oorzaak van de primaire verstoring niet meer te achterhalen. Bij het recidiveren van de klachten, ondanks behandeling met een geschikt antibioticum in de juiste dosering (m.b.t. gevoeligheid, farmacokinetiek, klinische effectiviteit), dient men zich altijd af te vragen of er een primaire oorzaak aanwezig

is (die gunstige omstandigheden schept voor de secundaire bacteriële infectie). Men moet dan denken aan bijv. tumoren, corpora aliena, aangeboren afwijkingen, immunodeficiënties, virale infecties of anatomische afwijkingen. Het niet isoleren van pathogene micro-organismen houdt niet altijd in dat er geen bacteriële infectie in het spel is. Sommige bacteriën worden intermitterend uitgescheiden en bacteriën kunnen afsterven na de afname van het monster, of overgroeid worden door contaminanten. Bovendien kunnen al antibiotica zijn toegediend of het kan zijn dat de pathogene bacteriën zeer speciale eisen stellen aan de voedingsbodem (b.v. Mycoplasma's, spirochetten). Het herhalen van het BO en/of het specificeren van vraagstelling kan dan nuttig zijn. Verder moet men zich altijd blijven realiseren dat een ABG een in vitro bepaling is met een aantal beperkingen; in vivo kan de situatie anders zijn. Deze beperkingen kunnen op twee manieren tot uiting komen:

- 1) de bacterie is gevoelig (S) voor het gebruikte antibioticum, maar de therapie helpt niet of er treedt een recidief op na het stoppen van de therapie. Hiervoor zijn verschillende mogelijke oorzaken, zoals onvoldoende hoge spiegels van het antibioticum op de plaats van infectie, lage biologische beschikbaarheid, intracellulaire bacteriën, verkeerde bacterie verantwoordelijk gehouden, het toedienen van antagonistische medicijnen, te korte therapieduur, geringe therapietrouw van de cliënt, de aanwezigheid van predisponerende factoren, zoals abscessen, stenen, tumoren, corpora aliena, immuundeficiëntie of de aanwezigheid van verscheidene verwekkers met verschillende gevoeligheid.
- 2) de gevonden bacterie is ongevoelig (R) voor het gebruikte antibioticum, maar

Niet aantonen van een kiem bij een correct uitgevoerd BO in een correct genomen monster, betekent nooit dat de kiem niet in de patiënt aanwezig is. Eén van de oorzaken is dat kiemen zoals Salmonella, intermitterend kunnen worden uitgescheiden.

de therapie met dit antibioticum werkt in vivo wèl. Ook hiervoor zijn verschillende verklaringen: de eigen afweer van de patiënt werkt ook mee, verkeerde bacterie geïsoleerd of verantwoordelijk gehouden, concentraties lager dan de MIC remmen de bacteriegroei ook wel, of verkeerde diagnose gesteld.

Concluderend kan worden gesteld dat BO en ABG waardevolle hulpmiddelen zijn bij de keuze van een antibioticumtherapie, mits men de beperkingen ervan in gedachten houdt.

Voor- en nadelen en (on)mogelijkheden van 'in huis' bacteriologie

Twee veelgehoorde argumenten voor de 'in

De meest voorkomende potentieel pathogene bacteriën

	Hond/Kat	Paard
Cystitis/nefritis	<i>E. coli</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i> <i>E. coli</i> <i>Actinobacillus equuli</i>
Enteritis	<i>Salmonella spp.</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>E. coli (pups/kittens)</i> <i>Clostridium perfringens</i>	<i>Salmonella spp.</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>E. coli (veulens)</i> <i>Rhodococcus equi</i>
Pyodermie/dermatitis	<i>Staphylococcus intermedius</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Dermatophilus congolensis</i>
Otitis externa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>gisten</i>	n.v.t.
Kerato-conjunctivitis	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas spp.</i>
Rhinitis	<i>Staphylococcus intermedius</i> hemolytische streptokokken <i>Pseudomonas spp.</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
Sinusitis	anaëroben	<i>Streptococcus spp.</i> Anaëroben
Laryngitis	<i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>E. coli</i> <i>Pasteurella spp. (kat)</i>	n.v.t.
Tracheo-bronchitis	<i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Klebsiella spp.</i> hemolytische streptokokken	<i>Streptococcus spp.</i> <i>Bordetella bronchiseptica</i>

Pneumonie	Gram-negatieve staven anaëroben	<i>S. equi zooepidemicus</i> <i>S. equi equi</i> <i>Rhodococcus equi (veulens)</i> <i>Actinobacillus equuli</i>
Pleuritis	anaëroben	hemolytische streptokokken <i>Pasteurella spp.</i> <i>E. coli</i> <i>Actinobacillus spp.</i>
Vaginitis	<i>E. coli</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Pasteurella spp.</i> hemolytische streptokokken	n.v.t.
Metritis, pyometra	<i>E. coli</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Staphylococcus spp.</i> anaëroben	<i>Streptococcus spp.</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>E. coli</i> <i>Staphylococcus spp.</i> Gisten
Balanopostitis	allerlei, vaak anaëroben	<i>Pseudomonas spp.</i> <i>Klebsiella spp.</i>
Anaalzakontstekingen	<i>E. coli</i> <i>Proteus spp.</i> anaëroben	n.v.t.
Septische arthritis	<i>Streptococcus spp.</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>E. coli</i> anaëroben	<i>E. coli</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Actinobacillus equuli</i>
Gesloten abcessen	anaëroben	<i>Streptococcus spp.</i> Anaëroben
Osteomyelitis	<i>Staphylococcus intermedius</i> <i>E. coli</i> <i>Streptococcus spp.</i> anaëroben	<i>Salmonella spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Actinobacillus spp.</i> <i>E. coli</i>

huis' bacteriologie zijn de tijdwinst en de kosten. Wat de tijdwinst betreft kan men één dag in tijd winnen omdat de monsters niet verzonden hoeven te worden. Dit is echter alleen voor spoedeisende monsters van belang. De meeste monsters die geschikt zijn voor de 'in

huis' bacteriologie zijn echter niet zo spoedeisend. Ten aanzien van het kostenaspect moet men zich realiseren dat een goed uitgevoerd BO veel tijd (en dus geld) kost. Volgens de ARBO-wet mogen laboratoriumwerkzaamheden alleen door daartoe gekwalificeerde

personen worden uitgevoerd. In de meeste gevallen zal dit een dierenarts zijn. Bovendien moet men ook de kosten van het laboratorium, de inrichting en de benodigde materialen meerekenen. Deze materialen zijn voor een deel slechts kort houdbaar en moeten dus tijdig worden vervangen. Als men al deze kosten meerekent blijkt dat de 'in huis' bacteriologie financieel niet aantrekkelijk is. Bovendien



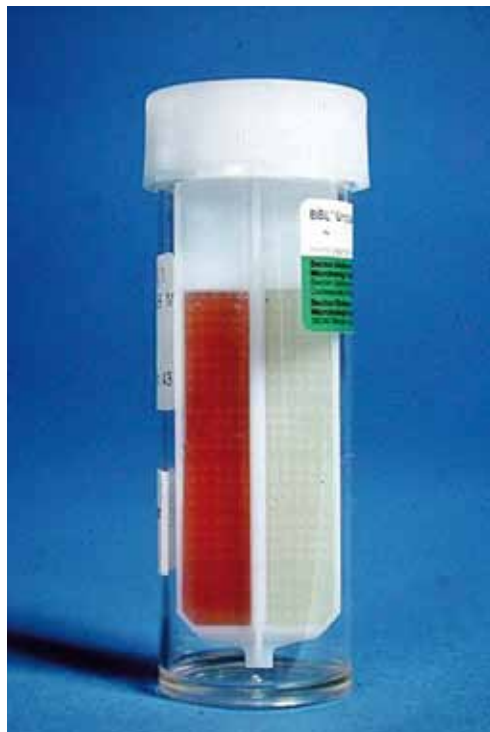
(afb. 5) het veel gebruikte systeem voor bacterie-identificatie (API) dat een heel aantal biochemische eigenschappen van een bacterie-isolaat in één keer bepaalt. De reacties resulteren in een cijfercode die correspondeert met een bepaalde species (hier dus drie verschillende).

zal door het grote aantal mogelijke verwekkers en de specifieke eisen die sommigen aan voedingsbodem en incubatieomstandigheden (micro-aërofiel/anaëroob) stellen, het correct uitvoeren van het BO voor veel monsters in de praktijk simpelweg niet haalbaar zijn. Voor de typering/identificatie (die weer van belang is voor de beoordeling) van een aantal veterinair relevante kiemen, kan men overigens, net als in reguliere laboratoria, gebruikmaken van commerciële systemen zoals API. Voorts is voor het beoordelen van 'wat normale kiemen in normale aantallen' voor alle mogelijke monsters ervaring vereist. Kortom, voor de 'in huis' bacteriologie is het verstandig om zich te beperken tot die monsters waarbij het aantal mogelijke verwekkers klein is en waarbij aërobe incubatie voldoende is, zoals urinemonsters en pyodermiemonsters van hond en kat.

Kwaliteitsborging

Als er in een dierenartsenpraktijk laboratoriu-

umwerkzaamheden worden verricht, brengt dit een aantal verplichtingen met zich mee. Er moeten eisen worden gesteld aan de inrichting van het laboratorium, de afvalverwerking van gecontamineerd materiaal, de opleiding van het personeel, de veilige microbiologisch techniek (VMT), de kwaliteit van het BO en de registratie van laboratoriumuitslagen. Als men besluit zelf BO uit te voeren, moet dit kwalitatief goed gebeuren. Het niet goed uitvoeren of interpreteren van het BO kan de patiënt schaden. In het kader van Good Veterinary Practice (GVP) en Good Laboratory Practice (GLP) worden hoge eisen gesteld. Kwaliteitsborging is ook noodzakelijk in het kader van eventuele praktijkcertificering; men zal moeten aantonen dat e.e.a. correct verloopt, bijvoorbeeld door deel te nemen aan zogenaamde rondzendingen en door regelmatig duplomonsters naar erkende laboratoria te sturen. Voor het laboratoriumwerk in Nederland krijgt men te maken met de Arbeidsomstandighedenwet



(afb.6) Uricult/Urotube dipslide voor 'in huis' urine BO. Ook zeer geschikt als transportmiddel voor urine; voorkomt misleidende transportgroei.

(ARBO-wet), de Wet Milieuhygiëne en het Besluit Biologische Agentia.

Verstandig 'in huis' BO

Urinemonsters

Urinemonsters zijn bij uitstek geschikt voor de 'in huis' bacteriologie. Bij het BO van urinemonsters zijn twee aspecten van belang: het kiemgetal en de kiem.

De meest eenvoudige en efficiënte methode van urine-onderzoek is het beënten van een dipslide (Urotube of Uricult). Na het overnachten bebroeden bij 37°C kan men meteen zien of er wel of geen groei is. Indien er geen groei is, wat bij cystocentesismonsters vaak voorkomt, is men snel en goedkoop uit (N.B.: bij katten is het merendeel van de cystitiden steriel!). Door het vergelijken van de groei op de voedingsbodem met de afbeelding op de bijsluiting kan het kiemgetal semi-kwantitatief worden bepaald. Als er groei is op de Uricult/Urotube kan men dat verder zelf uitwerken, of men kan de dipslide alsnog opsturen voor identificatie van de kiem(en) en ABG.

Men kan ook twee platen beënten, een MacConkey en een bloedplaat. Als het monster met een gestandaardiseerde oese wordt geënt, kan het kiemgetal worden bepaald. De identificatie van de kiem(en) is meestal niet zo moeilijk gezien het beperkt aantal mogelijke verwekkers.

Pyodermiemonsters

Bij de hond is in bijna alle gevallen van pyodermie *Staphylococcus intermedius* betrokken. Deze is makkelijk te isoleren en te bevestigen d.m.v. de katalase- en de coagulase-reactie. Alle stafylokokken zijn katalase-positief en de pathogene soorten zijn ook coagulase-positief. Het uitvoeren van het ABG is betrekkelijk eenvoudig. Bij het aflezen ervan moet men echter bedacht zijn op β -lactamasevorming. Dit enzym inactiverend penicilline en ampicilline (betalactam antibiotica) en is een belangrijk resistentiemechanisme van o.a. stafylokokken. Deze resistentie komt niet altijd tot uitdrukking in een kleine remzone; er is dus kans op foutieve beoordeling. Er zijn twee praktische methoden om de betalactamasevorming op te sporen. De ene methode is 'op het oog' en de tweede methode berust op een sneltest. Bij de 'op het oog' methode

moet men goed letten op de overgang van de remzone van groei naar geen groei. Als deze overgang scherp is en de kolonies in deze overgangszone allemaal even groot zijn (omdat hun celwand nog intact is), vormt de stafylokok betalactamase. Als de overgang meer geleidelijk is en de kolonies steeds kleiner en vlakker worden alvorens helemaal geen groei meer optreedt, wordt er geen betalactamase gevormd. De andere methode is het bepalen van de betalactamase-productie met een sneltest (Cefinase® disks, Becton Dickinson). Als de disk van geel naar rood verandert, vormt de geteste bacterie betalactamase (afb. 4). In vivo wordt het enzym geïnactiveerd door clavulaanzuur, waardoor zulke kiemen dan toch gevoelig zijn voor amoxicilline in combinatie met clavulaanzuur. De meeste cefalosporinen (ook betalactam antibiotica) zijn overigens niet gevoelig voor het enzym. Een ander probleem is het voorkomen van meticilline-resistente stafylokokken (MRS). Deze zijn in vivo resistent voor alle betalactam antibiotica en vaak ook voor andere groepen antimicrobiële middelen. Bij een isolaat dat in vitro resistent is voor cefalosporinen of een ander afwijkend resistentiepatroon vertoont, moet men altijd beducht zijn op MRS. De definitieve vaststelling gebeurt aan de hand van een PCR op het *mecA*-gen.

Een Gram-preparaat van cerumen (b. v. veel gisten), feces (b. v. Campylobacters) en urine (b. v. geen bacteriën) kan snel klinisch relevante informatie opleveren.

Het Mycologie Gamma van Janssen Animal Health:

SYSTEMISCHE BEHANDELING

Itrafungol®



- Antimycoticum voor dermatofytose bij de kat
 - Orale oplossing
- Snelle mycologische genezing
- Uitstekend veiligheidsprofiel

LOKALE BEHANDELING

Imaverol®



- Enilconazol: actief tegen gisten en schimmels
 - Goede adhesie aan huid en haren
 - Wachttermijn: 0 dagen
 - Doelwier: hond, rund en paard



LOKALE BEHANDELING

Surolan®



- Synergetische werking tegen Gram + en Gram - bacteriën
- Krachtige antifungale werking
- Effectief tegen oormijten
- Ontstekingsremmend

DIAGNOSEKIT*

Fungassay®



- Cultuurmedium voor klinische monsters
- Eenvoudig uit te voeren in de praktijk
- Resultaat binnen 1 tot 14 dagen

* alleen verkrijgbaar in Nederland

Itrafungol®

Itrafungol, 10 mg/ml orale oplossing voor katten; **indicaties:** Behandeling van dermatofytose veroorzaakt door *Microsporum canis*; **contra indicaties:** Niet toedienen aan katten die overgevoelig zijn voor itraconazol of één van de andere ingrediënten. Niet toedienen aan katten met een verstoorde lever-of nierfunctie. Niet gebruiken bij zwangere of zogende katten. **Bijwerkingen:** In klinische studies werden bepaalde bijwerkingen die mogelijk gerelateerd zijn aan de toediening van het product genoteerd. De meest voorkomende bijwerkingen waren braken, diarree, anorexie, speekselen, depressie en apathie. Deze effecten zijn gewoonlijk mild en van voorbijgaande aard. Een kortstondige toename van leverenzymen kan voorkomen. In zeer zeldzame gevallen wordt dit geassocieerd met icterus. In dergelijke gevallen moet een behandeling worden onderbroken. Indien u ernstige bijwerkingen of andersoortige reacties vaststelt die niet in deze bijsluiting worden vermeld wordt u verzocht uw dierenarts hiervan in kennis te stellen. **Dosering en toediening:** De oplossing wordt rechtstreeks oraal toegediend in de bek met een doseerspuit. De dagelijkse dosis is 5 mg/kg of 0,5 ml/kg/dag. Het doseerschema is 0,5 ml/kg/dag voor 3 verschillende perioden van 7 opeenvolgende dagen, elke keer met 7 dagen zonder behandeling ertussen. **Registratienummer:** (B) 2 S 460 F 11, op diergeneeskundig voorschrift. (NL) REG NL 10220 UDA. Verdere informatie os op aanvraag beschikbaar bij Janssen Animal Health. **Houder van de vergunning:** Janssen Pharmaceutica N.V. Turnhoutseweg 30 2340 Beerse België

Imaverol®

1. Naam van het diergeneesmiddel Imaverol **2. Kwalitatieve en kwantitatieve samenstelling** Werkzaam bestanddeel: Enilconazol 100 mg per ml **3. Farmaceutische vorm** Concentraat voor emulsie voor cutaan gebruik **4. Eigenschappen**
4.1 Farmacokinetische eigenschappen Na dermale toediening op de intacte huid bij het rund wordt enilconazol weinig of niet geresorbeerd. Na orale toediening vindt er een uitgebreid first pass

metabolisme plaats. In het weefsel wordt nauwelijks residu gedetecteerd en de waarden zijn relatief het hoogst in de lever. Distributie vanuit weefsels en plasma vindt plaats met een halfwaardetijd van 12-16 uur. Enilconazol wordt uitgebreid gemetaboliseerd en de hoofduitscheidingsroutes zijn urine en feces. Excretie in de melk is zeer laag. **5. Klinische gegevens**
5.1 Doeldieren Hond, paard en rund. **5.2 Indicaties voor gebruik met specificatie van de doeldieren** Dermatomycosen veroorzaakt door: ■ *Trichophyton verrucosum* ■ *Trichophyton mentagrophytes* ■ *Trichophyton equinum* ■ *Microsporum equinum* ■ *Microsporum canis* ■ *Microsporum gypseum* ■ *Pityrosporum pachydermatis* **5.3 Bijwerkingen** (frequentie en ernst) Geen bekend. **5.4 Speciale voorzorgsmaatregelen bij gebruik** Schudden voor gebruik. **5.5 Gebruik tijdens dracht en lactatie** Imaverol kan veilig toegepast worden bij drachtige dieren. **5.6 Interactie(s) met andere geneesmiddelen en andere vormen van interactie** Niet combineren met grieseofulvine en andere middelen die de leverfunctie beïnvloeden. **5.7 Dosering en toedieningsweg** runderen Drie tot vier maal met drie tot vier dagen tussentijd de letsels behandelen met een emulsie van 0,2% werkzame stof (1 deel oplossing verdunnen met 49 delen water). Eerst eventuele korsten verwijderen. Aangeraden wordt de eerste keer het dier volledig te behandelen. paarden Vier maal met drie tot vier dagen tussentijd de letsels behandelen met een emulsie van 0,2% werkzame stof (1 deel oplossing verdunnen met 49 delen water). Eerst eventuele korsten verwijderen. Aangeraden wordt de eerste keer het dier volledig te behandelen. honden Vier maal met drie tot vier dagen tussentijd de letsels behandelen met een emulsie van 0,2% werkzame stof (1 deel oplossing verdunnen met 49 delen water). Eerst eventuele korsten verwijderen. Aangeraden wordt de eerste keer het dier volledig te behandelen. **5.8 Overdosering** (symptomen, procedures in noodgevallen, antidota) Er zijn geen symptomen van overdosering bekend. **5.9 Speciale waarschuwingen voor elk dier waarvoor het diergeneesmiddel bestemd is** Niet toedienen aan honden met een leverbeschadiging. **5.10 Wachtijd(en) rund:** wachttermijn voor melk en vlees 0 dagen paard: wachttermijn 0 dagen **6 Houdbaarheidstermijn** concentraat voor emulsie: 5 jaar. emulsie: 1 maand. **6.1 Speciale voorzorgsmaatregelen bij**

bewaren Niet bewaren boven 25 °C. Niet in de koelkast of vriezer bewaren en beschermen tegen vorst. **6.2 Speciale voorzorgsmaatregelen voor de verwijdering van het ongebruikte geneesmiddel of eventuele restanten hiervan** De nodige voorzorgsmaatregelen dienen genomen te worden opdat het product niet in het milieu terecht komt. **7. Naam of bedrijfsnaam en adres of officiële plaats van vestiging van de houder van de vergunning voor het in de handel brengen** Janssen Pharmaceutica NV, divisie Janssen Animal Health, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, België. REG NL 8608 U.R.A

Surolan®

SUROLAN® Oordruppels ter behandeling van oor- en huidinfecties bij honden en katten. **Samenstelling:** miconazolnitraat, prednisolonacetaat, polymixine B-sulfaat. **Diersoorten:** hond en kat. **Indicaties:** *otitis met name: ■ bacteriële otitis veroorzaakt door *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. *Escherichia coli*; ■ *mycotische otitis* veroorzaakt door *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp., *Candida* spp., *Malassezia pachydermatis* (*Pityrosporum pachydermatis*); ■ veroorzaakt door *Otodectes cynotis*. *huidinfecties met name: ■ bacteriële dermatitis veroorzaakt door *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. *Escherichia coli*; ■ mycotische dermatitis veroorzaakt door *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp., *Candida* spp., *Malassezia pachydermatis*. **Dosering en wijze van toediening:** *Oren:* na het reinigen van de gehoorgang, tweemaal per dag, enkele druppels Surolan in het oor aanbrengen. Om een goede verdeling van het preparaat te verkrijgen, dienen oor en gehoorgang goed gemasseerd te worden. *Huid:* tweemaal per dag worden enkele druppels Surolan op de letsels aangebracht en goed ingewreven. De behandeling moet zonder onderbreking gedurende enkele dagen na het verdwijnen van de symptomen voortgezet worden. In sommige gevallen kan een behandeling van 2 à 3 weken noodzakelijk zijn. De behandeling van *Otodectes cynotis* is 2 weken (zie indicaties). **Contra-indicaties:** geen. **Bijwerkingen:** geen. **Registratienummer België:** 2S78F12 - **Nederland:** REG NL 3153; UDA.

4. Het diagnostisch parasitologisch en protozoair onderzoek

door dr.ir. H.W. Ploeger

Met dank aan de heer B. Blankenstein, analist bij VMDC, voor bijdragen aan de tekst en het maken van de foto's (met uitzondering van Afb. 3, 6, 11, 18, 19, 30, 42, 43, 45, 52-56, 59). Ook is dank verschuldigd aan drs. E.R. Nijssen voor bijdragen aan de tekst. Dit hoofdstuk is gebaseerd op een vroegere versie geschreven door wijlen drs. J.H. Boersema.

Fecesonderzoek op wormeieren, larven en (oö)cysten

Parasieten van de maag/darmtractus, maar ook die van lever en longen, kunnen hun aanwezigheid verraden doordat ze eieren, larven of cysten produceren die met de feces worden uitgescheiden. Door het aantonen van deze stadia in fecesmonsters kan worden vastgesteld of een dier een infectie heeft en kan meestal ook worden vastgesteld welke parasiet het betreft. Fecesonderzoek is de meest gebruikte methode voor het vaststellen van parasitaire infecties. De monsters kunnen naar een daartoe gespecialiseerd laboratorium worden verzonden. Daar is de benodigde kennis en ervaring beschikbaar voor het correct determineren van wormeieren, larven en cysten. Echter, de technieken van het fecesonderzoek zijn relatief eenvoudig. Daarom kan voor veel voorkomende parasitaire infecties het zelf uitvoeren van fecesonderzoek een prima alternatief zijn, zeker indien er frequent monsters worden onderzocht en er zo ervaring kan worden opgebouwd. Het hiernavolgende kan daarbij als leidraad dienen.

Monsterneming en verzending

Een correcte interpretatie van het fecesonderzoek is alleen mogelijk als het te onderzoeken monster op de juiste manier wordt genomen, bewaard, en vervoerd/verzonden. De monsters moeten zo mogelijk rectaal zijn genomen. Van de bodem opgeraapte monsters zijn bijna altijd verontreinigd met

vrijlevende nematoden, dus ook met de eieren en larven ervan. Eieren van bodem-nematoden kunnen bijvoorbeeld erg veel lijken op *Strongyloides*-eieren (afb. 33) waarmee ze dan ook gemakkelijk verward kunnen worden. Bij paarden is het in het algemeen geen probleem om een monster rectaal te nemen. Bij onhandelbare paarden kan eventueel het bovenste deel van de kort daarvoor geproduceerde feces worden genomen. Een mesthoop die er al enkele uren ligt, is onbruikbaar omdat deze volledig is gekoloniseerd met vrijlevende nematoden. Bij honden en katten kan het monster met een thermometer of spatel worden verzameld. Aan honden- en katteneigenaren kan een monsterpotje met schepje worden meegegeven. Hierbij dient duidelijk de instructie te worden gegeven alleen het bovenste deel van de feces te nemen. Verse feces uit de kattenbak is geschikt. Kattenfeces uit de tuin of zandbak is altijd gecontamineerd met vrijlevende nematoden. Ook het onderzoek op longwormlarven met de Baermanntechniek (zie verder) geeft problemen als het monster is verontreinigd met vrijlevende nematoden. Deze zijn weliswaar goed te onderscheiden van longwormlarven, maar het zoeken van de longwormlarven wordt er door bemoeilijkt.

De monsters moeten gekoeld en zo aneroob of luchtarm mogelijk worden getransporteerd en bewaard tot het moment van onderzoek. Als ze niet aldus worden bewaard, vindt er ontwikkeling van de eieren plaats, waardoor ze niet meer herkenbaar zijn of met de gebruikelijke technieken niet meer kunnen worden opgespoord. Min of meer anaërobe omstandigheden worden bereikt door de handschoen of het zakje direct om het monster te sluiten en potjes volledig te vullen*. Zorg voor een juiste en wettelijk vereiste verpakking. Vooral protozoaire cysten en de eieren van strongyliden, spoelwormen, trematoden, *Trichuris* en *Capillaria* ondergaan verandering (ontwikke-

ling) als de monsters niet volgens voorschrift worden behandeld. Echter, zolang de bewaar- of verzendtijd onder ongekoelde omstandigheden beperkt blijft, blijven deze cysten en eieren vaak nog wel herkenbaar voor een ervaren microscopist. Als regel dienen monsters dus zo snel mogelijk te worden onderzocht of verstuurd naar een laboratorium. Vermijdt derhalve vertragingen door het weekeinde en feestdagen.

** Gebruik altijd potjes met een schroef- of klikdeksel en geen buisjes met een losse dop (afb. 1 en 2). In volledig met feces gevulde potjes vindt gasvorming plaats, wat bij opening op het laboratorium voor problemen kan zorgen (wegspatten van inhoud). Daarom verdient het de voorkeur om potjes tot maximaal 2/3 te vullen en zo een werkbaar compromis te maken tussen theorie en praktijk.*



(afb.1). Geschikte potjes voor inzending fecesmonster

Voor koppeldiagnoses moet het aantal genomen monsters representatief zijn. In het algemeen varieert de ei- en larvenuitscheiding van de individuele dieren sterk. Het aantal monsters moet daarom relatief groot zijn. Ten behoeve van 'monitoring' bij paarden kunnen ook meng- of groepsmonsters worden verzameld, hetgeen de kosten aanzienlijk kan reduceren. Hoe zulke groepsmonsters te verzamelen bij paarden is te vinden op de website www.parasietenwijzer.nl.

Als het monster voor onderzoek wordt opge-



(afb.2). Foutieve inzending fecesmonster. Potje is veel te vol en tijdens transport open gegaan.

stuurd, moeten de vraagstelling en de anamnese duidelijk worden aangegeven. Een vraag als: 'Gaarne onderzoek op wormeieren' is niet erg specifiek, omdat voor verschillende soorten parasieten verschillende technieken worden gebruikt. Wees dus zo specifiek mogelijk op het aanvraagformulier. Verzamel bovendien, indien mogelijk, voldoende feces (bij voorkeur 5 gram of meer) voor onderzoek, zodat er altijd voldoende materiaal is voor de verschillende technieken (zie verder).

Macroscopisch onderzoek

Het monster zelf kan soms belangrijke informatie verschaffen. In of op het monster kunnen parasieten of delen van parasieten aanwezig zijn. Bijvoorbeeld spoelwormen, aarsmaden, strongyliden (cyathostominae bij paard), larven van *Gasterophilus* of lintwormproglotiden. Als pseudoparasieten worden nog wel eens vliegenlarven aangetroffen. De kleur van de feces kan beïnvloed worden door parasitaire infecties. Erg donkere feces kan wijzen op bloedverlies in het begin van de darm, veroorzaakt door bijvoorbeeld *Ancylostomatidae*. Bloed op de feces wordt waargenomen bij infecties van het distale eind van de darm, bijvoorbeeld *Trichuris* infecties. Dunne ontlasting kan wijzen op een parasitaire infectie, maar kan ook andere oorzaken hebben. Een normale consistentie sluit een infectie natuurlijk niet uit.

Microscopisch onderzoek

Natief preparaat

De eenvoudigste manier om fecesmonsters te onderzoeken op de aanwezigheid van eieren en cysten is het maken en bekijken van een natief preparaat. Men gaat hierbij als volgt te werk: suspendeer 3-5 g feces in 5-10 ml (leiding)water. Giet deze suspensie over een zeef (theezeefje). De inhoud van de zeef moet altijd worden gecontroleerd op de aanwezigheid van lintwormproglottiden en andere wormen. Doe een druppel van de niet geroerde gezeefde suspensie op een voorwerpglas en leg er een dekglas op. Zoek het preparaat systematisch af op eieren onder een microscoop met totale vergroting 100x. Voor de middelgrote tot grote eieren is dit meestal voldoende. Indien gewenst of bij de kleinere eieren en protozoaire (oö)cysten kan een vergroting van 200-400x worden gebruikt ter nadere beoordeling. Als men protozoaire cysten of *Taenia* eieren verwacht en men nog weinig ervaring heeft, kan beter direct met vergroting 400x worden gezocht. De gevoeligheid van deze techniek is laag. De afwezigheid van eieren of cysten in een dergelijk preparaat zegt dan ook weinig. Om die redenen kan beter direct één van de volgende verzameltechnieken worden gebruikt.

Microscopische vergroting wordt aangegeven als bijvoorbeeld 100x of 400x. Een microscoop heeft twee lenzen, een oculair en een objectief. Bij de meeste microscopen (behalve prepareermicroscopen) kent het oculair een vergroting van 10x. Om dan een totale vergroting van b.v. 400x te krijgen, moet een objectief van 40x worden gekozen.

Sedimenteren

De dichtheid (of soortelijk gewicht) van de meeste wormeieren en protozoaire (oö)cysten ligt tussen de 1,15 en 1,20 g/cm³. In een fecessuspensie in water zullen de eieren dus zinken. Behalve de eieren bezinken er ook andere fecesbestanddelen, maar drijvende en zwevende bestanddelen en kleurstoffen raakt men op deze manier kwijt. De bovenstaande vloeistof wordt na minstens 20 minuten afgegoten of afgezogen en het sediment wordt

microscopisch onderzocht op eieren en (oö)cysten of kan verder worden bewerkt.

*Een speciale vorm van ei-onderzoek is de verzamelzeefmethode. Deze methode is vooral bruikbaar in geval de ei-uitscheiding laag is (leverbot rund/paard) of waarvan de eieren niet homogeen verdeeld zijn in de feces terwijl er toch wel eieren worden verwacht in de feces (bijvoorbeeld bij *Anoplocephala spp.*). Om de kans op eieren te vergroten wordt een grote hoeveelheid feces (tientallen grammen) gedurende ca. 10 min. met water gespoeld over een serie op elkaar geplaatste zeven met maaswijdte van groot naar klein. Tijdens het spoelen staan de zeven op een schudmachine om het verzamelproces te vergemakkelijken. De gezochte eieren worden uiteindelijk verzameld van de onderste zeef met de kleinste maaswijdte (op maat gekozen in verband met de te verzamelen eieren). Controleer de zeven op eventuele proglottiden of andere wormen of wormdelen.*

Floteren

Het fecesmonster wordt hierbij niet gesuspendeerd in water, maar in een vloeistof met een dichtheid die hoger is dan die van de eieren en (oö)cysten. Hiervoor worden oplossingen van suikers of zouten in water gebruikt. Een veel gebruikt flotatiemedium is een verzadigde NaCl-oplossing. Deze oplossing is goedkoop en eenvoudig te maken en niet belastend voor het milieu. Een verzadigde NaCl-oplossing heeft een dichtheid van 1,19 g/cm³. In deze oplossing gaan de meeste wormeieren en protozoaire (oö)cysten dus drijven. Als zo'n suspensie enige tijd blijft staan, zullen de eieren zich aan de oppervlakte van de vloeistof verzamelen. Met een pipet kan wat materiaal bovengit de vloeistof worden genomen en microscopisch worden onderzocht. De eieren van de trematoden hebben een dichtheid die hoger is dan 1,19 g/cm³. Deze eieren zullen in een verzadigde NaCl-oplossing zinken. Voor de flotatie van deze eieren moet een vloeistof met hogere dichtheid worden gebruikt. Hiervoor kan een ZnSO₄- of suikeroplossing met een dichtheid van minstens 1,30 g/cm³ worden gebruikt. Een belangrijk nadeel

van ZnSO₄ is, dat het belastend is voor het milieu. Dit kan worden ondervangen door dit medium na filteren te hergebruiken. Controleer wel regelmatig de dichtheid. De flotatiemedia worden gemaakt door de chemicaliën op te lossen in warm water (zie voor recepten onderstaande tabel). Gedestilleerd of gedemineraliseerd water kan worden gebruikt om neerslag te voorkomen dat soms ontstaat als leidingwater wordt gebruikt.

Flotatiemedia

	Hoeveelheid (g) oplossen in 1000 ml water	Dichtheid g/cm ³ ⁴⁾
NaCl ¹⁾	360	1,19
ZnSO ₄ .7H ₂ O ²⁾	900	1,34
Sucrose ³⁾	1280	1,3

¹⁾ keukenzout, verzadigde oplossing.

²⁾ te verkrijgen bij fabrikanten van laboratoriumbenodigdheden.

³⁾ kristalsuiker. Om schimmelvorming te voorkomen kan 2 ml formaline worden toegevoegd per ca. halve liter.

⁴⁾ Controleer de dichtheid met een pyknometer of weegfles, of een densitometer. 10 ml van een vloeistof met een dichtheid van 1,2 g/cm³ weegt 12 g.

Er zijn in de handel verschillende flotatiemedia verkrijgbaar, maar het zelf maken met keukenzout of kristalsuiker is gemakkelijk en goedkoop.

Met ZnSO₄ en sucrose zijn ook flotatiemedia te maken met hogere of lagere dichtheid, door meer of minder op te lossen in water.

De eieren van *Taenia*, *Trichuris* en *Capillaria* hebben een dichtheid van ongeveer 1,20 g/cm³. Bij een onderzoek op deze parasieten kan dan ook beter een ZnSO₄ of suikeroplossing worden gebruikt. Bij een onderzoek op *Strongyloides westeri* eieren moet een flotatiemedium met een lage dichtheid worden

gebruikt (NaCl) omdat deze eieren in zwaardere media onherkenbaar worden beschadigd. Onderzoek gemaakte preparaten direct, zeker als een ZnSO₄- of suikeroplossing wordt gebruikt, omdat eieren en cysten vrij snel kunnen gaan vervormen en er kristallisatie (vooral bij NaCl) langs de randen van het dekglas optreedt.

Uitvoering: Suspendeer 3-5 g feces in ± 50 ml flotatiemedium. Giet de suspensie over een (thee)zeef. De inhoud van de zeef moet gecontroleerd worden op de aanwezigheid van lintwormproglottiden en andere wormen. Vul met deze suspensie een centrifugebuis tot de rand met een kleine bolle meniscus. Leg een dekglas op de meniscus en laat de buis gedurende een half uur staan. Neem daarna het dekglas van de buis (niet schuiven maar rechtstandig omhoog tillen) en leg het op een voorwerpglas. Onderzoek dit preparaat microscopisch. Het proces kan worden versneld door te centrifugeren (met dekglas). De gevoeligheid kan worden verhoogd door verschillende buizen te vullen en te onderzoeken.

Combinatie van technieken

Om de gevoeligheid te verhogen en om de eieren of (oö)cysten zo schoon mogelijk te isoleren uit een fecesmonster, kunnen bovenstaande technieken worden gecombineerd. Een veel gebruikte combinatie is de centrifuge-sedimentatie-flotatie techniek (CSF), meestal uitgevoerd met sucrose of ZnSO₄ als flotatiemedium.

Uitvoering: suspendeer een theelepeltje (3-5 g) feces in ± 50 ml (leiding)water. Giet deze suspensie over een theezeef. Vul met de gezeefde suspensie twee centrifugebuizen tot een halve centimeter onder de rand. Centrifugeer gedurende 1 min. met ± 3000 toeren/min (bij een straal van ± 15 cm is dit ± 1500 g) om te sedimenteren. Giet of zuig de bovenstaande vloeistof af en vul de buis tot de helft met een flotatiemedium. Suspendeer het sediment grondig en vul de buis daarna bij met het flotatiemedium tot de rand met een kleine bolle meniscus. Plaats een dekglas op de buis en centrifugeer weer met 3000 toeren/min gedurende 1 min. als NaCl-medium, of 3 min. als een medium met hogere dichtheid (viscositeit) gebruikt wordt. Neem het dekglas rechtstandig van de buis, leg het op een voorwerpglas en onderzoek het microscopisch (vergroting

100-400x). De gevoeligheid van deze techniek is hoger dan van de hiervoor beschreven technieken en van de McMaster methode (zie verderop).

Kwantitatief onderzoek met de CSF methode

De CSF techniek kan kwantitatief worden uitgevoerd. Daarvoor is ervaring en een goed geoutilleerd laboratorium vereist. Op het VMDC (Utrecht) wordt standaard 1 gram feces in een afsluitbare container (van 20-30 ml inhoud) gesuspenderd in 15-20 ml water en vervolgens gezeefd over een theezeeffje in een grote maatbeker. Container en zeefje worden nagespoeld met water tot in totaal 120 ml suspensie. Mengend wordt hiermee één 12 ml centrifugebuisje gevuld. Vervolgens worden de centrifugestappen uitgevoerd zoals hiervoor beschreven. Na centrifugeren met flotatiemedium dient men het dekglasje zorgvuldig en rechtstandig op te tillen en te plaatsen op een voorwerpglasje. Het centrifugebuisje wordt opnieuw aangevuld met flotatiemedium tot een kleine bolle meniscus om een 2e dekglasje te plaatsen. Deze pas optillen en bekijken nadat het eerste dekglasje microscopisch is onderzocht. Het totaal aantal getelde eieren (per soort) van beide dekglasjes maal 10 levert het totaal aantal aanwezige eieren of (oö)cysten per gram feces (EPG of OPG). De detectiegrens of gevoeligheid is aldus 10 EPG of OPG. Deze gevoeligheid kan worden verhoogd door of meer feces (niet meer dan 3 gram) te suspenderen of door meer centrifugebuisjes te vullen en te onderzoeken.

Kwantitatief onderzoek met de McMaster methode

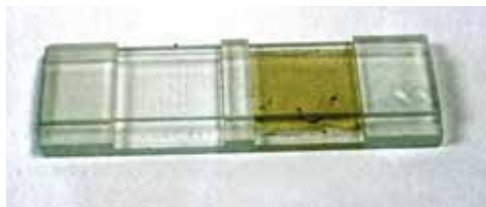
Voor veel doeleinden is kwalitatief fecesonderzoek voldoende. Er zijn echter vier redenen om feces kwantitatief te onderzoeken: (1) indien er een sterk verband bestaat tussen mate van ei-, (oö)cyste-, of larvenuitscheiding en ziekte; (2) als er vrijwel altijd wel enige uitscheiding van eieren of (oö)cysten is, ook zonder ziekteverschijnselen; (3) in het geval van 'monitoring' (paard); en (4) in het kader van controle op anthelminticumresistentie (vooral bij paard). Kwantitatief onderzoek vindt vooral plaats bij het paard, waar 'monitoring' van uitscheiding van Strongylus-type eieren (afb. 18 en 19) met de feces op het weiland

N.B.: Voor de meeste (tricho)strongyliden infecties (bijv. de kleine strongyliden of cyathostominae bij het paard) waarvoor kwantitatief fecesonderzoek is aangewezen, is een detectiegrens van 50 of 100 EPG voldoende. Daarvoor is de McMaster methode bij uitstek geschikt.

Er zijn diverse zgn. parasieten diagnose systemen verkrijgbaar, waaronder de Ovassay®, FECPAK® en FLOTAC®. De waarde van de eerste twee methoden ligt vooral in het gebruik in het veld voor een betrekkelijk snelle uitslag. De gevoeligheid van deze technieken is echter vaak minder dan de CSF methode; er is kans op vals-negatieve uitslagen. De FLOTAC methode is een alternatief voor de CSF techniek, waarbij het dekglas wordt vervangen door het FLOTAC apparaat, waarmee het zekerder zou zijn dat alle eieren en (oö)cysten die aanwezig zijn in het monster ook werkelijk worden geteld.

een belangrijke graadmeter is om te bepalen in hoeverre er een risico is op cyathostomiose, en dus of er strategisch moet worden behandeld of bijvoorbeeld worden omgeweid. Anthelminticumresistentie is vooral een probleem bij paarden en voornamelijk niet bij gezelschapsdieren. Voor verdere uitleg over dit kwantitatieve fecesonderzoek bij paarden wordt verwezen naar de website www.parasietenwijzer.nl.

Uitvoering: Suspender 3 g feces in 42 ml NaCl-flotatiemedium. Giet de suspensie over een zeef (theezeef) in een bakje met platte bodem of een 50 ml afsluitbare buis (Falconbuis). De inhoud van de zeef moet gecontroleerd



(afb.3). McMaster telkamer. De rechter kamer is gevuld met fecessuspensie. (Beeldbank DGK UU)

worden op de aanwezigheid van lintwormproglottiden en andere wormen. Meng de gezeefde suspensie goed (niet draaien, maar buisje zwenken of platbodem bakje heen en weer schudden). Zuig met een Pasteurse pipet enkele ml suspensie op tijdens of zo snel mogelijk na het mengen. Vul hiermee twee McMaster telkamers (verkrijgbaar op diverse adressen) (afb. 3). Tel vervolgens alle eieren (per soort of type ei) onder het raster bij vergroting 40x of 100x. Onder het raster van 1 telkamer zit 0,15 ml suspensie. Elk geteld ei betekent dan 100 eieren per gram feces (EPG). Tellen van twee telkamers verlaagt de detectiegrens tot 50 EPG. Indien gewenst, kan de gevoeligheid verder worden verhoogd door nog meer telkamers te tellen.

Anthelminticumresistentie:

Resistentie van cyathostominae tegen benzimidazolen komt veel voor. Voor preventie van cyathostominose zijn deze middelen dus onbruikbaar. Voor bestrijding van cyathostominae zijn alleen ivermectine, moxidectine en pyrantel geschikt. In de USA en Denemarken is inmiddels resistentie van cyathostominae tegen pyrantel waargenomen en er zijn in sommige landen (o.a. Duitsland) ook aanwijzingen voor verminderde gevoeligheid voor ivermectine en moxidectine. Resistentie van Parascaris equorum voor ivermectine is sinds 2002 op meerdere plaatsen in de wereld beschreven, waaronder Nederland. Bepaal 1x per jaar de gevoeligheid van het bij paarden gebruikte anthelminticum door eitelling 14 dagen na toediening. Het EPG moet dan (nagenoeg) negatief zijn. Vinden van (grote aantallen) eieren wijst op resistentie. Grote aantallen eieren bij één of enkele paarden wijst mogelijk op een behandelingsfout. N.B.: Om formeel anthelminticumresistentie aan te tonen, dient feces zowel voor als na behandeling te worden onderzocht.

De Baermannmethode

Bij longworminfecties worden geen eieren maar larven met de feces uitgescheiden. Longwormlarven onderscheiden zich van de



(afb.4). Baermann- of bezinkingsglas.

andere fecesbestanddelen doordat ze beweeglijk zijn. De Baermann-techniek scheidt bewegende van niet-bewegende fecesbestanddelen. Hierbij wordt gebruikgemaakt van bezinkingsglazen (afb. 4). Deze glazen zijn helaas moeilijk te verkrijgen. Champagneglazen die in een scherpe punt uitlopen voldoen echter ook goed. Een alternatief is gebruikmaken van een steile glazen trechter (met slangetje en klem) opgehangen aan een statief.

Uitvoering: vul het glas (of trechter) met handlauw leidingwater. Doe de te onderzoeken feces voorzichtig op een stuk kaasdoek of op enkele lagen hydrofiel gaas. Bind de punten bijeen met een elastiekje. Steek een stokje door het opgevouwen deel heen en hang het



(afb.5). Embryoblokje.

daarmee in het bezinkingsglas (of trechter) zo dat de feces net onder het wateroppervlak hangt. Dit geheel wordt een nacht maar niet langer dan 24 uur bij kamertemperatuur weggezet. De larven trekken naar het water toe en belanden uiteindelijk in het sediment. Daarna worden met een lange Pasteurse pipet enkele ml onderuit de punt van het glas opgezogen en overgebracht in een embryoblokje of iets dergelijks (afb. 5) (of de onderste paar ml aftappen uit de trechter). Zorg voor zo weinig mogelijk verstoring van de vloeistof tijdens het opzuigen (of aftappen), want de larven worden gemakkelijk weer opgedwarreld hetgeen de gevoeligheid van de techniek nadelig beïnvloedt. De opgezogen (of afgetapte) vloeistof wordt vervolgens microscopisch onderzocht op larven met kleine vergroting (20-40x onder prepareermicroscoop). Let er hierbij op dat op het juiste niveau wordt gezocht. De larven liggen op de bodem van het bakje. Indien nodig kan een druppeltje jodium worden toegevoegd om het geheel wat op te helderen en eventueel larven roodbruin, dus opvallender, te doen kleuren.

Fecesonderzoek op larven van Dictyocaulus spp. moet binnen 24 uur na monstername zijn uitgevoerd, want daarna kunnen eieren van sommige andere wormsoorten uitgekomen zijn, hetgeen het onderzoek bemoeilijkt.

Onderzoek op oöcysten van cryptosporidiën

De oöcysten van cryptosporidiën worden bij een gebruikelijke verzameltechniek niet gezien, omdat ze zeer klein, kleurloos (de wand is iets rose) en transparant zijn. Daarom wordt meestal een gemodificeerde Ziehl-Neelsen kleuring uitgevoerd.

Uitvoering: maak een dun uitstrijkje van de feces op een voorwerpglas en fixeer dit 1-3 min met 70% methanol. Laat dit aan de lucht drogen. Vervolgens gedurende 10-20 minuten kleuren met carbol-fuchsine en dan spoelen met water. Het preparaat ontkleuren met 1-3% oplossing H_2SO_4 of HCl (2 min). Spoelen met water en vervolgens de achtergrond kleuren met 3% malachit-groen oplossing (2 min). Spoel kort met water. Na drogen met een föhn insluiten met bijvoorbeeld Gurr® aqua-



(afb.6). InPouch™ TF-Feline test voor onderzoek op *Tritrichomonas foetus* in kattenfeces (foto: Rolf Nijssen).

mount en afsluiten met een groot dekglasje. Bekijk preparaat bij 200-400x. De oöcysten zijn rood, rond en ongeveer 5 μm in diameter. De achtergrond is groen/blauw gekleurd (afb. 27). De kwaliteit van een dergelijke kleuring is sterk afhankelijk van de consistentie van de gebruikte feces en varieert nogal. Een juiste interpretatie vergt ervaring en daarom kan dit onderzoek het beste op een gespecialiseerd laboratorium worden uitgevoerd.

Onderzoek op trofozoïeten van protozoa

Dit onderzoek heeft doorgaans alleen zin als er sprake is van diarree. Om de levende en bewegende trofozoïeten te vinden moet de feces zeer vers (nog warm) zijn. Hier geldt dus de noodzaak om het onderzoek zelf te doen. *Giardia* trofozoïeten zijn binnen 4 uur na uitscheiding in de feces dood en die van *Tritrichomonas* zelfs binnen een half uur. Dode trofozoïeten zijn zonder kleuring moeilijk te onderscheiden en die van *Tritrichomonas* waarschijnlijk helemaal niet.

Uitvoering: doe een druppel feces op een voorwerpglas en vermeng dit met een druppel lauwwarm fysiologisch zout. Onderzoek onder dekglas met een vergroting van 400x. Let op beweging. *Giardia* (afb. 30) en *Tritrichomonas* (afb. 31) trofozoïeten zwemmen door het beeld, ciliaten maken alleen beweging op de plaats.

Voor onderzoek op *Tritrichomonas foetus* bij katten is een commerciële testkit beschikbaar (afb. 6). Dit is een flexibel plastic zakje met kweekvloeistof en wordt geleverd met een clip waarmee de inhoud van het zakje eenvoudig onder de microscoop bekeken kan worden. Met behulp van een swab kan een beetje kat-

tenfeces worden toegevoegd aan het zakje. Dit kan vervolgens direct worden onderzocht, of kan eerst worden geïncubeerd bij 37°C gedurende tenminste 18 uur waarin vermenigvuldiging van de tritrichomonaden plaatsvindt. Door de vermenigvuldiging is deze techniek zeer gevoelig. Het kweekmedium remt bacteriegroei. Bovendien overleven *Giardia* en *Pentatrichomonas* niet langer dan 24 uur in het kweekmedium, zodat na deze periode geen verwarring kan ontstaan met deze twee protozoa.

De interpretatie van het fecesonderzoek

In principe zijn er bij het fecesonderzoek vier verschillende uitslagen mogelijk: vals-negatief, negatief, vals-positief en positief.

Oorzaken vals-negatieve uitslagen

Hiermee wordt de situatie bedoeld waarbij er wel eieren of larven in het monster aanwezig zijn, maar dat deze niet zijn gevonden. Iedere bepalingmethode heeft een detectiegrens. Een negatieve uitslag moet dan ook nooit worden geïnterpreteerd als 'nul' maar als 'kleiner dan de detectiedrempel van de gebruikte techniek'. De detectiedrempel kan worden verlaagd door het herhalen van de gebruikte bepaling of het gebruik van een gevoeliger techniek. Transport en opslag kunnen ook een bron van vals-negatieve uitslagen zijn, bijvoorbeeld omdat eieren al ontwikkeld zijn tot een larve.

Oorzaken negatieve uitslagen

Hiermee wordt de situatie bedoeld waarbij er geen eieren in het monster aanwezig zijn, maar het dier wel geïnficeerd kan zijn. De afwezigheid van eieren of larven sluit een infectie niet uit. Bij een aantal parasitaire aandoeningen worden de problemen vooral veroorzaakt door de larvale stadia. Een goed voorbeeld hiervan is larvale cyathostominose (wintercyathostominose) bij paarden. Deze ziekte wordt veroorzaakt doordat grote aantallen larven de darmmucosa verlaten, waardoor deze ernstig wordt beschadigd. Het gevolg is een heftige diarree, waardoor de wormen worden afgevoerd met de vaak waterdunne feces. Bij een fecesonderzoek in dit stadium zullen dan ook geen eieren worden gevonden, terwijl er toch sprake is van een ernstige parasitaire aandoening. Immuniteit van de gastheer kan

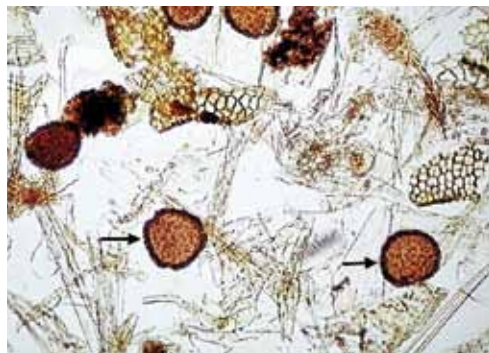
ook een negatief fecesonderzoek tot gevolg hebben. Paarden die geïnficeerd worden met *Dictyocaulus arnfieldi* ontwikkelen zeer snel een immuniteit tegen deze parasiet. De immuniteitsontwikkeling is vaak zo snel dat de parasiet niet in staat is om uit te groeien tot geslachtsrijpe stadia. In dat geval zijn er wel ernstige klinische verschijnselen, terwijl er geen larven in de feces aanwezig zijn, omdat de parasieten immers niet geslachtsrijp worden. Bij infecties met cestoda zitten de eieren meestal nog verpakt in de proglottiden in de feces of het kan een blaasworm betreffen in een tussengastheer. Bij een fecesonderzoek op lintwormen kan daarom beter gezocht worden naar proglottiden door de feces te zeven over een grove zeef (theezeef) en het materiaal dat achterblijft op de zeef te onderzoeken op proglottiden.

Negatieve uitslag van fecesonderzoek:

Drie mogelijke conclusies: (1) geen infectie; (2) wel infectie, maar geen eieren of larven aanwezig (bijvoorbeeld tijdens prepatente fase van infectie); (3) wel infectie, wel eieren of larven aanwezig, maar niet gevonden (detectiegrens).

Oorzaken vals-positieve uitslagen

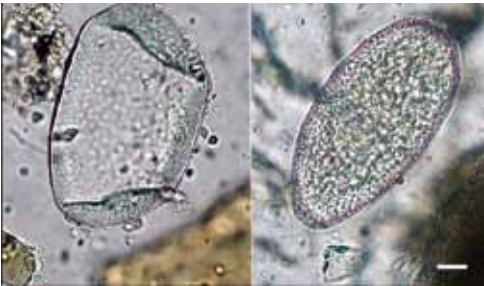
Hiermee wordt de situatie bedoeld waarbij er 'dingen' worden gevonden die op eieren, (oö)cysten of larven lijken. Stufmeelkorrels of pollen (afb. 7) en schimmelsporen kunnen vaak verbazingwekkend veel op eieren lijken. Ook larven en plantenharen (afb. 8) vertonen tot op zekere hoogte gelijkenis. Mijteneieren en grote oöcysten kunnen ook worden ver-



(afb. 7). Pollen (zie pijlen).



(afb.8). *Plantenhaar*.



(afb.9). *Trematodenei* in hondenfeces. Rechts is normaal en links ingeklapt in $ZnSO_4$ flotatie-medium. (— = 20 μm)

ward met wormeieren. Soortvreemde eieren kunnen als passant worden aangetroffen. Zo kunnen er in feces van met pens gevoerde honden eieren van *Paramphistomum* worden gevonden (afb. 9).

De interpretatie van positieve uitslagen

Bij een positieve uitslag is een infectie aangetoond. Een juiste interpretatie hangt echter af van meerdere factoren, waaronder de pathogeniteit van de parasiet, leeftijd van de gastheer, en anamnese. In veel gevallen is men bij een positieve uitslag ook geïnteresseerd in de mate van infectie. Indien een techniek kwantitatief wordt uitgevoerd, kan vaak een indruk worden verkregen van de mate van uitscheiding van eieren of larven. Er is natuurlijk een verband tussen EPG of LPG (eieren of larven per gram feces) en de mate van infectie, maar meer dan een zwakke afspiegeling is het vaak niet. Er zijn teveel factoren die de ei- en larvenuitscheiding beïnvloeden, zoals consistentie van de feces, de leeftijd van de parasieten, duur van de infectie, leeftijd van de gastheer, immuunstatus van de gastheer en seizoen van onderzoek.

Wormeieren en (oö)cysten zijn vaak soortspecifiek of in combinatie met gastheer en anamnese voldoende morfologisch specifiek om tot een juiste interpretatie te komen aangaande welke infectie het betreft. Een speciaal probleem vormt de interpretatie als er Strongylus-type eieren zijn gevonden. Dit type ei wordt geproduceerd door vrijwel alle strongyliden en trichostrongyliden. Omdat zowel de eiproductie als ook de pathogeniteit van soort tot soort verschilt, geeft de hoogte van het EPG in de regel weinig informatie over wormlast of ernst van de infectie. Alleen een larvenkweek en larvendifferentiatie kan in dit geval informatie verschaffen over de aanwezige soorten. Hetzelfde geldt voor verschillende protozoaire (oö)cysten die erg op elkaar kunnen lijken. Hierbij kan het opmeten van de (oö)cysten en laten sporuleren uitkomst bieden, indien gewenst.

In alle gevallen is een duidelijke en precieze anamnese (met signalement) bij aanvragen van fecesonderzoek van groot belang voor een juiste interpretatie van de uitslag.

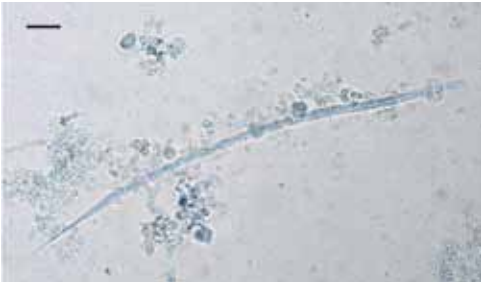
Urine-onderzoek

Bij de hond en kat komt sporadisch een infectie voor met *Capillaria plica* in de urineblaas. Bovendien kan bij de kat ook *Capillaria felis cati* voorkomen, hoewel nog minder vaak dan *C. plica*. Deze infecties kunnen worden gediagnosticeerd door het aantonen van *Capillaria* eieren in het urinesediment.

Bloedonderzoek

Onderzoek op microfilarieën van *Dirofilaria immitis* bij de hond

1. Natief: Een druppel EDTA of heparinebloed wordt gemengd met een druppel fysiologisch zout. Dit mengsel wordt onder een dekglas microscopisch bekeken bij een vergroting van 40x. De ongeveer 300 μm lange microfilarieën vallen op door hun beweeglijkheid.
2. Knott-techniek: Eén ml EDTA of heparinebloed wordt gemengd met 9 ml 2% for-



(afb.10). *Dirofilaria immitis* microfilarie (Knott test). (— = 20 μ m)

maline (formaline is een 36% oplossing van formaldehyde in water). Dit mengsel wordt 5 min. gecentrifugeerd bij 1000-1500 toeren/min (centrifugekop: straal van ± 15 cm). Het supernatant wordt afgezogen of afgegoten en aan het sediment wordt één druppel 0,1 % methyleenblauw toegevoegd. Enkele druppels van dit mengsel worden onder een dekglas microscopisch beoordeeld. De erythrocyten zijn nu gelyseerd. De microfilarieën zijn nu lichtblauw gekleurd (afb. 10).

- Er zijn tests voor het aantonen van antilichamen of antigenen beschikbaar; de specificiteit en sensitiviteit van deze testen zijn over het algemeen beperkt en ze worden daarom vaak gecombineerd met de Knott-techniek die een hoge specificiteit en een iets mindere sensitiviteit kent.

Cyathostominose bij het paard

Bij het paard kunnen ontstekingswitten in het bloed (serum) worden bepaald. Met name de beta-globuline fractie kan worden gebruikt ter ondersteuning van de diagnose cyathostominose.

Lintworminfectie bij het paard

Er is een ELISA ontwikkeld waarmee lintworminfecties (*Anoplocephala perfoliata*) kunnen worden aangetoond. De hoeveelheid gemeten antilichamen wordt wel gebruikt als grove indicatie voor het aantal aanwezige lintwormen.

Moleculair onderzoek (PCR)

Voor het aantonen van infecties met verschillende parasieten zijn tegenwoordig ook moleculaire technieken beschikbaar. Momenteel

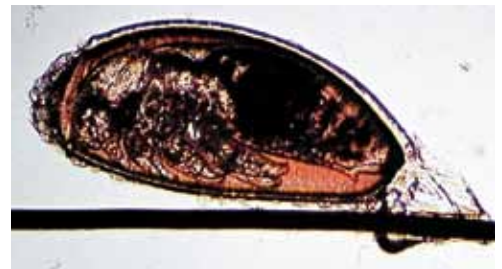
zijn dat PCR-technieken voor *Babesia* spp., *Leishmania* sp., *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum* en *Tritrichomonas foetus*. Het betreft protozoa, omdat juist bij deze groep van parasieten het fecesonderzoek, zoals in voorgaande beschreven, niet altijd makkelijk is en kan leiden tot vals-negatieve of onduidelijke uitslagen. Moleculair onderzoek kan plaatsvinden op diverse materialen (o.a. biopsen, bloed of feces). Moleculair onderzoek kan ook worden gebruikt om te bepalen welk subtype van een parasiet in het geding is. Dat is bijvoorbeeld (deels) mogelijk voor *Giardia intestinalis* en *Cryptosporidium parvum* vanwege het verschil in zoönotisch risico tussen subtypen of genotypen.

Onderzoek huid en haar op ectoparasieten

De grotere ectoparasieten als vlooien, luizen en teken zijn macroscopisch, eventueel met behulp van een loep, zichtbaar. Een goede verlichting is hierbij een vereiste. Voor het opsporen kan een vlooienkam (vlooien, luizen) goede diensten bewijzen. Vlooien kunnen ook indirect worden aangetoond door het aantonen van vlooienpoepjes. Dit zijn kleine, komma-



(afb.11). Neten in een haarmonster (foto: Marianne Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan)



(afb.12). Neet waarin al een luisje is ontwikkeld.

vormige, zwarte stipjes die net met het blote oog waarneembaar zijn. Als de poepjes op een nat filtreerpapier worden gelegd, ontstaat er rond het stipje een rode ring van in het filtreerpapier diffunderende hemoglobine. Luizen kunnen indirect worden aangetoond door het aantonen van de neten (afb. 11 en 12). Deze kunnen worden gevonden door een bosje haar uit te trekken en dit tegen het licht te bekijken. Neten worden afgezet aan de basis van de haren. Bij recente infectie worden ze daar aangetroffen. Bij een oudere infectie zitten ze hoger op de haren.

Als een infectie met schurftmijten wordt verwacht, moet met een scherpe lepel een afkrabsel worden gemaakt. De monsters dienen op een aantal plaatsen van de rand van het proces te worden genomen. Indien kortpotige schurftmijten worden vermoed, dient er 'tot bloedens toe' gekrabd te worden ('diep' afkrabsel). Het afkrabsel kan na toevoeging van wat naaimachine-olie of glycerine microscopisch worden onderzocht. Als er veel korstmateriaal aanwezig is, kan het afkrabsel worden opgehelderd door het in een 10-30% KOH-oplossing tot het kookpunt (niet koken) te verwarmen, of het gedurende 2-3 uur in deze oplossing te laten staan. Hierdoor worden korsten en haren gemacereerd. De ectoparasieten worden hierbij opgehelderd. Het materiaal wordt daarna in een petrischaal microscopisch onderzocht. Als er veel materiaal is, kan eerst worden gecentrifugeerd. De ectoparasieten bevinden zich in het sediment. Het is ook mogelijk om na centrifugeren het sediment te suspenderen in ZnSO₄ flotatiemedium, het buisje tot een kleine bolle meniscus aanvullen met het flotatiemedium en af te dekken met een dekglasje. Na ca. 10 min. kan het dekglasje op een voorwerpglasje worden geplaatst en microscopisch onderzocht.

Een stofzuigermonster biedt de mogelijkheid om een groot oppervlak van het dier te onderzoeken en daarmee de kans te vergroten om aanwezige parasieten ook aan te tonen, met name *Cheyletiella* spp. (vachtmijt). In principe is de techniek geschikt voor het aantonen van alle ectoparasieten, met uitzondering van *Demodex* en teken. Ook voor aantonen van *Sarcoptes* is deze techniek minder geschikt, hoewel soms wel *Sarcoptes* mijten kunnen worden gevonden in een stofzuigermonster. Bij verdenking op een *Sarcoptes*-infectie kan het



(afb.13). Een goed genomen stofzuigermonster.

best een zgn. diep afkrabsel worden gemaakt. Uitvoering: om het eind van de stofzuigerslang van een regelbare stofzuiger wordt een tissue (zakdoekje, monddoekje, of filterdoek) van stevig materiaal gevouwen en met de vinger ongeveer 2 cm in de slang geduwd. Dit wordt gefixeerd met behulp van een elastiek of plaats een plintenzuiger op de slang waarmee de tissue ook kan worden gefixeerd. Vervolgens wordt het dier of een deel van het dier gestofzuigd. Verwijder tissue of filterdoek met verzameld materiaal (afb. 13), vouw het zo klein mogelijk op en bindt af met een elastiekje. Het te onderzoeken materiaal wordt overgebracht in een petrischaaltje. Hiervoor dient een glazen petrischaal te worden gebruikt omdat de statische lading van een plastic schaal problemen geeft. Het materiaal kan het beste onder een stereo- of prepareermicroscop worden onderzocht. Aanwezige ectoparasieten vallen op door hun beweeglijkheid. De parasieten worden er uitgevist met een prepareernaald die even in naaimachine-olie of glycerine is gedoopt. De ectoparasiet wordt in een druppel olie of glycerine op een voorwerpglas overgebracht en onder dekglas bij een grotere vergroting gedermineerd. Worden geen bewegende ectoparasieten gevonden, dan kan het totale monster worden opgehelderd met 10-30% KOH en verder verwerkt zoals hiervoor is beschreven.

Gebruik voor het nemen van een stofzuigermonster geen koffiefilters, stofzuigerzakken of gaasjes; deze scheuren te makkelijk of zijn te wijdmazig. Een mondkapje is wel geschikt.

De meest voorkomende parasieten

ENDOPARASieten

De meest voorkomende wormeieren en -larven in hondsfeces

Toxocara canis

Dikwandig, kogelrond maar vaak iets vervormd, 70-90 μm in doorsnede. Bevat een donkerbruine tot zwarte zygote. De wand heeft aan de buitenkant kleine putjes die bij doervallend licht de indruk geven dat het ei geschud is (ook wel vergeleken met de putjes van een golfballetje). Afb. 14.



(afb.14). *Toxocara canis* ei (*Toxocara cati* ziet er net zo uit). (— = 20 μm)

Toxascaris leonina

Dikwandig, iets ovoïd, 60-75 bij 75-85 μm . De zygote is minder donker dan die van *T. canis*. De buitenkant van de wand is volkomen glad. De binnenkant van de wand heeft een typisch gelaagde opbouw. Afb. 15. Ontwikkeling tot larve in het ei gebeurt snel, zodat binnen 1-2



(afb.15). *Toxascaris leonina* ei. (— = 20 μm)



(afb.16). *Trichuris* sp. ei. Links natief en rechts in ZnSO_4 medium. (— = 20 μm)

dagen al deling is te zien.

Trichuris vulpis

Dikwandig, rugbybalvormig, meestal symmetrisch, 70-90 μm bij 30-40 μm . Bezit aan elke pool een duidelijk prominere (uitstekende), glazige poolprop. Het ei is geel/oranje-bruin van kleur en de buitenkant van de wand is glad. De inhoud is fijnkorrelig en ongedifferentieerd. Afb. 16. In een flotatiemedium met hoge dichtheid kunnen de poolpropen naar binnen worden gedrukt (afb. 16 rechts). Dit ei kan verward worden met het ei van *Capillaria* sp.

Capillaria aerophila

Dikwandig, rugbybalvormig, maar (veel) minder bolle wanden dan bij het *T. vulpis* ei en wat asymmetrisch, 60-75 μm bij 30-40 μm . Bezit aan elke pool een niet-prominere iets afgeplatte poolprop. Het ei is lichtbruin tot geel/oranje van kleur en de buitenkant van de wand is fijn gegranuleerd. De inhoud is fijnkorrelig en ongedifferentieerd. Afb. 17. Dit ei kan verward worden met het ei van *Trichuris*.



(afb.17). *Capillaria* sp. ei. (— = 20 μm)



(afb.18). *Strongylus*-type ei. (Beeldbank DGK UU) (— = 20 μ m)



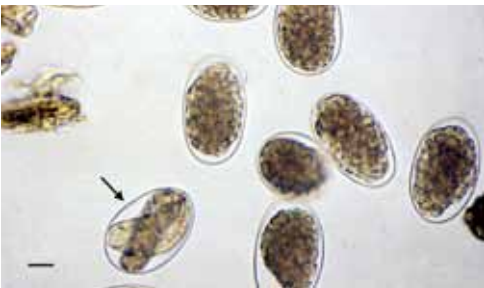
(afb.20). *Dipylidium caninum* eipakketje. (— = 20 μ m)

Uncinaria stenocephala

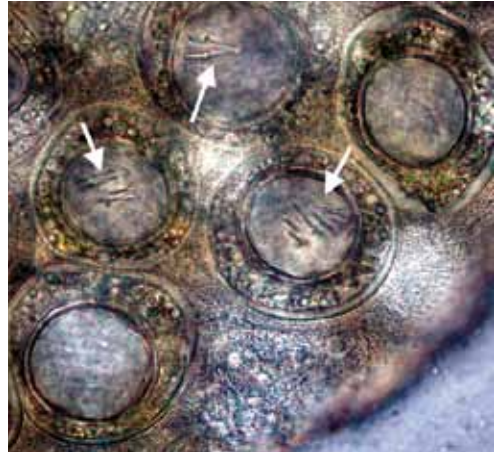
Dunwandig, ovoïd, 75-80 μ m bij 40-45 μ m. Het ei behoort tot de Strongylus-type eieren geproduceerd door de (tricho)strongyliden. Afb. 18. In verse feces bevat het ei een morula. Na enkele uren bij kamertemperatuur is dit morulastadium zover gedeeld dat afzonderlijke cellen niet meer waarneembaar zijn. In niet gekoeld bewaarde feces zijn de afzonderlijke blastomeren niet meer herkenbaar en na een dag is reeds een larve in de eieren aanwezig. Afb. 19. Het ei is moeilijk te onderscheiden van het wat kleinere ei van *Ancylostoma caninum*. Deze parasiet is niet endemisch, maar kan hier uiteraard wel bij honden voorkomen (buitenland anamnese).

Dipylidium caninum

Ovaal eipakketje, dat één tot enkele tientallen eieren bevat. De grootte is afhankelijk van



(afb.19). *Strongylus*-type eieren waarvan er een geëmbryoneerd is (pijl). (Beeldbank DGK UU) (— = 20 μ m)



(afb.21). *Dipylidium caninum* eipakketje sterk vergroot. De haken van het hexacanth embryo zijn goed te zien (pijl).

het aantal eieren. Geelbruin van kleur. De eieren zelf zijn bolvormig en bevatten een, overigens niet altijd zichtbaar, hexacanth embryo. Afb. 20 en 21.

***Taenia* spp. en *Echinococcus* spp.**

Dikwandig, kogelrond, klein, 30-40 μ m. De wand vertoont een radiaire streping met een vaak wat rood-groene kleuring. De radiaire streping is vooral goed te zien indien onder de microscoop het ei beurtelings scherp en onscherp in beeld wordt gebracht. Bevat een niet altijd zichtbaar hexacanth embryo. De eieren van de diverse *Taenia* spp. en *Echinococcus*

Eenvoudig, betrouwbaar en stabiel – Software voor efficiënt praktijkbeheer



*easy***VET**

easyVET is de software voor eenvoudig en efficiënte informatiebewerking in de diergeneeskunde. Praktijkmanagement, zoals u het altijd al had willen hebben. Alle functies op de juiste plekken, intuïtief en eenvoudig te bedienen. Arbeidsstappen, processen en taken sluiten perfect op elkaar aan. All-inclusive-systeemkaarten maken de gehele behandlingsregistratie op een centrale plek mogelijk. Optimale workflow en de grootst mogelijke flexibiliteit staan voor een zeer efficiënte behandeling in alle bereiken: bij kleine dieren, grote dieren en paarden, in kleine praktijken en grote praktijken, stationair en onderweg.



(afb.22). *Taenia* sp. of *Echinococcus* sp. ei.
(— = 20 µm)

spp. zijn niet van elkaar te onderscheiden. Afb. 22. Denk aan infectiegevaar voor de mens bij *Echinococcus*-infecties.

L1 *Angiostrongylus vasorum*

Larfje (310-400 µm lang) met wat korrelige inhoud. Het staarteinde is sinus-golvormig met een dorsale stekel. Afb. 23. N.B.: Voorheen werd deze parasiet alleen aangetroffen bij honden met buitenland anamnese, maar sinds 2007 zijn autochtone gevallen van infectie gevonden.



(afb.23). *Angiostrongylus vasorum* L1 staart.

L1 *Crenosoma vulpis*

Betrekkelijk klein larfje (240-310 µm lang) met wat korrelige inhoud en een recht eindigende puntige staart. Afb. 24. N.B.: Dit is met name een longworm bij vossen en wordt daarom vooral gevonden bij honden die worden uitgelaten in gebieden waar ook vossen voorkomen.



(afb.24). *Crenosoma vulpis* L1 staart. Larve is met jodium gekleurd.

De meest voorkomende wormeieren en -larven in kattenfeces

Toxocara cati

Dikwandig, kogelrond maar vaak iets vervormd, 70-90 µm in doorsnede. Bevat een donkerbruine tot zwarte zygote. De wand heeft aan de buitenkant kleine putjes die bij doorvallend licht de indruk geven dat het ei geschud is (ook wel vergeleken met de putjes van een golfballetje). Afb. 14.

Toxascaris leonina

Dikwandig, iets ovoid, 60-75 bij 75-85 µm. De zygote is minder donker dan die van *T. canis*. De buitenkant van de wand is volkomen glad. De binnenkant van de wand heeft een typisch gelaagde opbouw. Afb. 15. Ontwikkeling tot larve in het ei gebeurt snel, zodat binnen 1-2 dagen al deling is te zien.

Ancylostoma tubaeformis

Dunwandig, ovoid, 55-75 µm bij 35-45 µm. Het ei behoort tot de Strongylus-type eieren geproduceerd door de (tricho)strongyliden. In verse feces bevat het ei een morula. Na enkele uren bij kamertemperatuur is dit morulastadium zover gedeeld dat afzonderlijke cellen niet meer waarneembaar zijn. Afb. 18.

Dipylidium caninum

Ovaal eipakketje, dat één tot enkele tientallen eieren bevat. De grootte is afhankelijk van het aantal eieren. Geelbruin van kleur. De eieren zelf zijn bolvormig en bevatten een, overigens

niet altijd zichtbaar, hexacanth embryo. Afb. 20 en 21.

Taenia spp. en Echinococcus spp.

Dikwandig, kogelrond, 30-40 μm . De wand vertoont een radiaire streping met een vaak wat rood-groene kleuring. De radiaire streping is vooral goed te zien indien onder de microscoop het ei beurtelings scherp en onscherp in beeld wordt gebracht. Bevat een niet altijd zichtbaar hexacanth embryo. De eieren van de diverse *Taenia* spp. en *Echinococcus*



(afb.25). *Aelurostrongylus abstrusus* L1.

spp. zijn niet van elkaar te onderscheiden. Afb. 22. Denk aan infectiegevaar voor de mens bij *Echinococcus*-infecties.

L1 Aelurostrongylus abstrusus

Larfje (300-390 μm lang) met wat korrelige inhoud. De staart eindigt S-vormig met een klein aanhangseltje (dorsaal knopje). Afb. 25.

De meest voorkomende protozoaire (oö)cysten in honden- en kattenfeces

Cystoisospora, Hammondia, Toxoplasma en Sarcocystis

De oöcysten van deze genera lijken erg veel op elkaar maar verschillen in grootte. Determinatie is alleen mogelijk door nauwkeurige meting. Ze zijn rond-ovaal, kleurloos tot licht roze en hebben een dunne, gladde wand. Ze hebben geen micropyle (opening aan een pool). De grootte varieert van 10-50 μm , waarvan de *Cystoisospora* oöcysten de grootste zijn. In verse feces wordt in de cyste

een rond, vrij van de wand liggend bolletje, de sporoblast, aangetroffen (ongesporuleerde oöcyst). Afb. 26. In oudere, niet goed geconserveerde feces worden twee bolletjes, de sporocysten, met in elk bolletje 4 sporozoïeten aangetroffen (gesporuleerde oöcyst). Afb. 26. N.B.: Oöcysten van *Toxoplasma* komen alleen voor in kattenfeces.



(afb.26). *Cystoisospora* oöcysten (G: gesporuleerd; O: ongesporuleerd) (— = 20 μm)

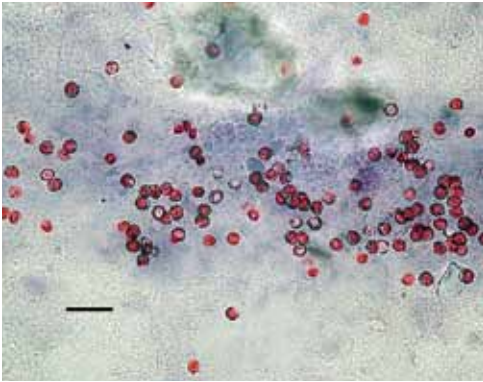
Neospora caninum: De hond is eindgastheer van *N. caninum*. De met de feces uitgescheiden oöcysten lijken op die van *Hammondia*; oöcysten met een diameter van $\pm 10 \mu\text{m}$. *N. caninum* is de belangrijkste oorzaak van abortus bij het rund. Bij de hond kan een intra-uterine infectie bij pups parese en ataxie van de achterpoten veroorzaken. De pup is in zo'n geval vergelijkbaar met een tussengastheer (rund).

Cryptosporidium

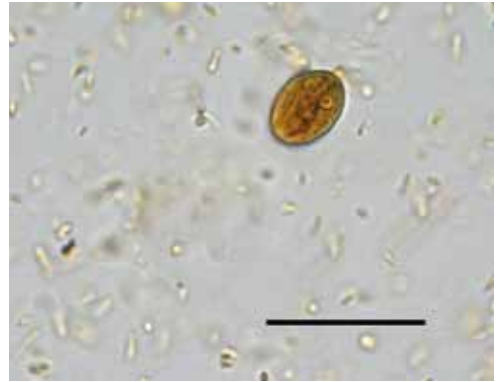
Zeer kleine oöcysten ($\pm 5 \mu\text{m}$). Na modified Ziehl-Neelsen kleuring te zien als rode bolletjes tegen een groen/blauwe achtergrond. Bij grote vergroting is in de oöcyste tegen de wand een halve-maantvormige structuur te zien (lijkt een beetje op een klerenhangar) (vergroting 200-400x). Afb. 27.

Giardia

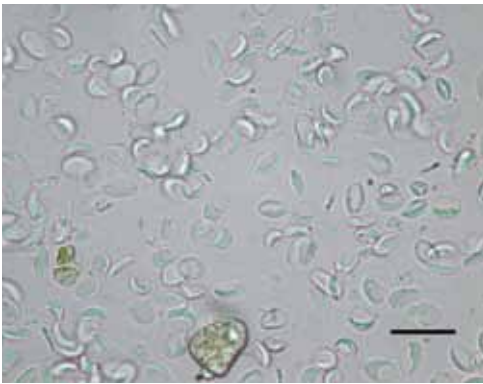
Zeer kleine ovale cysten ($\pm 10 \mu\text{m}$). Bezitten vier kernen, welke niet altijd even duidelijk zichtbaar zijn. Centraal een aantal fibrillen waardoor de cyste-inhoud in tweeën lijkt gedeeld. Afb. 28. Bij gebruikmaking van een



(afb.27). *Cryptosporidium* oöcysten (Ziehl-Neelsen kleuring). (— = 20 µm)



(afb.28). *Giardia* cyste. (— = 20 µm)



(afb.29). *Giardia* cysten. In flotatiemedium met hoge dichtheid (sucrose of ZnSO₄) klappen cysten in. (— = 20 µm)



(afb.30). *Giardia* trofozoieten (Giemsa kleuring). (Beeldbank DGK UU) (— = 20 µm)

flotatiemedium met hoge dichtheid klappen de cysten in, waardoor het beeld halve-maan-vormig of banaanvormig wordt. Afb. 29. De trofozoët bezit twee kernen en acht flagellen. Afb. 30.

Tritrichomonas foetus

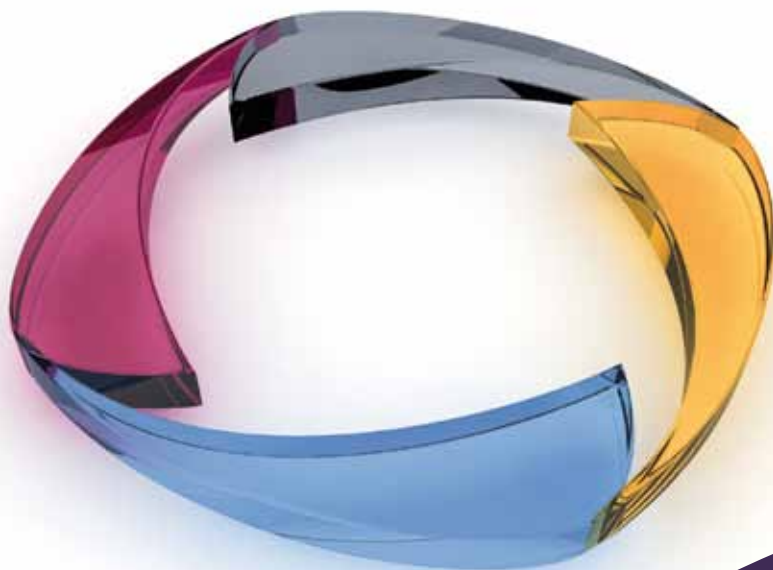
In zeer verse kattenfeces (of met behulp van een kweekmedium, zie afb. 6) kunnen trofozoieten (5-25 µm) van *Tritrichomonas* sp. (afb. 31) worden aangetroffen. Als ze snel door het beeld bewegen zijn ze makkelijk te herkennen. Deze parasiet kan diarree geven.



(afb.31). *Tritrichomonas* trofozoët (pijl). (— = 20 µm)

Uw nieuwe aanspreekpartner voor diergeneeskundige informatietechnologie in Nederland

Geïntegreerd praktijkmanagement, digitale beeldverwerking en digitale röntgen: advies, installatie en service – alles onder een noemer.



Vanaf nu hebben Nederlandse dierenartspraktijken en dierenklinieken een nieuwe aanspreekpartner wat betreft oplossingen aangaande IT-problemen: VetZ BV. De nieuw opgerichte dochteronderneming van de Duitse VetZ GmbH in Sliedrecht begeleidt dierenartsen en managers betrouwbaar en competent wat betreft praktijkmanagement, digitale beeldverwerking en digitale röntgen. Van concept tot toepassing.

Al meer dan 15 jaar behoort VetZ tot de leidende aanbieders van informatietechnologieën in de diergeneeskunde. Wat in 1990 als idee begon, is vandaag de dag een van de succesvolste en meest toonaangevende concepten in de diergeneeskunde: efficiënt praktijkmanagement, digitale beeldverwerking, digitale röntgen, innovatieve webtoepassingen en vakkundig advies. Alles in een. Perfect met elkaar verbonden.

VetZ begeleidt dierenartspraktijken, dierenklinieken en hoge scholen in heel Europa. Met Johan Richard van Dongen, directeur van de nieuwe VetZ BV, nu ook in Nederland. Als zoon van een dierenarts en praktijkmanager kent hij de behoeften van de Nederlandse dierenartsen uit eigen ervaring en hij weet precies waar het om draait: „Wat mij het meeste aanspreekt in VetZ is het professionele niveau en de uiterste precisie waarmee gewerkt wordt. De hoge mate van toewijding van het team achter VetZ aan het bedrijf en haar producten, vormt elke dag weer een inspiratiebron.

De naadloze integratie van al de diagnostische apparatuur in de dierenkliniek, van digitale röntgensystemen tot bloedcomputers en van echo tot endoscoop, is zeer indrukwekkend en geeft een unieke ervaring. Niet tevreden zijn met 'goed genoeg', maar verder ontwikkelen tot een perfect product en de bijbehorende perfecte service naar de klant, is het hoofddoelwit waarmee gewerkt wordt binnen VetZ."



Kom meer te weten over VetZ BV! Bel ons op wanneer u vragen heeft over onze producten of diensten of meer over geïntegreerd praktijkmanagement en geoptimaliseerde processen wilt weten! Wij verheugen ons op uw telefoontje!

De meest voorkomende wormeieren in honden- en kattenurine

Capillaria spp.

Dikwandig, rugbybalvormig, wat asymmetrisch, 60-65 μm bij 30 μm . Bezit aan elke pool een niet-prominerende, iets afgeplatte poolprop. Het ei is geel van kleur en de buitenkant van de wand is fijn gegranuleerd. De inhoud is fijnkorrelig en ongedifferentieerd. Afb. 17.

Microfilarieën in hondenbloed

Dirofilaria immitis

Ongeveer 300 μm lange microfilarieën. Afb. 10. Niet endemisch in Nederland. Wordt af en toe geïmporteerd met honden uit (sub)tropische gebieden (o.a. Zuid-Europa). Zijn moeilijk te onderscheiden van de microfilarieën van de apathogene *Dipetalonema* spp.



(afb.32). *Parascaris equorum* eieren. Van de onderste twee is de eiwitmantel geheel of gedeeltelijk verloren. (— = 20 μm)

De meest voorkomende wormeieren en -larven in paardenfeces

Parascaris equorum

Dikwandig, bolvormig, 90-100 μm . De wand is donkerbruin en heeft een gekorrelde oppervlak. Afb. 32. De buitenste laag van de wand (eiwitmantel) laat gemakkelijk los, waardoor het ei een ongekleurd, glad aanzien krijgt. Bevat een zygote die door de dikke, bruine wand minder goed zichtbaar is. Is de buitenlaag geheel of gedeeltelijk verdwenen, dan is de zygote goed zichtbaar. Afb. 32.

Strongylus type eieren

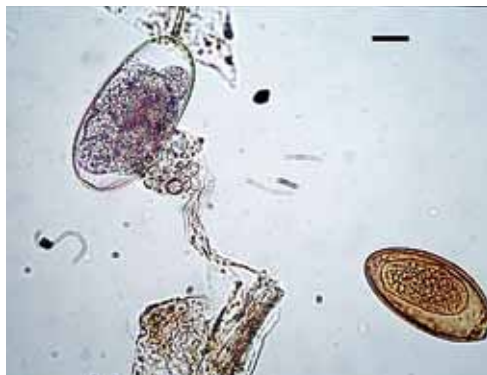
Worden geproduceerd door de kleine strongyliden of Cyathostominae, de grote strongyliden (behorende tot de Strongylinae) en *Trichostrongylus*. Ze zijn dunwandig en ovoid. De grootte varieert van 30-65 bij 70-140 μm . De inhoud bestaat in verse feces uit een morulastadium. Afb. 18, 19 en 34. In niet gekoeld bewaarde feces zijn de afzonderlijke blastomeren niet meer herkenbaar en na een dag kan reeds een larve in de eieren aanwezig zijn. Afb. 19. Het is zeer moeilijk om op basis van grootte van het ei en hoe het morulastadium eruit ziet, te bepalen om welke wormsoort het gaat.



(afb.33). *Strongyloides westeri* eieren. Enigszins vervormd door het flotatiemedium. (— = 20 μm)

Strongyloides westeri

Dunwandig, ovoid, 30-50 μm . Bevat een plompe, meestal U-vormig opgevouwen larve. In ZnSO_4 of sucrose met hoge dichtheid gaat dit ei kapot, gebruik dus een flotatiemedium van verzadigd NaCl . Afb. 33.



(afb.34). *Oxyuris equi* ei (rechtsonder) en een *Strongylus*-type ei (linksboven). (— = 20 μm)



(afb.35). *Anoplocephala perfoliata* ei.
(— = 20 μ m)



(afb.36). *Paranoplocephala mamillana* ei.
(— = 20 μ m)

Oxyuris equi

Dikwandig, asymmetrisch ovoïd, 40-45 bij 80-98 μ m. Bezit één wat schuine poolprop. Afb. 34. Deze aarsmade-eieren kunnen ook via de plakband methode worden verzameld. Druk een stukje cellotape op de peri-anale streek en plak dit vervolgens op een voorwerpplaatje voor microscopisch onderzoek.

Anoplocephala perfoliata

Dikwandig, hoefijzervormig (bolvormig met afgeplatte zijde) of ovaal/ovoïd, 65-80 μ m. Bevat hexacanth embryo, omgeven door peer-vormig zakje. Afb. 35 (zie ook Afb. 36).

Paranoplocephala mamillana

Dikwandig, ovoïd, 40-50 μ m (dus kleiner dan *A. perfoliata*). Komt minder vaak voor dan *A. perfoliata*. Afb. 36.

L1 Dictyocaulus arnfieldi

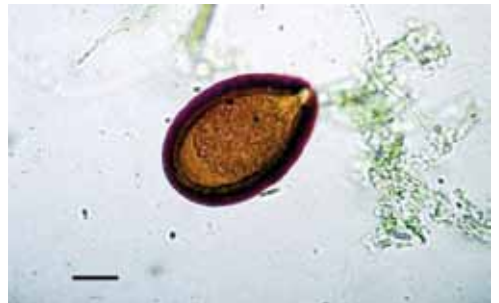
Larven (290-480 μ m lang) bewegen traag of lig-

gen stil en gekromd als een banaan. Darmcellen bevatten donkere granula (kenmerk van alle *Dictyocaulus* spp.). De staart eindigt stomp maar bezit een korte stekel. Afb. 37. Te onderscheiden van L1-larve van *Strongyloides*. Deze ligt altijd stil en recht en bezit geen darmgranula en is kleiner.

N.B.: Een *Dictyocaulus arnfieldi* infectie bij paarden is vaak niet aan te tonen met de Baermanntechniek. Dit komt doordat bij het paard de meeste wormen niet volwassen worden. Ezels reageren nauwelijks op een infectie met deze longworm. Geïnfecteerde ezels hebben dan ook zelden klinische verschijnselen. Doordat de parasiet bij de ezels wel geslachtsrijp wordt, zal deze wel larven uitscheiden met de feces. Omdat paarden zelden larven uitscheiden maar ezels wel, zullen paarden vrijwel altijd worden geïnfecteerd door contact met een ezels. Het kan dus zinnig zijn de ezels, waarmee het paard contact heeft gehad, te onderzoeken om de diagnose bij het paard aannemelijk te maken.



(afb.37). *Dictyocaulus arnfieldi* L1.



(afb.38). *Eimeria leuckarti* oöcyst.
(— = 20 μ m)

Soms kunnen *Eimeria leuckarti* oöcysten (afb. 38) worden gevonden in paardenfeces. Dit zijn grote donkerbruine oöcysten. Coccidiose komt echter bij het paard (vrijwel) niet voor. Een parasiet die soms bij het paard ook voorkomt is *Fasciola hepatica* (afb. 39 en 40). Als het tot ei-uitscheiding komt dan is het zeer gering, en kan daarom zeer gemakkelijk worden gemist. Een verzamelzefmethode kan dan uitkomst bieden. Verder kunnen regelmatig ciliaten worden waargenomen (afb. 40). Deze waarneming heeft geen enkele klinische betekenis.

ECTOPARASIETEN

Vlooien en luizen behoren tot de Insecta. De volwassen stadia hiervan hebben 3 paar poten. De luizen worden onderverdeeld in zuigende (anoplura) en bijtende (mallophaga) luizen. Bij zuigende luizen is de kop smaller dan de thorax, terwijl bij mallophagen de kop even breed of breder is dan de thorax. De thorax is het deel van het lichaam waarop de poten zijn geplaatst.

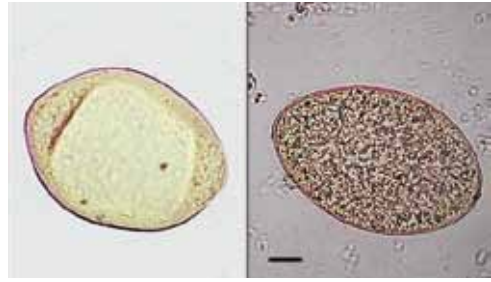
Mijten en teken behoren tot de Acarina (spinachtigen). De volwassen stadia hiervan hebben 4 paar poten. Larven van teken hebben 3 paar poten. Bij teken is een getand hypostoom zichtbaar (monddeel met zaagtandstructuur, of ook wel een gedoornde steeksnuit genoemd). Mijten worden onderverdeeld in kort- of langpotig, dat wil zeggen of de achterste 2 pootparen niet/nauwelijks of wel uitsteken buiten de lichaamsomtrek. Kortpotige schurfmijten graven in de huid van de gastheer. Teken worden onderverdeeld in harde (met rug schild) of zachte (zonder rug schild) teken.

De meest voorkomende ectoparasieten in huidmateriaal van de hond

Vlooien

Ctenocephalides spp.

Bij de hond wordt meestal *Ctenocephalides*



(afb.39). *Fasciola hepatica* ei. Rechts natief en links in ZnSO₄ flotatiemedium. (— = 20 µm)



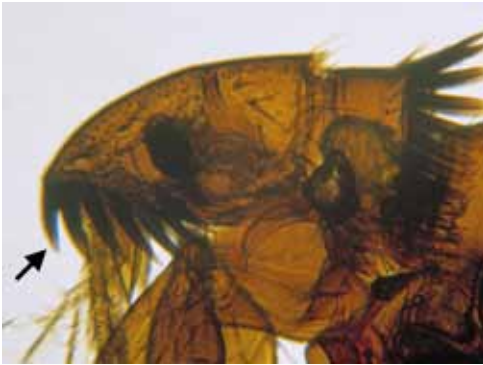
(afb.40). *Fasciola hepatica* ei en een ciliaat (pijl) in paardenfeces. (— = 20 µm)



(afb.41). *Ctenocephalides felis* vrouwtje.

felis aangetroffen. Afb. 41 en 42.

Ctenocephalides canis komt weinig voor. Afb. 43. De kop van *C. canis* is stomper dan die van *C. felis*. Met name het vrouwtje van *C. felis* heeft een veel minder stompe kop. De eerste ctenidie aan de onderkant van de kop is bij *C. canis* ongeveer de helft zo lang als de tweede. Bij *C. felis* is deze bijna net zo lang als de tweede (zie pijlen afb. 42 en 43). Deze



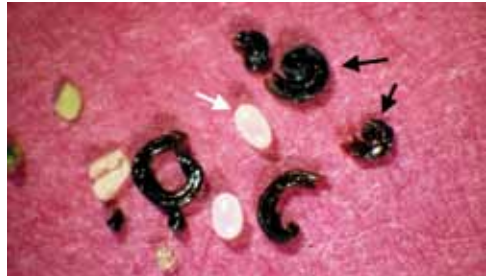
(afb.42). *Ctenocephalides felis* kop. Voorste ctenidie is net zo lang als de tweede ctenidie (pijl). (Beeldbank DGK UU)



(afb.43). *Ctenocephalides canis* kop. Voorste ctenidie is de helft zo lang als de tweede ctenidie (pijl). (Beeldbank DGK UU)



(afb.44). *Ctenocephalides felis* mannetje. Op de achterste poot mist 1 haar, terwijl bij *C. canis* daar twee zitten (zie pijlen).



(afb.45). Vlooiendoepjes (zwarte pijlen) en vlooieneieren (witte pijl). (Beeldbank DGK UU)



(afb.46). *Trichodectes canis*.



(afb.47). *Linognathus* sp.

kenmerken zijn niet altijd gemakkelijk waar te nemen. Een duidelijker verschil is dat bij *C. felis* een haar ontbreekt op de achterpoot en dat deze pootgeleding maximaal 6 vertandingen heeft (afb. 44). *C. canis* heeft op die plek twee haren en 8 vertandingen. In de vacht of in de mand kunnen vlooiendoepjes en vlooieneieren worden aangetroffen. Afb. 45.

Luizen

Trichodectes canis (vachtluis)

Bijtende luis. Afb. 46.

Linognathus setosus

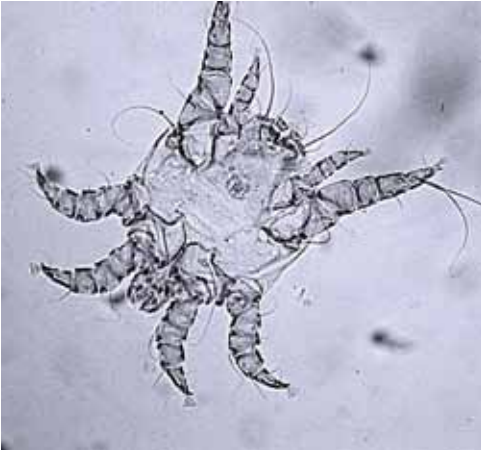
Zuigende luis. Eerste paar poten is kleiner dan het tweede en derde paar. Afb. 47.



(afb.48). *Demodex* sp.



(afb.49). *Sarcoptes* sp.



(afb.50). *Otodectes cynotis*.



(afb.51). *Cheyletiella* sp.

Mijten

Demodex sp.

Langgerekt van vorm met 4 paar zeer korte stompe pootjes. Cuticula bezit dwarsstreping. Afb. 48. *Demodex* is, in kleine aantallen, vaak aanwezig in de huid van honden die geen demodicose hebben. Daarom is de diagnose 'demodicose' alleen gerechtvaardigd bij het vinden van veel mijten.

Sarcoptes sp. (schurftmijt)

Is zeldzaam. Kortpotige mijt met lange, ongesegmenteerde zuignapstelen. Dorsaal op de voorste lichaamshelft, links en rechts, 3 driehoekige stekels. Afb. 49. N.B.: In tegenstelling tot de diagnose demodicose is het vinden

van één of enkele *Sarcoptes* mijten voldoende voor de diagnose scabies.

Otodectes cynotis (oormijt)

Langpotige mijt met korte zuignapstelen. Afb. 50.

Cheyletiella sp. (vachtmijt)

Langpotige mijt met, verhoudingsgewijs, enorme klauwen op de palpen. De palpen met klauwen lijken daardoor op een vijfde potenpaar. Afb. 51.

Neotrombicula sp. (herfst-, oogst- of fluweelmijt)

Op het dier worden alleen de larvale stadia aangetroffen. Ze zijn oranje van kleur en heb-



(afb.52). *Neotrombicula* sp. (Beeldbank DGK UU)



(afb.53). *Ixodes ricinus* vrouwtje. (foto: Rolf Nijse)



(afb.54). *Ixodes hexagonus* vrouwtje (Met dank aan Ard Nijhof).



(afb.55). *Dermacentor reticulatus* vrouwtje (Met dank aan Ard Nijhof).

ben drie paar lange poten die alle op de voorste lichaamshelft zijn geplaatst. Afb. 52.

Teken

Ixodes ricinus

Harde teek met ovaal rugschild. Verreweg de meest voorkomende tekensoort in Nederland. Ook wel de gewone of schapenteek genoemd. Is de vector van diverse pathogene organismen, waaronder verschillende Borrelia soorten. Afb. 53.

Ixodes hexagonus

Harde teek met zeshoekig (hexagonaal) rugschild. Wordt in Nederland minder vaak gevonden dan *I. ricinus*. Bekende teek bij egels. Afb. 54.

Dermacentor reticulatus

Harde teek, opvallend getekend met grote

bruine-rode bladertekening op een enigszins witte achtergrond. Bij de hond is het een vector van *Babesia canis*. Afb. 55.

Rhipicephalus sanguineus

Harde teek met ovaal rugschild. Ook wel de bruine hondenteek of kennelteek genoemd. Zeldzaam in Nederland, maar kan de levenscyclus voltooien in (verwarmde) asiels en kennels. Kan o.a. *Ehrlichia canis* overbrengen. Afb. 56.

De meest voorkomende ectoparasieten in huidmateriaal van de kat

Vlooien

***Ctenocephalides* spp.**

Bij de kat wordt, net als bij de hond, meestal *Ctenocephalides felis* aangetroffen. Afb. 41 en 42. *Ctenocephalides canis* komt zeer wei-



(afb.56). *Rhipicephalus sanguineus* vrouwtje
(Met dank aan Ard Nijhof).

nig voor. Afb. 43. Zie verder ectoparasieten bij de hond.

Luizen

Felicola subrostratus

De enige kattenluis. Bijtende luis met een forse, gepunte driehoekige kop. Afb. 57.

Mijten

Notoedres sp.

Kortpotige mijt met lange zuignapstelen. Afb. 58. Lijkt op *Sarcoptes*, heeft echter geen driehoekige stekels op de rug.

Otodectes sp./*Cheyletiella* sp./*Neotrombicula* sp.

Zie ectoparasieten bij de hond.

Teken

Zie ectoparasieten bij de hond.

De meest voorkomende ectoparasieten in huidmateriaal van het paard, ezel

Luizen

Werneckiella equi equi (voorheen *Damalinia equi*) (paard) en *W. equi asini* (ezel)

Mallophaag of vachtluis. Afb. 59.

Haematopinus asini

Anopluur of bloedluis. Afb. 60.



(afb.57). *Felicola subrostratus*.



(afb.58). *Notoedres cati*.



(afb.59). *Werneckiella* sp. (Beeldbank DGK UU)



(afb.60). *Haematopinus* sp.

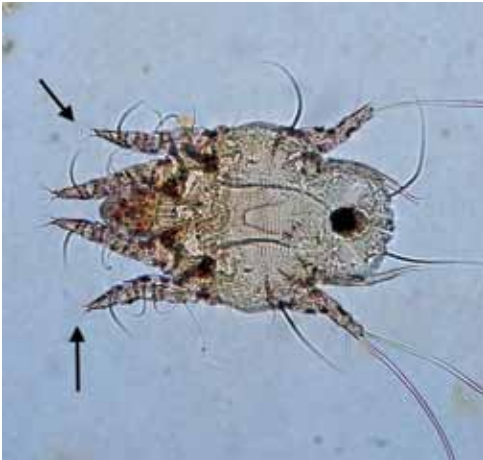
Mijten

Chorioptes sp.

Langpotige mijt met korte zuignapstelen. Afb. 61. Komt bijna uitsluitend voor bij paarden met lang behang aan de onderbenen. Is één van de mogelijke oorzaken van mok.

Demodex sp.

Langgerekt van vorm met 4 paar zeer korte stompe pootjes. Cuticula bezit dwarsstreping. Demodicose bij het paard komt zelden voor. Afb. 48.



(afb.61). *Chorioptes bovis*. Let op de zuignapstelen (zie pijlen).

Horzels

Gasterophilus intestinalis

Paardenhorzel waarvan de larven in de maag overwinteren. Eieren worden in de loop van de zomer en herfst afgezet op meestal de haren van hak en onderbenen van het paard. Eieren zijn van neten te onderscheiden door hun wat meer gelige kleur. Bovendien is het operculum scheef geplaatst in tegenstelling tot het operculum van neten. Afb. 62.



(afb.62). *Gasterophilus intestinalis*. Eieren op haren, een ei (detail), larven in de maag, en de volwassen horzel. (De foto van de volwassen horzel is afkomstig uit Wikipedia en is freeshare)

„Een klik en de afbeelding is klaar!“ Digitale röntgen met Canon DR




reddot design award
product design 2009

www.myXDR2.com

XDR2

Digitale röntgen van de volgende generatie. Twee detectorformaten (23 x 28 cm en 35 x 43 cm) en sterke, klopvaste kunststofomhulsels voor volledige flexibiliteit in uniek design. Dat is XDR2! Samen met de nieuwe, kleine oppervlakedetector CXDI-60G* en de betrouwbare CXDI-50G is XDR2 het nieuwe dreamteam voor digitale röntgen in de dierengeneeskunde! Perfecte beeldkwaliteit, eenvoudige bediening en onovertroffen workflow voor alle toepassingen. Voor kleine dieren en paarden. Stationair en mobiel.**

* Met 2,7 kg momenteel het lichtste systeem wereldwijd.

** XDR2-S: onze nieuwe stationaire oplossing voor de inbouw in uw praktijk of kliniek. Met elegante touchpanel-bediening en hulzen met een hoge weerstand aan de wand. XDR2-M: ons nieuw ontwikkelde mobiele röntgensysteem. Superlicht, robuust en met touchpanel staand te bedienen.

5. Het diagnostisch mycologisch onderzoek

door dr. D. J. Houwers en B. Blankenstein

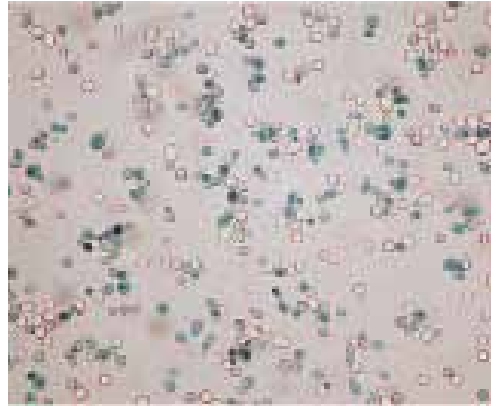
In Nederland en België zijn gisten en schimmels, met uitzondering van de dermatofyten, als ziekteverwekkers bij hond, kat en paard weinig relevant. In warmere streken spelen schimmels overigens een belangrijkere rol. Omdat de gisten en de niet-dermatofyten vanuit diagnostisch oogpunt zo'n geringe rol spelen, worden ze beknopt en voorafgaand aan de dermatofyten behandeld.

Gisten

Gisten hebben bij dieren maar beperkte pathogene betekenis. Het zijn typische opportunisten; de gastheer moet gelegenheid geven. Infecties kunnen ontstaan bij dieren met een lokaal of systemisch verminderde weerstand, of na langdurige antibioticum-behandeling waardoor de normale bacteriële flora wordt aangetast en de gist de kans krijgt om te koloniseren. *Candida* spp., voornamelijk *C. albicans*, zijn bij de mens belangrijk, maar worden bij hond en kat slechts bij grote uitzondering als ziekteverwekker gevonden. Bij het paard daarentegen kunnen verschillende species in uteruslijmmonsters worden aangetroffen (afb.1). Het zijn onder normale omstandigheden commensalen op de slijmvliezen van de intestinaal- en genitaaltractus. *Candida* spp. groeien gemakkelijk op verschillende media en zullen dus bij een bacteriologisch of mycologisch onderzoek tevoorschijn komen. Gistkolonies zijn herkenbaar aan hun morfologie: compact of slijmerig, bol en matwit van kleur, maar soms ook geel of rose. Een natief preparaat (of Gram-kleuring) maakt vervolgens het onderscheid met bacteriën.

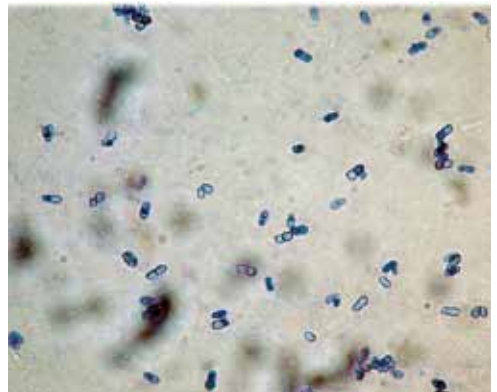
Cryptococcus spp. met als belangrijkste *C. neoformans*, komen in het milieu voor, maar ook op de huid en mucosae. Vooral duivenfeces bevat soms grote aantallen van deze gist. *C. neoformans* veroorzaakt bij hoge uitzondering nasale en/of subcutane granulomen (kat). Hoewel de gist gemakkelijk valt te kweken, wordt de diagnose meestal gesteld aan de hand van cytologisch onderzoek.

Malassezia pachydermatis is een normale



(afb. 1). *Candida* sp.

huidbewoner, die zich onder gunstige omstandigheden sterk kan vermeerderen (b.v. bij bepaalde dermatitis-vormen) en zou dan ook een (mede-) oorzakelijke rol kunnen spelen (afb.2). Voorts is *M. pachydermatis* de verwekker van gist-otitis bij de hond. Isolatie vraagt een speciaal gistmedium zoals de zgn.



(afb. 2). *Malassezia pachydermatis*

Sabouraud-b agar, Sabouraud dextrose-agar of Malt-agar. De gist groeit niet altijd uit cerumenmonsters, maar verraadt zijn aanwezigheid dan wel in het Gram-preparaat.

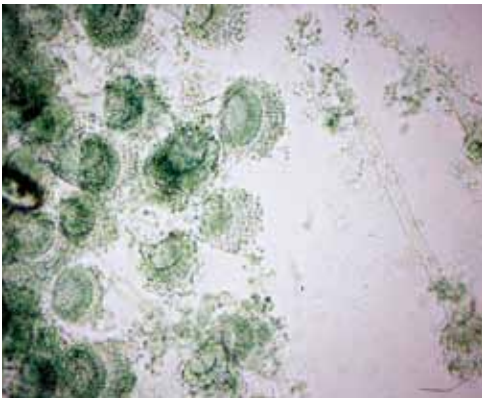
Cyniclomyces guttulatus (syn.

Saccharomycopsis guttulatus) is bekend als de 'brillendoosjesgist' die normaal in de digestietractus en de feces van konijnen, ha-



(afb. 3). *Cyniclomyces guttulatus*

zen en andere knaagdieren voorkomt. Deze gist komt soms massaal voor in de feces van honden en katten met chronische diarree. Waarschijnlijk kan de gist incidenteel een darmkanaal met een verstoorde flora (verminderde kolonisatieresistentie) koloniseren, daarmee de resterende bacteriële flora gedeeltelijk verdringend, om zodoende de oorzaak van de diarree te worden. Bij parasitologisch onderzoek vallen ze gemakkelijk



(afb. 4). *Aspergillus fumigatus*

op, zeker als centrifuge-sedimentatie-flotatie (CSF) wordt toegepast (afb. 3)

Mycosen

In onze klimaatzone zijn *Aspergillus* spp. de belangrijkste niet-dermatofyten. Systemische infecties zijn zeldzaam. Ze worden voornamelijk als verwekker van lokale aandoeningen als b.v. rhinitis/sinusitis aangetroffen. Verder kunnen ze als secundair organisme bij aller-

lei abnormale situaties voorkomen, zoals otitis externa. De diagnose berust op klinische waarneming in combinatie met het aantonen van de schimmel bij cytologisch/histologisch onderzoek of door isolatie ervan. *Aspergillus* spp. groeien gemakkelijk op allerlei standaard bacteriologische en mycologische media en zijn meestal eenvoudig microscopisch te herkennen (afb. 4). *Aspergillus* spp. komen op grote schaal in het milieu voor en kunnen daardoor ook als contaminant in monsters worden aangetroffen. In dit verband moet het aantonen van één of enkele kolonies *Aspergillus* voorzichtig worden geïnterpreteerd, zeker als de patiënt in een stoffige omgeving verkeert. Herhaling van de bevinding is dan gewenst. Andere schimmels, zoals *Mucor*, *Alternaria*, *Cladosporium* en *Fusarium* spp. worden sporadisch in klinische monsters aangetroffen, maar dan vrijwel altijd als opportunisten in chronische processen, zoals keratoconjunctivitis na trauma en otitis externa.

Onychomycose

Hoewel veel handboeken schimmels aanwijzen als één van de mogelijke oorzaken van nagelbedontstekingen en nagelproblemen in het algemeen, is dat diagnostisch moeilijk hard te maken. Uit dierlijk nagel- en hoefmateriaal worden altijd wel allerlei schimmels geïsoleerd, zonder dat aannemelijk kan worden gemaakt dat die ook werkelijk een (mede) oorzakelijke rol spelen. Onychomycose is bij de mens overigens wel een geaccepteerde klinische entiteit, maar dan veroorzaakt door dermatofyten als bijvoorbeeld *Trichophyton mentagrophytes* en *T. rubrum*. Bij dieren worden dermatofyten juist niet in hoef/nagelmateriaal aangetroffen.

Dermatofytose

Dermatofyten zijn nauw verwante schimmels die keratine gebruiken voor hun groei. Ze kunnen de haarfollikels en de huid tot aan het stratum corneum infiltreren. Van veterinair belang voor hond, kat en paard zijn hoofdzakelijk *Microsporum* en *Trichophyton* spp. In sommige gevallen reageert de gastheer niet op de aanwezigheid van de dermatofyt. Die parasiteert dan zonder laesies te veroorzaken: er is sprake van dragerschap. Bij de hond en het paard komt voor zover bekend geen dragerschap voor. Daarentegen is het *M. canis*-dra-

Dermatofyten zijn zoönotisch: bij de mens ziet men in een vroeg stadium één of meer iets verheven, rode plekjes, soms jeukend, met een opvallend ruw oppervlak. De klinische diagnose 'huidschimmel' wordt regelmatig ten onrechte gesteld. De gevoeligheid ervoor verschilt sterk; kinderen zijn relatief gevoelig (afb.5).



(afb. 5). *Trichophyton verrucosum* aandoening opgelopen in een runderstal

gerschap bij de kat van groot epidemiologisch belang. Sommige katten kunnen in sterke mate gear parasiteerd zijn zonder huidafwijkingen te vertonen. Zo'n dier fungeert als bron van besmetting voor zijn omgeving en moet dus worden opgespoord als zich klinische infecties bij andere katten of dieren (mensen) voordoen. Voorts kan bij knaagdieren dragerschap van *T. mentagrophytes* voorkomen. Dit is van belang als deze dermatofyt bij andere huisdieren of mensen wordt aangetroffen.

Net als veel andere schimmels moeten dermatofyten als voorwaardelijk pathogeen worden beschouwd. De gastheer moet aan bepaalde voorwaarden voldoen om -al dan niet- klinisch gear parasiteerd te kunnen worden; de gastheer moet gepredisponeerd zijn, de 'huidweerstand' verlaagd. Men zou een dermatofyt in die zin ook als een opportunist kunnen beschouwen.

Bij de pathogenese van de eventuele laesies staat waarschijnlijk een ontstekingsreactie op de afbraakproducten van de schimmel centraal. Dit zou ook kunnen verklaren waarom er klinisch gezonde dragers zijn; de

gastheer reageert niet. De schimmel dringt in de haarfollikels en de epidermis. Als er een ontstekingsreactie op gang komt, raken de uitgroeiende haren verzwakt en breken af. In de epidermis zijn de verschijnselen afhankelijk van de aard en de heftigheid van de ontstekingsreactie. Soms is de ontsteking schadelijk voor de parasiet; de schimmel verplaatst zich naar gezonde huid en zo ontstaat de klassieke ringvormige laesie (ringworm) met een centraal gebied waar genezing is opgetreden.

Meer dan 90% van de dermatofytosen bij kat en hond wordt veroorzaakt door *M. canis*, het resterende deel veelal door *T. mentagrophytes*. Bij het paard zijn de belangrijkste species *M. equinum*, *M. gypseum* en *T. equinum*. In de literatuur wordt bij het paard ook gesproken van *M. canis* infecties. *M. canis* en *M. equinum* zijn morfologisch en ook anderszins soms moeilijk van elkaar te onderscheiden en daarom wordt in dit verband uitsluitend gesproken over *M. equinum*.

De klinische presentatie van een huidschimmelinfectie varieert van geen veranderingen, via lokale, soms typische ringworm laesies tot gegeneraliseerde infecties die gecompliceerd worden door bacteriële infecties. Verder worden zelfs vrij typische ronde laesies niet altijd door huidschimmel veroorzaakt. Een diagnose op grond van klinische waarneming is dus weinig betrouwbaar! Met andere woorden: in alle gevallen moet de klinische diagnose 'huidschimmel' verder worden onderbouwd. Bij hond en kat is de Woodse lamp een klinisch-diagnostisch hulpmiddel. Bepaalde metaboliëten van *M. canis* fluoresceren onder ultraviolet licht, zowel in situ op het dier als in losse haren en afkrabsels. Helaas geeft maar ongeveer de helft van de *M. canis*-infecties fluorescentie, dus 'Woodse lamp negatief' sluit dermatofytose niet uit. Daarentegen biedt 'Woodse lamp positief' een redelijke mate van zekerheid; er is maar een geringe kans op een vals-positieve reactie, mits kritisch toegepast. *Trichophyton* spp., *M. gypseum* en een deel van de *M. equinum*-stammen geven geen fluorescentie, waardoor gebruik van de Woodse lamp bij het paard weinig of geen waarde heeft.

Laboratoriumonderzoek kan bestaan uit microscopisch en/of cultureel (kweek) onderzoek. Microscopisch onderzoek is simpel

uitvoerbaar, maar vereist ervaring. Bij een negatief resultaat is in veel gevallen een schimmelkweek noodzakelijk. Andere methoden van onderzoek zijn tot nu toe onvoldoende betrouwbaar en/of praktisch gebleken. Zo bleek de antistofbepaling (serologie), waarover in eerste instantie hoopgevende berichten verschenen, toch onvoldoende betrouwbaar voor diagnostisch of dragerschap-onderzoek bij de kat. Detectiemethoden zoals de PCR zijn in principe beschikbaar, maar de interpretatie van een positief resultaat is moeilijk omdat het niet of weinig kwantitatief is en bovendien zal ook DNA van niet vitale dermatofyten worden gedetecteerd. Het in dit kader valideren van een op de PCR gebaseerde diagnostische test voor dierlijke monsters zal daarom niet eenvoudig zijn. Een negatief resultaat zal in de meeste gevallen echter wel behoorlijk betrouwbaar zijn.

Monsterneming

Net als bij het bacteriologisch onderzoek (BO) is ook bij mycologisch onderzoek (MO) een goed genomen monster van groot belang voor betrouwbare diagnostiek. Een goed monster bevat haren van de rand van de laesie, indien aanwezig; als er ook korstvorming is, worden ook wat korstafkrabsels mee bemonsterd. Haren moeten worden uitgetrokken, niet afgeknipt! Voor onderzoek op dragerschap (katten en knaagdieren zonder laesies) wordt het beste volgens de MacKenzie-methode bemonsterd: het dier wordt met een nieuwe tandenborstel met vlakke borstel gedurende 1 minuut helemaal afgeborsteld.

Bij het paard zitten op de vacht gewoonlijk zeer veel bacteriën en saprofytaire schimmels die bij de kweek sterk storen en zelfs de dermatofyten kunnen overgroeien. Daarom moet bij het paard altijd, voorafgaand aan de monsterneming, desinfectie m.b.v. 70% alcohol (spiritus) plaatsvinden. Pas als de alcohol is verdampt, neemt men het monster voor mycologisch onderzoek. Een praktisch alternatief is het materiaal na monsterneming even in spiritus te drenken. Bij hond en kat is dit gewoonlijk niet nodig; bij sterk vervuilde dieren is het echter wel verstandig. Dermatofyten-sporen zijn bestand tegen spiritus.

Verpakken en verzenden

Voor verzending worden de haren/korsten of

de tandenborstel (waarvan liefst de steel is afgeknipt) in een zo klein mogelijk dichtgevouwen papiertje of medicijnzakje verpakt dat vervolgens goed moet worden dichtgeplakt. Volgens de regelgeving t.a.v. het vervoer van diagnostische monsters wordt dit in een sealbag gestopt alvorens dit tezamen met het inzendformulier in een toegestane verzendvelop wordt gedaan.

Materiaal beslist niet direct in plastic (statisch) verpakken! Vanwege het zoönotisch risico dient men inzendformulieren niet direct bij het afgenomen materiaal mee te verpakken maar buiten de sealbag te houden.

Mycologisch onderzoek (MO)

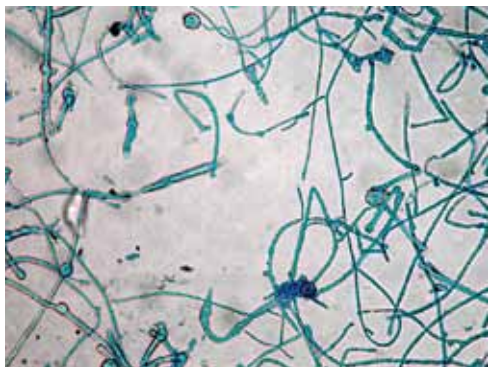
Direct microscopisch onderzoek

Voor direct microscopisch onderzoek worden 20 à 30 haren op een voorwerpglas gebracht. Deze worden opgehelderd door ze met enkele druppels 10-30% KOH of NaOH eventjes te verwarmen in de vlam (niet koken), waarna een dekglasje wordt aangebracht. Het preparaat wordt eerst met een kleine vergroting bekeken om plekken te zoeken die zich lenen voor inspectie met sterkere vergroting vanaf 200 x. Geïnfecteerd haar is te herkennen aan een korrelige manchet van sporen aan de basis van de haar en soms ook aan korreling in de haar (zie b.v. afb. 15).

Kweek

Het kweken (doen groeien) van dermatofyten vereist geen specifieke expertise, wel speciale media en een broedstoof. De determinatie van de gekweekte schimmels vereist specifieke expertise, want op de vacht van dieren en in het milieu komen talloze saprofytaire schimmels en hun sporen voor die in een kweek ook groeien en dan de dermatofyten kunnen overgroeien. Een goed laboratorium zal verschillende media gebruiken, meestal bij 25 en/of 30°C incuberen, regelmatig controleren op morfologisch verdachte kolonies en die microscopisch trachten te determineren aan de hand van de verschillende kenmerken. Vooral dit laatste aspect vraagt kennis, ervaring en goede handboeken; een schimmelspecies kan zich zowel macroscopisch als microscopisch in verschillende gedaanten presenteren. Dermatofytenkweken worden in de regel max. 2 (hond/kat) tot max. 3 (paard)

weken bebroed, alvorens ze als negatief kunnen worden afgegeven. Soms groeit *M. canis* snel en laat zich dan al na 5 dagen determineren. Kweken van dieren die –nog- antimycotica krijgen worden vaak langer aangehouden, omdat de groei dan trager is en de determinatie vaak moeilijker (afb.6).



(afb. 6). *Preparaat van een lang behandelde kat*

Resultaten van antimycoticumgevoelheidsbepalingen zijn weinig betrouwbaar. Er zijn wel indicaties voor verschillen in klinische effectiviteit. Dit heeft meer met de patiënt en de therapie te maken dan met ongevoeligheid van de schimmel.

‘In huis’ kweek

Schimmelkweek kan in principe ook goed ‘in huis’ plaatsvinden. Er zijn speciale dermatofytenkweeksetjes (o.a. Dermafyt[®], DTM[®] en Fungassay[®]) te koop met een kleurindicator die omslaat als er dermatofyten groeien. Hiervoor is geen broedstoof nodig. Deze kweeksetjes zijn redelijk betrouwbaar, mits de beperkingen ervan goed in het oog worden gehouden en de instructies van de fabrikant worden opgevolgd. De haren/korstjes moeten voorzichtig met een steriele –uitgeglode en daarna afgekoelde- pincet op het oppervlak van het medium worden aangebracht en licht aangedrukt. De be-



(afb. 7). *Microsporium canis* kweek drager kat, selectief medium VMDC.

langrijkste voorwaarde is dat de kleuromslag moet plaatsvinden binnen de door de fabrikant aangegeven termijn –meestal 10 dagen- en voordat er duidelijk waarneembare schimmelgroei te zien is. Kleuromslag die daarna optreedt is niet betrouwbaar vanwege groei van saprofyten en bacteriën. Is er helemaal geen kleuromslag dan is er ook geen sprake van een dermatofyt! De diagnostische gevoeligheid is beperkt, maar wel voldoende bij klinisch verdachte gevallen of voor het opsporen van dragers (afb. 7, 8, 9, 10).



(afb. 8). *M. canis*, vrij spitse macroconidia, herkenbaar aan het gebogen rostellum

Determinatie

De betrouwbaarheid van een positief resultaat wordt nog verder verhoogd door de groeiende schimmel(s) te –laten- determineren. De macroscopische verschijningsvorm is hiertoe onvoldoende specifiek. Microscopische determinatie is in de meeste gevallen goed uitvoerbaar. Het vereist wel enige expertise en bewustzijn van de eigen beperkingen. Een stukje van de verdachte schimmelkolonie



(afb. 9). Weinig of geen kleuromzetting kan ook duiden op een verlopen datum van het kweekmedium.



(afb. 10). Fungassay van huid van een hond met veel groei van *T. mentagrophytes*.

wordt voorzichtig in een druppel lactofenol-cotton blue (Merck® 113741) op een voorwerp-glas overgebracht, waarna een dekglasje wordt aangebracht. Het preparaat wordt met 200 - 400 x vergroting bekeken. Gekweekte schimmels vormen na verloop van tijd – vaak ca. 5 dgn.- typische species-specifieke mi-

cro- en macroconidia aan de hand waarvan determinatie plaatsvindt. *Microsporum* spp. zijn te herkennen aan de typische macroconidia. Sommige *Trichophyton* spp. maken geen macroconidia, maar wel veel microconidia, bij *T. equinum* zitten ze met een zeer kort steeltje aan de hyphen terwijl die van *T. mentagrophytes* dicht op hyphen zitten (afb 11).



(afb. 11). Preparaat van *Trichophyton mentagrophytes*



(afb. 12). Preparaat van *M. gypseum*, een geografische dermatofyt

Bij twijfel, of als er geen macroconidia te vinden zijn, of als ze niet overeenkomen met de hier getoonde, is het raadzaam om het kweeksetje ter beoordeling of verdere kweek naar een gespecialiseerd laboratorium te sturen, liefst met nog wat los haar/huidmateriaal. Let wel: niet alle dermatofyten gedragen zich volgens het boekje. Onjuiste conclusies in dit verband kunnen voor patiënt en eigenaar verstrekkende gevolgen hebben! Determinatie is natuurlijk ook van belang in het kader van het brononderzoek of de vraag of het een potenti-



(afb. 13). *Trichophyton mentagrophytes* tandenborstelafdruk



(afb. 14). Mooie en typische kattenkweek

Wees voorzichtig bij interpretatie van een uitslag 'sporadisch' of 'enkele' kolonies van een dermatofyt. Het milieu van dieren bevat vaak zwerfsporen, die als contaminant in het monster terecht kunnen komen.

ële stalinfectie betreft.

Resultaat van MO en de interpretatie

Direct microscopisch onderzoek

Worden er bij het direct microscopisch onderzoek geen sporen rond geïnfecteerde haren gevonden, dan is dermatofytose nog niet uitgesloten, want de diagnostische gevoeligheid van deze methode is gering. Zijn ze wel met zekerheid gezien, dan is de diagnose gesteld; alleen weet men dan nog niet welke dermatofyt-species er in het spel is. Voor het eventuele brononderzoek is dat vaak wel van belang; 'drager' in de omgeving? Bij het paard is het van belang te weten of het *M. gypseum* (afb. 12) betreft, want dat is een infectie die uit de bodem komt. Dit betekent dan dat er geen sprake is van een stalinfectie en dat andere paarden geen besmettingsrisico lopen.

Cultureel onderzoek ('kweek') door een gespecialiseerd laboratorium

De interpretatie van kweekresultaten vraagt

nadrukkelijk om aandacht. Als er meerdere of veel kolonies van *M. canis* bij de kat en *T. mentagrophytes* bij knaagdieren worden aangetoond, is de conclusie duidelijk: het dier is geïnfecteerd, ook al zijn er geen laesies (afb. 13, 14). Als slechts één of enkele kolonies worden gevonden, is voorzichtigheid geboden. Schimmelsporen, dus ook die van dermatofyten, komen overal in het milieu voor; ze kunnen zelfs door de lucht zweven. Dit betekent dat het aantonen van één of enkele kolonies van een dermatofyt nog niet hoeft te betekenen dat het dier echt geïnfecteerd is; het kunnen immers sporen uit het milieu van het dier zijn die aan de vacht zijn blijven kleven.

Met uitzondering van *M. canis* bij de kat en *T. mentagrophytes* bij knaagdieren, moet het aantonen van dermatofyten bij dieren zonder laesies in eerste instantie als contaminatie vanuit de omgeving worden gezien. Bij dieren met laesies waaruit verscheidene of veel kolonies van een dermatofyt worden gekweekt, is de conclusie dermatofytose gerechtvaardigd. Worden in zo'n geval slechts één of enkele kolonies gevonden, dan is voorzichtigheid m.b.t. de interpretatie geboden. Het bovenstaande geldt ook bij controlekweken in het kader van de evaluatie van de behandeling. De uitslag 'enkele kolonies' rechtvaardigt in elk geval de conclusie dat het milieu nog onvoldoende 'schoon' is en dat de behandeling dus nog niet klaar is. Of

de kat zelf al vrij van schimmelgroei is, blijft dan in het midden. Als men wil weten of het restsporen betreft en het probleem dus in de behandeling van de omgeving schuilt, kan men de kat voor de monsterneming wassen, in een schone ruimte laten drogen en daarna bemonsteren.

Het aantal gekweekte kolonies hangt uiteraard samen met de hoeveelheid schimmel en sporen die in het monster aanwezig waren. Daaruit volgt dat de hoeveelheid monstermateriaal dat in kweek is gebracht ook van belang is; enkele haren zijn natuurlijk weinig representatief. Voorts moet het materiaal maximaal met het mediumoppervlak in contact zijn gebracht. De controlekweek tijdens behandeling wordt bemoeilijkt door het feit dat de eventueel aanwezige schimmels/sporen minder goed groeien en daardoor moeilijk te determineren zijn. Daarom worden die kweken meestal wat langer voortgezet.

'In huis' kweek

De interpretatie van 'in huis' kweek is bij kleuromslag volgens voorschrift eenvoudig; omdat de gevoeligheid lager is, zullen alleen monsters met veel dermatofytengroei er als positief uitkomen. Dus is de kans op vals-positieven t.g.v. omgevingscontaminatie klein. Met uitzondering van kat en knaagdier zullen er nauwelijks dieren zonder laesies zijn die bij deze methode een kleuromslag geven. N.B. een sterk met bacteriën gecontamineerd monster kan ook kleuromslag geven. Bacteriegroei is echter gemakkelijk te onderscheiden. Samenvattend is de interpretatie van een correct uitgevoerde en beoordeelde 'in huis' kweek simpel: kleuromslag betekent veel dermatofyten in het monster, de patiënt is geïnfecteerd. Is er geen kleuromslag, dan is schimmelinfectie niet met zekerheid uit te sluiten; de gevoeligheid van de methode is immers beperkt.

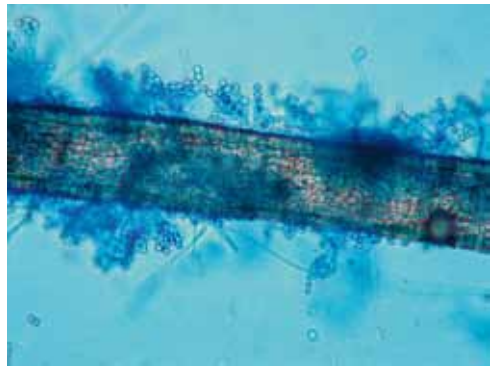
De meest voorkomende dermatofyten/schimmels

Bij hond en kat komt *M. canis* veruit het meest voor, op afstand gevolgd door *T. mentagrophytes*. Andere dermatofyten komen voor maar zijn uitzonderingen.

In het materiaal dat wordt aangeboden bij het Veterinair Microbiologisch Diagnostisch Centrum van de Faculteit der Diergeneeskunde

te Utrecht worden ook nog wel andere schimmels aangetroffen, waarvan de betekenis in z'n algemeenheid moeilijk is aan te geven. Zo worden met regelmaat *Chrysosporium/Aphanoascus* spp., welke nauw verwant zijn aan de dermatofyten, en *Scopulariopsis* spp.

Bij dermatofyten van het paard is determinatie ook belangrijk: potentiële stalinfectie door M. of T. equinum, of individueel geval door M. gypseum?



(afb. 15). *Scopulariopsis brevicaulus* rond een aangetaste haar.



(afb. 16). *Chrysosporium* spp. worden soms abusievelijk voor *Trichophyton* spp. aangezien.

gevonden. Ze zijn keratinofiel en worden op grond daarvan als voorwaardelijk pathogeen beschouwd. Ze worden echter ook bij gezonde dieren aangetroffen en daarom is het moeilijk om hun betekenis aan te geven. Het aantonen van enkele kolonies heeft waarschijnlijk geen betekenis. Echter, in die gevallen waarin er

veel kolonies in reïncultuur zijn gevonden, zouden ze (mede-) oorzakelijke betekenis kunnen hebben (afb.15, 16).

Bij het paard komen *M. equinum*, *M. gypseum* en *T. equinum* voor. Andere dermatofyten worden slechts bij uitzondering gevonden. In het kader van de vraag of het een potentiële stalinfectie betreft, is het van belang om de betrokken dermatofyt te (laten) determineren; *M. gypseum* (geofiele schimmel) bevindt zich in de bodem en geeft op zichzelf staande gevallen van dermatofytose.

(On)Mogelijkheden van 'in huis' diagnostiek

Vanwege de beperkte gevoeligheid heeft het

direct microscopisch onderzoek alleen waarde bij het daadwerkelijk aantonen van arthrosporen rond geïnfecteerde haren; een positief resultaat is betrouwbaar bij voldoende expertise. Een eventueel bijkomend nadeel is dat de dermatofyt zo niet gedetermineerd kan worden. De correct uitgevoerde 'in huis' kweek m.b.v. dermatofytenkweeksetjes is voldoende gevoelig voor klinisch verdachte patiënten en het opsporen van -klinisch gezonde- dragers. Als de gebruiksaanwijzing wordt gevolgd, is de betrouwbaarheid voldoende. Door microscopische determinatie van de gegroeide schimmel neemt de betrouwbaarheid verder toe. Bovendien wordt dan informatie verkregen die van belang is voor het brononderzoek

6. Het diagnostisch virologisch onderzoek

door dr. H.F. Egberink

In de praktijk is de diagnose van een virusziekte bij hond, kat en paard vaak een waarschijnlijke diagnose op grond van de klinische verschijnselen. Zo'n waarschijnlijkheidsdiagnose kan alleen definitief worden door laboratorium-onderzoek. Virusdiagnostiek wordt echter relatief weinig aangevraagd. De geringe vraag wordt voornamelijk bepaald door het feit dat dergelijk onderzoek in de meeste gevallen veel tijd vergt en doordat er weinig therapeutische mogelijkheden zijn bij virale aandoeningen. Toch zal men in de praktijk vaker de behoefte hebben om een definitieve diagnose te stellen, niet alleen ter bevrediging van de behoefte aan een uiteindelijke diagnose bij de individuele patiënt, maar ook omdat op grond hiervan gerichte preventieve maatregelen kunnen worden genomen. Daarnaast nemen de mogelijkheden van antivirale therapie toe. Voorbeelden hiervan zijn de toepassing van Interferon-omega bij de behandeling van pups met acute parvovirus infecties en anti-herpesvirale middelen. Behandeling met deze middelen dient te geschieden op basis van een specifieke diagnose.

De mogelijkheden voor praktische virusdiagnostiek waarbij in relatief korte tijd een waarschijnlijke diagnose kan worden bevestigd zijn ook toegenomen door het op de markt komen van verschillende zogenaamde 'patient side tests' en door de introductie van moderne moleculaire technieken bij diverse laboratoria. De -eerder latente- behoefte aan virusdiagnostiek is daarmee ook toegenomen.

De diagnostiek van virusziekten –en veel andere infectieziekten- is in grote lijnen gebaseerd op twee verschillende principes:

- a) directe methode, door aantonen van het oorzakelijk virus in z'n geheel, of van onderdelen van het virus zoals virusantigenen of viraal DNA/RNA;
- b) indirecte methode, door aantonen van antilichamen tegen het virus of delen daarvan (serologie).

Technieken die het meest bij a) worden toegepast zijn:

- virusisolatie in celcultuur ('viruskweek'): bijvoorbeeld isolatie van feline herpes- of calicivirus uit swabs genomen uit de oropharynx;
- aantonen van virus d.m.v. elektronenmicroscopie: bijvoorbeeld detectie van virus in diarreemonsters;
- aantonen van virus (-onderdelen) of viraal DNA/RNA in weefsels, cellen, se- en excreta d.m.v. immunologische of moleculair-biologische technieken, met name PCR.

Virusisolatie is arbeidsintensief en wordt als routine-diagnostiek niet vaak meer toegepast. Dat geldt ook voor de electronenmicroscopie. Aanschaf en onderhoud van een EM is kostbaar. Immunologische technieken waarbij met behulp van specifieke antilichamen viruseiwitten in se- en excreta al dan niet in cellen worden aangetoond worden wel veel gebruikt. Met behulp van deze technieken kunnen binnen korte tijd vele monsters worden gescreend. De ELISA is hiervan een voorbeeld, evenals de principes die worden toegepast in verschillende commerciële sneltesten. De moleculaire technieken waarmee stukjes viraal DNA/RNA kunnen worden aangetoond, worden ook meer en meer in de diagnostiek toegepast. Vooral de PCR is hiervan een voorbeeld. Deze techniek wordt in de routinediagnostiek van virusinfecties bij hond, kat en paard steeds vaker gebruikt. Voor het aantonen van antilichamen (b), worden verschillende serologische technieken toegepast. In veel gevallen wordt een titerstijging in zogenaamde gepaarde sera van 4 maal of groter (seroconversie) bewijzend geacht voor een infectie. Serologische technieken die worden gebruikt zijn o.a. virusneutralisatie, immunofluorescentie en ELISA. Tegenwoordig vinden vooral allerlei varianten van de ELISA toepassing. Een bijzondere variant van de ELISA is de zogenaamde membraan-migratietechniek, (ook wel immuunchromatografie genoemd) waarbij gebruik wordt gemaakt van het feit dat immunoglobulinen (en andere eiwitten)

snel in een bepaald membraan migreren en door een antigeen dat zich op een bepaalde plaats op dat membraan bevindt, specifiek worden gebonden. Door de ophoping van een kleurstofmarker die tijdens het proces aan het immunoglobuline is gekoppeld, ontstaat dan op die plek een zichtbaar signaal, bijvoorbeeld een streepje of rondje. Veel van de testkits die nu beschikbaar zijn of zullen komen, zijn op deze techniek gebaseerd. Voorbeelden zijn de FIV testen waarmee antilichamen worden aangetoond en de FeLV-, parvo-, rota-, en coronavirustestkits waarmee virusantigenen worden aangetoond.

De diagnostische betrouwbaarheid van een test

Het gebruik van testkits in de praktijk stelt de practicus in staat om op een snelle en eenvoudige wijze een diagnose te stellen, vooral t.a.v. FIV en FeLV, parvo en coronavirus infecties bij de hond. Men dient echter wel rekening te houden met de diagnostische betrouwbaarheid van een uitslag. Als men een kat positief test op bijvoorbeeld FIV of FeLV, zal men de betrouwbaarheid gevoelsmatig hoog inschatten. Echter, zeker als men bloed van gezonde katten test, is de diagnostische betrouwbaarheid van een positieve uitslag vaak gering. Er bestaat dan een reële kans dat de test vals positief is. Dit is niet te wijten aan het feit dat de test niet goed zou zijn –de specificiteit ligt meestal rond de 98%-, maar dat ligt aan de relatief lage prevalentie van zowel FIV als FeLV onder Nederlandse katten, waardoor de kans op een vals positief resultaat groot is. In hoofdstuk 2 werd aangegeven dat de diagnostische betrouwbaarheid van een positief resultaat van verschillende factoren afhangt en soms opvallend gering kan zijn. De betrouwbaarheid van een negatieve uitslag is daarentegen veel groter, hetgeen het gebruik van deze tests in de praktijk voor het testen van gezonde katten zonder meer geschikt maakt.

Het gevaar zit dus in een positief resultaat bij een gezonde kat. Eigenlijk hoort een positieve uitslag altijd geconfirmieerd te worden, ook bij een zieke kat, i.v.m. de prognostische consequenties. Confirmatie dient te geschieden met een test gebaseerd op een ander principe. Bij FIV is de gouden standaard de zogenaamde 'Western blot'. Voor FeLV is confir-

matie met behulp van een test gebaseerd op een ander principe, dan wel virusisolatie of detectie m.b.v. PCR noodzakelijk. Een nieuw monster nemen, bij voorkeur na enige tijd (bijvoorbeeld een week), en testen is een andere manier om de betrouwbaarheid van een positief resultaat te verhogen. Als gebruik wordt gemaakt van een extern laboratorium moet men navragen of een positief resultaat voor FIV of FeLV daar geconfirmieerd wordt, en zo ja, hoe.

Monsterneming en verzending

Voor een betrouwbare diagnose van een virusinfectie is het op juiste manier verzamelen en verzenden van monsters van belang. In het algemeen dienen monsters vroeg in de infectie te worden verzameld. De benodigde 'monsterkwaliteit' hangt af van de toe te passen techniek. Deze worden grotendeels bepaald door de vraagstelling, c.q. aan welke virussen wordt gedacht, en wat de mogelijkheden van het laboratorium zijn. Bij virusdiagnostiek worden de verschillende virussen elk met een eigen methode onderzocht. Dit houdt in dat een algemeen onderzoek, zoals dat bij bacteriën wordt gedaan –'kweken', t.a.v.. virussen nauwelijks mogelijk is. De aanvrager/inzender moet aangeven op welke virussen hij/zij het materiaal onderzocht wil hebben. Daarmee is dan ook bepaald welke monsterkwaliteit vereist is. Zo moet materiaal voor een poging tot virusisolatie vers en zo min mogelijk gecontamineerd zijn en bij voorkeur in een viraal transportmedium, gekoeld en zo snel mogelijk, naar het laboratorium worden vervoerd. Maar voor materiaal voor antigeendetectie d.m.v. een immunodetectietechniek gelden minder stringente eisen. Monsters worden genomen afhankelijk van de aard van de klinische verschijnselen. Voor het nemen van monsters van neus- of mondslimvlies of huid kan gebruik worden gemaakt van swabs. Deze swabs worden in transportmedium gedaan en gekoeld bewaard (niet ingevroren) en verzonden. Bloedmonsters kunnen in bloedbuizen met EDTA worden verstuurd. Fecesmonsters voor virusisolatie worden zonder toevoegingen direct opgestuurd. Voor serologisch onderzoek dient men bloed af te nemen. Bij voorkeur laten stollen bij kamertemperatuur, centrifugeren en serum afnemen. Voor de

meeste bepalingen kan echter ook plasma worden gebruikt. Voor serologische diagnostiek zijn meestal gepaarde sera (serum genomen tijdens de acute ziektefase en een tweede serum 3-4 weken later tijdens reconvalescentie) nodig. Een uitzondering vormen persisterende infecties zoals FIV infectie omdat de aanwezigheid van antilichamen betekent dat het dier ook het virus bij zich draagt (tenzij het dier ook is gevaccineerd). Daarnaast worden antilichaamtiteren wel bepaald om vast te stellen of hervaccinatie noodzakelijk is (in het kader van maatwerk vaccinatie).

Diagnostiek van de belangrijkste virusziekten en de interpretatie van de resultaten van laboratoriumonderzoek.

In dit gedeelte worden de klinische en diagnostische aspecten van de belangrijkste virusziekten van hond, kat en paard op een rij gezet, met daarbij de mogelijke uitkomsten van virologisch laboratoriumonderzoek.

Hond

Hondenziekte (canine distempervirus, CDV, ziekte van Carré)

Jonge, niet geënte honden ontwikkelen vaak het volledige ziektebeeld. De klinische waarschijnlijkheidsdiagnose wordt dan meestal ook aan de hand van de symptomen gesteld. Tengevolge van het vele vaccineren ziet men tegenwoordig het acute beeld minder vaak. Laboratoriumdiagnostiek is altijd noodzakelijk om de diagnose te bevestigen.

Virologisch onderzoek: Bij het levende dier kan worden getracht viraal antigeen aan te tonen in uitstrijkjes van de conjunctivae. Een schraapsel van de cellen van de conjunctiva zal een beter preparaat opleveren dan een conjunctivaal swab. Het uitstrijkje dient bij voorkeur zo snel mogelijk na afname te worden gefixeerd in aceton. In subacute of chronische gevallen zijn conjunctivaal-uitstrijkjes vaak negatief. In het geval van een acute encephalomyelitis t.g.v. een CDV-infectie is het mogelijk CDV-antigeen te detecteren in de cellen van de cerebrospinale vloeistof. In uitstrijkjes van witte bloedcellen vindt men dan een enkele geïnfecteerde monocyt m.b.v.

fluorescerende antistoffen. Virusisolatie wordt niet als routine uitgevoerd.

Met behulp van een PCR kan het virale RNA worden aangetoond in bloed en CSF.

Serologisch onderzoek: Het vinden van CDV-specifieke antilichamen van het IgM-type kan wijzen op een recente infectie of vaccinatie. IgM-antistoffen blijven na enting ongeveer 3 weken en na infectie ongeveer 3 maanden aantoonbaar. Omdat hondenziekte een relatief lange incubatietijd heeft, is het testen van gepaarde sera niet zinvol. Antilichaamtiteren zijn meestal in het eerste serum al hoog en nemen niet meer toe. Serologisch onderzoek van CSF bij dieren, verdacht van een CDV-encefalopathie, is echter wel zinvol. Zijn CDV-specifieke antilichamen (IgM of IgG) in de CSF aanwezig, dan is de diagnose gesteld.

Hepatitis contagiosa canis (canine adenovirus type 1 (CAV 1))

HCC wordt nog maar zelden waargenomen.

Virologisch onderzoek: Diagnostiek is mogelijk door isolatie van virus. Virusuitscheiding vindt plaats in alle se- en excreta. Daarnaast is isolatie mogelijk uit swabs van de oropharynx en rectale swabs. Deze dienen te worden afgenomen gedurende de acute fase tijdens de koortsperiode. Enkele dagen na het begin van de symptomen wordt de kans op virusisolatie geringer. Er is een PCR ontwikkeld waarmee onderscheid gemaakt kan worden tussen CAV-1 en het CAV-2 dat met name betrokken is bij respiratoire infecties.

Serologisch onderzoek: Met behulp van bijvoorbeeld een serumneutralisatietest kan een titerstijging in gepaarde sera worden aangetoond. Het aantonen van een IgM-specifieke titer in een éénmalig monster wijst op een recente infectie (bij dieren die niet recent zijn gevaccineerd).

Canine parvovirus (CPV)

Het CPV veroorzaakt een systemische infectie. Infectie van lymfoïd weefsel en beenmerg leidt tot een immuunsuppressie. De ernstige, vaak haemorrhagische diarree is het gevolg van de aantasting van de epitheelcellen in de crypten van Lieberkuhn in de darm.

Virologisch onderzoek: De diagnose kan worden gesteld door het aantonen van het

virus in de feces. Hiervoor kan bijvoorbeeld een antigeen capture ELISA worden gebruikt of een haemagglutinatietest. Omdat hoge virusconcentraties in de feces voorkomen, kan het virus ook relatief eenvoudig met behulp van elektronenmicroscopie worden aangetoond.

In de meeste laboratoria wordt echter gebruikgemaakt van latex agglutinatie of immunochromatografische testen. Deze testen kunnen ook in de dierenartsenpraktijk worden gebruikt en geven binnen 15 minuten een uitslag. In de acute fase is een negatief resultaat betrouwbaar, evenals een positief. Als de hond al wat langer ziek is (tenminste vijf dagen) voordat de feces worden onderzocht, bestaat de mogelijkheid dat reeds gevormde antilichamen het virus in de feces bedekken, waardoor deze niet meer aangetoond worden (vals-negatief). Overigens dient men er rekening mee te houden dat sommige tests positief kunnen zijn tot ongeveer twee weken na vaccinatie met een levend vaccin.

Serologisch onderzoek

IgG-antilichaamtiter stijgen snel na infectie en kunnen al hoog zijn op het moment dat het eerste serum wordt afgenomen. In gepaarde sera wordt dan geen bewijzende titerstijging gevonden. Eventueel kunnen virusspecifieke IgM-antilichamen worden bepaald voor het aantonen van een recente infectie. IgM-antilichamen persisteren tot twee tot drie weken na infectie. Voor de bepaling van de immuunstatus van de hond worden wel serologische testen gebruikt. Hiermee kan bijvoorbeeld de hoogte van de maternale antilichaamtiter bij de pups worden vastgesteld om aan de hand daarvan het optimale tijdstip voor vaccinatie te bepalen. Daarnaast worden antilichaamtiter bepaald in het kader van de zogenaamde maatwerk vaccinatie.

Acute campylobacteriose bij pups kan zich voordoen als een klassieke 'parvo'; het is raadzaam om aan zo'n patiënt ook direct spiramycine (met metronidazole) toe te dienen (en ook BO aan te vragen).

Canine herpesvirus (CHV)

Virologisch onderzoek: De diagnose van de neonatale vorm wordt vaak op grond van het klinisch beeld en de pathologische bevindingen (bloedingen en necrosehaardjes in verschillende organen) gesteld. Het CHV-antigeen kan m.b.v. gelabelde antistoffen worden aangetoond. Virusisolatie in celcultuur is mogelijk uit swabs die zijn genomen van vagina, preputium en conjunctiva. Ook kan virus worden aangetoond door middel van een PCR. Het resultaat is echter moeilijk te interpreteren omdat herpesvirussen latente infecties veroorzaken: een positief resultaat bij een ziek dier hoeft geen causale betekenis te hebben en een negatief resultaat bij honden zonder verschijnselen vormt geen bewijs dat het dier CHV-negatief is.

Serologisch onderzoek: antilichaamtiter tegen CHV zijn relatief laag. Herpesvirussen induceren in het algemeen een zwakke humorale immunrespons. Antilichaamtiter dalen na infectie snel naar lage waarden, maar kunnen minstens 2 jaar lang worden aangetoond.

Canine coronavirus (CCoV)

Canine coronavirus infecties worden meestal geassocieerd met milde vormen van diarree. Het belang van deze infectie in de etiologie van diarree bij de hond is echter niet bewezen. Recent zijn enkele patiënten beschreven met systemische infecties door pathogene stammen waarbij zich verschijnselen van acute haemorrhagische diarree en sterfte voordeden. Coronavirussen zijn ook aangetoond bij honden met respiratoire verschijnselen. Er zijn nog onvoldoende gegevens bekend over de prevalentie van zowel de hoog-pathogene CCoV als de respiratoire infecties.

Virologisch onderzoek: Het CCoV kan in de feces worden aangetoond m.b.v. verschillende testen (kits) of m.b.v. elektronenmicroscopie. Omdat CCoV ook regelmatig wordt aangetoond in de feces van gezonde honden, is het vinden van CCoV bij honden met diarree een bewijs voor infectie, maar geen bewijs dat CCoV de oorzaak is van de diarree. Bij verdenking op een systemische infectie veroorzaakt door een hoog-pathogene stam dient het virus bijvoorbeeld d.m.v. PCR in interne organen (m.n. long, lever, milt, nier) te worden aangetoond.

Serologisch onderzoek: voor het aantonen van antilichamen zijn verschillende technieken beschikbaar. Titerstijging kan worden gebruikt om een infectie te bevestigen. De titers zijn echter vaak laag, waardoor de waarde van serologische testen beperkt is.

Rabiës (hond en kat)

Rabiës komt in Nederland en België niet endemisch voor. De ziekte is aangifteplichtig voor dierenarts en eigenaar.

Virologisch onderzoek: nooit zelf monsters nemen. Het gehele dier wordt naar het daartoe aangewezen laboratorium (Nederland: CVI in Lelystad. België: ISP/WIV in Brussel) gebracht, alwaar het onderzoek plaatsvindt. Hier worden de hersenen onderzocht op het voorkomen van het virus. Wordt dit niet aangetoond dan is er geen rabiës-verdenking meer.

Serologisch onderzoek: Speelt in de diagnostiek van rabiës geen rol. Serologisch onderzoek wordt wel toegepast ten bewijze van een voldoende immuunrespons na vaccinatie. Sommige landen waaronder het Verenigd Koninkrijk en Zweden eisen een dergelijke bepaling indien men hond of kat wil meeneemen naar deze landen.

Kat

Kattenziekte (feline panleukopenievirus, FPV)

Het feline panleukopenievirus is nauw verwant aan het canine parvovirus type-2. Het virus veroorzaakt een systemische infectie. Het acute ziektebeeld wordt gekenmerkt door anorexie, koorts, braken en (vaak haemorhagische) diarree. Hematologisch wordt een ernstige leukopenie met een lymfopenie vastgesteld. Infectie van kittens in utero of peri- nataal kan een hypo-cerebellie induceren met verschijnselen van ataxie.

Virologisch onderzoek: net als voor infecties met het canine parvovirus toont men het virus aan in de feces van zieke katten of eventueel in bloed. In gespecialiseerde laboratoria zijn verschillende testmethoden beschikbaar, waaronder elektronenmicroscopie, isolatie in celcultuur, en haemagglutinatie van varkens rode bloedcellen. Echter snelle methoden zoals de PCR worden ook in de diagnostiek van FPV gangbaar. De PCR kan ook met bloed

worden uitgevoerd met name indien katten geen diarree hebben of indien geen feces beschikbaar zijn. Voor detectie van FPV zijn ook sneltesten beschikbaar. Vanwege de antigenic verwantschap zijn sommige canine parvovirus testkits ook bruikbaar voor detectie van FPV.

Serologisch onderzoek: wordt in de diagnostiek van kattenziekte weinig toegepast. Men kan eventueel gepaarde sera laten onderzoeken. De titer in het eerste serum kan al hoog zijn, zodat een significante titerstijging vaak niet zal worden waargenomen. Aanwezigheid van antilichamen wordt wel gezien als bewijs voor bescherming tegen kattenziekte.

Niesziekte

Niesziekte is eigenlijk een klinisch syndroom met een acute en een chronische presentatie. Verschillende agentia kunnen in de acute fase een rol spelen. Het feline herpesvirus (FHV) en calcivirus (FCV) zijn de twee belangrijkste verwekkers die vervolgens wegbereiders zijn voor complicerende secundaire bacteriële infecties. Een vermoeden van een feline herpesvirus-infectie bestaat als niezen en een rhinitis de belangrijkste klinische bevindingen zijn. Indien orale ulcera voorkomen, de kat koorts heeft en eventueel een 'limping syndrome', is een infectie met calcivirus waarschijnlijker.

Recent zijn uitbraken met hoog-virulente FCV stammen beschreven. Deze veroorzaken een systemische infectie met hoge mortaliteit (tot 67% is beschreven). Naast verschijnselen van een ernstige acute infectie van de voorste luchtwegen worden klinisch vooral oedemen aan kop en poten en ulcera van de huid waargenomen. Icterus en petechieën als gevolg van de diffuse intravasale stolling kunnen ook voorkomen. Als er alleen conjunctivitis voorkomt die ook nog eenzijdig is begonnen, wordt een infectie met Chlamydia of Mycoplasma aannemelijk. Echter, op klinische gronden kan men niet met zekerheid de specifieke etiologische diagnose stellen. Daarvoor is verder laboratoriumonderzoek noodzakelijk.

Bij chronische slijmvliesschade is er sprake van blijvende slijmvliesschade aan de bovenste luchtwegen waardoor er aanhoudend secundaire bacteriële infecties optreden.

Feline herpesvirus (FHV)

Virologisch onderzoek: het vinden van kerninclusions in slijmvliescoupees of uitstrijkjes van cellen van de conjunctivae wijst in de richting van een FHV-infectie. Intranucleaire inclusions kunnen echter ook voorkomen bij kattenziekte. Verschillende PCR methoden worden in diagnostische laboratoria toegepast voor het aantonen van FHV DNA in swabs van conjunctiva, cornea of oropharynx. PCR resultaten dienen kritisch te worden geïnterpreteerd omdat aanwezigheid van kleine hoeveelheden DNA die met de gevoelige PCR methode kan worden gedetecteerd niet geassocieerd hoeft te zijn met de ziekte. Een positief PCR resultaat kan ook worden gevonden bij latent geïnfecteerde dieren (zonder productieve infectie, bijvoorbeeld in cellen van cornea of oropharynx) of bij dieren die weinig virus uitscheiden. Virusisolatie is minder gevoelig dan PCR maar toont wel infectieus virus aan en niet alleen aanwezigheid van DNA. Het virus is te isoleren uit 'swabs' van neus of keel. FHV wordt gedurende 10-14 dagen uitgescheiden in de respiratoire secreta. Het virus is vrij labiel en raakt dus spoedig geïnactiveerd. Monsters voor virusisolatie dienen snel en bij voorkeur gekoeld te worden opgestuurd.

Feline calicivirus (FCV)

Het FCV is meer resistent dan FHV. Isolatie uit swabs van conjunctiva, neus of oropharynx is mogelijk. Ook de PCR wordt toegepast; echter de kans op een vals negatief resultaat is groter dan voor FHV door de grote variatie in het genoom van dit RNA virus. Er zijn geen specifieke genetische markers bekend voor de hyper-virulente systemische FCV stammen. De diagnose van virulent-systemische FCV infecties is gebaseerd op de klinische verschijnselen en het aantonen van dezelfde stam van FCV in bloed van verschillende zieke dieren. Bij de interpretatie van een positieve FCV uitslag dient men zich te realiseren dat ook asymptomatische dragers voorkomen.

Serologisch onderzoek: zowel bij FHV- als bij FCV-diagnostiek heeft serologisch onderzoek weinig diagnostische betekenis. Wel kunnen katten met (virusneutraliserende) antilichamen als potentiële virusdrager worden beschouwd.

Chronische niesziekte hangt samen met blijvende slijmvlies-schade waardoor er gemakkelijk en herhaaldelijk secundaire bacteriële infecties ontstaan.

Cowpox infecties

Bij katten kunnen vrij typische pokachtige huidlaesies voorkomen die worden veroorzaakt door het zogenaamde cowpox-virus dat behoort tot de Poxviridae-familie.

Diagnose wordt gesteld op grond van EM onderzoek op korstmateriaal. Het virus kan ook 'gekweekt' worden of m.b.v. een PCR worden aangetoond.

Feline immunodeficiency virus (FIV)

Na besmetting met FIV ontwikkelen katten een levenslange persisterende infectie die niet wordt overwonnen. De aanwezigheid van antilichamen in een serummonster is daarom bewijzend voor een infectie. De meeste katten worden 3-4 weken na infectie seropositief. In een aantal experimenteel geïnfecteerde katten werd seroconversie pas later aangetoond (>1 jaar p.i.). Ook viruspositieve maar seronegatieve natuurlijk geïnfecteerde katten zijn gevonden. Echter, alleen serologisch onderzoek is geschikt voor routinediagnostiek.

Virologisch onderzoek: testen die antigeen in bloed aantonen zijn niet gevoelig genoeg. Virusisolatie uit witte bloedcellen na stimulatie met interleukines is in principe mogelijk, maar zeer arbeidsintensief en wordt alleen verricht als een sterke verdenking op infectie bestaat bij een seronegatieve kat. Detectie van virus m.b.v. een PCR-techniek is dan ook een alternatief, echter resultaten tussen laboratoria zijn variabel met sensitiviteit en specificiteit die varieert van 40-100%. Er bestaat een grote genetische variatie tussen virusstammen en niet alle stammen zullen door de PCR worden gedetecteerd, dus vals negatieve resultaten kunnen voorkomen.

Serologisch onderzoek: virusspecifieke antilichamen worden met verschillende technieken aangetoond. De aanwezigheid van antilichamen correleert met een persisterende infectie. Een klinische waarschijnlijkheidsdiagnose wordt hiermee ondersteund

c.q. bevestigd. Een vals-positief resultaat kan het gevolg zijn van specifieke reacties of fouten bij de uitvoering. Een positieve test dient dus eigenlijk altijd bevestigd te worden met een andere test, bij voorkeur de 'Western blot', zeker als het een gezonde kat betreft of een kat met een laag risico op een infectie. De diagnostische betrouwbaarheid van een positieve test is dan gering (zie hfdst. 2). Overigens zal de 'Western blot' ook niet in alle gevallen definitief uitsluitel geven. Dan rest slechts herhaling van het onderzoek, bijvoorbeeld na een paar weken.

Kittens van FIV positieve moederpoezen kunnen seropositief zijn door aanwezigheid van maternale antilichamen. Deze kittens dienen na 16 weken opnieuw te worden getest omdat dan de maternale antilichamen in de meeste kittens zijn verdwenen. Is een kitten na 6 maanden nog seropositief dan moet het als geïnfecteerd worden beschouwd.

In sommige landen (o.a. Australië, USA) is een FIV vaccin beschikbaar. Vaccinatie leidt tot de vorming van antilichamen waardoor interpretatie van de antilichaamtest in het kader van de diagnostiek niet mogelijk is.

Feline leukemie virus (FeLV)

Indien FeLV voorkomt binnen een grotere groep katten zal 20-30% van de katten seroconverteren zonder aantoonbare viremie, 30-40% van de katten een persisterende infectie ontwikkelen, en 30-40% zal het FeLV na infectie (met viremie) elimineren, dit zijn zogenaamde transiënte infecties. Deze dieren kunnen gedurende een korte periode (één tot enkele weken) viremisch zijn, maar worden dan negatief. Virus is nog wel gedurende maanden te isoleren uit het beenmerg, maar in het bloed kan geen virus (antigeen) meer worden aangetoond en de dieren zijn niet infectieus voor andere katten. Wel kan m.b.v. de PCR het provirus in bloedcellen worden gedetecteerd. Bij de replicatie van FeLV wordt van het RNA genoom een DNA kopie gemaakt die vervolgens wordt ingebouwd in de chromosomen van de gastheer cel. Dit ingebouwde DNA wordt provirus genoemd. Reactivatie van dit provirus is in principe mogelijk maar komt in de praktijk zelden voor. De persisterend geïnfecteerde dieren daarentegen zijn niet in staat het virus te elimineren en ontwikkelen uiteindelijk (het

merendeel is gestorven binnen een periode van 3 jaar) maligne lymfomen of worden ziek t.g.v. een ernstige immuundeficiëntie. FeLV-diagnostiek wordt gedaan bij klinische verdenking en in het kader van bestrijdingsprogramma's voor het opsporen van persisterend geïnfecteerde, en dus besmettelijke, maar nog gezonde dieren.

Virologisch onderzoek: de diagnostiek van FeLV is gebaseerd op het aantonen van virus (antigeen) in het bloed. De meeste testkits (ELISA of immunochromatografische testen) tonen het p27-antigeen van FeLV aan in bloedplasma of serum. De thans beschikbare FeLV-testkits verschillen weliswaar enigszins met betrekking tot hun betrouwbaarheid, maar geen van alle is 100% betrouwbaar. Het testresultaat moet dus altijd kritisch worden bekeken. Een negatieve uitslag is over het algemeen zeer betrouwbaar. De betrouwbaarheid van een positieve uitslag is geringer, zeker indien het een gezonde kat betreft (zie hoofdstuk 2). Virusisolatie is mogelijk maar wordt niet meer als routine uitgevoerd. Een PCR op het virale RNA of provirale DNA is beschikbaar en kan als bevestigende test van een positieve sneltest worden uitgevoerd.

In het kader van diagnostiek kan men als volgt handelen:

Kat met klinische verdenking:

Testkit negatief: geen FeLV.

Testkit positief: FeLV: de voorspellende waarde van een positieve test bij een kat met duidelijke klinische verdenking op FeLV is hoger dan van een positieve test bij een gezonde kat vanwege de hogere prevalentie in de eerste groep. Overwegen om het onderzoek met een andere test, bij voorkeur PCR, te herhalen.

Meer dan de helft van de FeLV- infecties wordt overwonnen; ze zijn transiënt.

Gezonde kat voor screening:

Testkit negatief: geen FeLV, als er recent contact met een FeLV-positieve kat is geweest moet er rekening mee worden gehouden dat na infectie het gemiddeld 6 we-

ken kan duren voor de test positief wordt. Dan na 12 weken opnieuw testen.

Testkit positief: kat heeft mogelijk een transiënte infectie; deze kat isoleren van de overige katten en na 3 maanden opnieuw testen en indien weer positief, bevestigen (confirmeren). De meeste katten zullen binnen enkele weken tot maanden de infectie elimineren, slechts incidenteel duurt dit langer (tot een jaar). Katten die het virus hebben geëlimineerd zijn negatief in de testkit, virusisolatie, en PCR op viraal RNA. Echter, deze dieren blijven positief in de DNA PCR. Deze dieren zijn latent geïnfecteerd en scheiden geen infectieus virus uit. In principe zou reactivatie kunnen optreden door bijvoorbeeld stress of immunosuppressie, maar in de praktijk zal dit zelden plaatsvinden.

Tussen de verkrijgbare testkits bestaat geen 100% correlatie. En er is geen test die 100% specifiek en sensitief is. Dit geldt ook voor de op sommige laboratoria gebruikte immuno-fluorescentie-test (IFA), waarmee antigeen in bloeduitstrijkjes wordt aange-toond. Men zal derhalve moeten accepteren dat een klein percentage van de resultaten niet correct is. Onverwachte uitkomsten moeten dus altijd geconfirmeerd worden.

Miswijzingen kunnen hun oorzaak in de test vinden, in de uitvoering ervan of in bepaalde afwijkingen in het monster. Zo is bekend dat sterk hemolytische monsters een grotere kans op vals-positieve resultaten hebben. Er zijn testkits die een soort interne confirmatietest bevatten; die moet worden uitgevoerd als het monster in de reguliere test positief is. Dit verhoogt de betrouwbaarheid, maar neemt de kans op vals-positieve uitkomsten toch niet volledig weg. Herhaling van het onderzoek, liefst op een nieuw monster, blijft dus het parool.

Serologisch onderzoek geeft geen informatie die relevant is voor de diagnostiek. Testen voor het aantonen van antilichamen (bijvoorbeeld tegen het oppervlakte-eiwit van het virus gp70) worden soms uitgevoerd om de immunusstatus van een FeLV antigeen-negatieve kat, die wel contact heeft gehad met een positieve kat, te bepalen, of om de respons op een vaccinatie te meten.

Feline infectieuze peritonitis (FIP)

Het is aannemelijk dat FIP zich ontwikkelt in een kat waarin het aanwezige, relatief onschuldige, feline coronavirus (FCoV) is gemuteerd tot een virulente variant. De avirulente FCoV stammen worden vaak beschreven als feline enterale coronavirussen. De kat met FIP is over het algemeen weinig besmettelijk voor andere katten en het virulente virus persisteert niet in een bestand. Dit verklaart het sporadische karakter van FIP en de bevinding dat de kans op nieuwe gevallen in bestanden met en zonder FIP-historie even groot lijkt.

De avirulente feline enterale coronavirussen veroorzaken persisterende infecties bij een deel van de katten en komen endemisch voor in de meeste catteries. Het al dan niet ontstaan van de virulente mutant staat waarschijnlijk onder invloed van verschillende interne en externe factoren. Verder zal ook de afweer van de kat tegen een optredende virulente stam een rol spelen. De belangrijkste factoren in dit proces zijn waarschijnlijk de genetische achtergrond van de kat en stressfactoren zoals 'kitten in vreemde, nieuwe omgeving', sociale onrust, operaties etc. Dergelijke predisponerende factoren leiden waarschijnlijk tot een hogere virusvermeerdering met als gevolg meer kans op het optreden van mutaties die leiden tot virulente stammen. De zeer nauwe antigenen en genetische verwantschap tussen deze virussen maakt het onmogelijk om met virologisch of serologisch onderzoek een infectie met een virulente 'FIP-stam' te onderscheiden van een infectie met de endemisch voorkomende -onschuldige- feline (enterale) coronavirusstammen.

Diagnostiek: de zogenaamde FIP-titer heeft in de diagnostiek een zeer beperkte waarde. De antilichaamtiter die feitelijk wordt bepaald, is een feline coronavirus-titer en dus geen FIP-titer. En hoewel hoge titers statistisch significant vaker voorkomen bij katten met FIP, is de waarde voor de diagnostiek in de individuele kat gering. Gezonde katten kunnen hoge titers hebben en dit heeft geen voorspellende waarde voor wat betreft het ontwikkelen van FIP. Andersom kunnen katten met FIP lage titers hebben of zelfs seronegatief zijn.

In de praktijk is het vaak onmogelijk om met zekerheid de diagnose FIP te stellen. Alleen indien de kat een uitgesproken natte vorm vertoont met karakteristieke ascites, zal de diagnose met een zeer grote mate van waarschijnlijkheid klinisch worden gesteld. In de overige gevallen komt men tot een (zeer) waarschijnlijke diagnose door een combinatie van gegevens uit de anamnese, klinisch beeld en bloedonderzoek. Alleen door het aantonen van FIPV antigeen in histologische coupes van ontstekingshaarden die zijn verkregen door biopsie of na sectie, kan een definitieve diagnose worden gesteld.

Analyse thorax en/of buikvocht:

Vaak strogeel, helder en dradentrekend

Rivalta's test positief

Totaal eiwit > 35 g/l

Albumine/globuline ratio <0,8

Relatief celarm (< 2x 10⁹ /l) voornamelijk macrofagen en neutrofielen.

Virusantigeen in macrofagen aangetoond met immunofluorescentie (hoog voorspellende waarde: 100%; echter negatief voorspellende waarde is laag: 57%)

Relevante gegevens uit de anamnese, klinisch beeld en bloedonderzoek zijn:

Anamnese: leeftijd; FIP komt het meest voor bij jonge katten (< 2 jaar) en bij oudere katten (>8 jaar). Herkomst; is het een kat uit een meerkattenhuishouden c.q. cattery? Hebben zich recent aanwijsbare stress-situaties (zoals operaties, verhuizingen etc.) voorgedaan?

Klinisch beeld: recidiverende koorts, vermagering, ascites, neurologische symptomen, oculaire laesies

Bloedonderzoek: icterus, non-regeneratieve anemie (65%), lymfopenie (67%), hyperglobulinemie (66%), hypoalbuminemie (78%), albumine/globuline ratio gedaald (81 %), bilirubine verhoogd (82%), aspartaat transaminase (75%), hoog alpha-1 acid glycoproteinen (AGP >1500 microgr/ml)

De getallen tussen haakjes geven het percentage van de katten met FIP met een afwijkende waarde. Deze gegevens worden vaak weergegeven in een zogenaamd algoritme.

Een dergelijk algoritme is opgenomen aan het eind van dit hoofdstuk (bewerking van algoritme van ABCD). Naarmate meer waarden passen bij een kat met een FIP-verdenking wordt de diagnose waarschijnlijker. Binnen het kader van dit algoritme wordt ook nog de FCoV-titer bepaald, maar dat heeft ook hier terecht een beperkte betekenis.

De PCR techniek wordt ook aangeboden voor de diagnostiek van FIP. Echter met de PCR kan de diagnose FIP niet worden bevestigd noch uitgesloten. De test is niet diagnostisch voor FIP: ook gezonde katten zijn positief bevonden in de PCR en in katten met FIP is de PCR test regelmatig negatief.

Men zal dus op basis van de klinische verschijnselen, enkele anamnestiche gegevens en een aantal klinisch-chemische parameters tot een waarschijnlijkheidsdiagnose moeten komen. Het bovengenoemde pathogenetische concept doet de noodzaak om tot een sluitende diagnose te komen i.v.m. het risico voor de andere katten, sterk afnemen. Immers, het benadrukt dat FIP geen gewone infectieuze aandoening is. Blijkt uit serologisch onderzoek dat een bestand vrij is van corona-antistoffen, dan kan men concluderen dat de kans op het ontstaan van FIP gering is. Echter, als er coronavirus wordt geïntroduceerd in zo'n bestand, bijvoorbeeld door een besmette nieuwe kat, wordt de kans op het ontstaan van FIP juist groter. Het is derhalve verstandig om in dergelijke situaties alleen seronegatieve katten toe te laten. Omgekeerd betekent de aanwezigheid van coronavirus-titers, dat het virus waarschijnlijk in het bestand aanwezig is en dat, afhankelijk van verschillende factoren, er een geringe kans op mutatie en daarmee op FIP bij individuele katten bestaat.

De term FIP-antistoftiter is onjuist. De test toont antistoffen aan tegen het avirulente, feline enterale coronavirus, waaruit door mutatie virulent FIP-virus kan ontstaan.

De diagnose FIP heeft geen directe consequenties voor eventueel aanwezige andere katten. Het wijst er wel op dat mutatie-predisponerende factoren aanwezig zijn.

Ketamine 10% pro inj.



Alfasan
GROUP OF COMPANIES



Alfasan

DIERGENEESMIDDELEN BV

Kuipersweg 9 3449 JA Woerden

Postbus 78 3440 AB Woerden

Tel: 0348 416945 Fax: 0348 483676

diergeneesmiddelen@alfasan.nl

www.alfasan.com

Een zogenaamde FIP-PCR heeft geen diagnostische waarde.

Paard

Equine infectieuze anemievirus (EIAV)

Acute symptomen zijn koorts, anorexie, lusteloosheid en petechieën. De chronische vorm komt het meeste voor en wordt vooral gekenmerkt door gewichtsverlies, anemie, intermitterende koorts en oedemen. De meeste infecties verlopen echter subklinisch. Na infectie blijft het virus levenslang persisteren. Het is dus een persisterende infectie, net als bijvoorbeeld bij FIV. EIAV komt in Nederland en België zeer sporadisch voor. Onderzoek richt zich op het opsporen van symptoomloze dragers, bijvoorbeeld bij export.

Virologisch onderzoek: wordt niet in het kader van diagnostiek uitgevoerd.

Serologisch onderzoek: er worden meestal antilichamen tegen het p26 capsid-antigeen aangetoond. Hiervoor wordt nog steeds de klassieke agargel immunodiffusie-test (AGID), ook wel 'Coggins test' genoemd, gebruikt. Deze test is in het acute stadium nog negatief. Seropositieve paarden zijn geïnfecteerd met het virus en dus drager. Ook een ELISA wordt toegepast. Echter een positieve test dient te worden bevestigd d.m.v. de AGID.

Equine arteritis virus (EAV)

De meeste infecties verlopen subklinisch. In het acute stadium kunnen koorts, apathie, anorexie, ventraal oedeem, oedeem aan ledematen en peri-orbitaal, conjunctivitis, neusuitvloeijing, urticaria en leukopenie worden waargenomen. Abortus kan optreden aan het einde van de acute fase of tijdens de herstelfase (3-10 maanden dracht). De foetus is meestal autolytisch maar wordt soms vers geaborteerd, zonder dat er macroscopisch afwijkingen waarneembaar zijn.

Virologisch onderzoek: tijdens de acute fase van de infectie kan worden getracht virus te isoleren uit met citraat, EDTA of heparine behandeld bloed en neusuitstrijkjes of -spoelingen. De monsters dienen gekoeld naar het laboratorium te worden getransporteerd

(Nederland: CVI, Lelystad). In het geval van abortus kan virusisolatie geschieden uit foetale weefsels, zoals longen, lymfoïd weefsel en placenta die steriel worden verkregen en ook gekoeld worden vervoerd naar het laboratorium. Directe virusisolatie uit de spermarijke fractie van een ejaculaat kan worden toegepast om uitscheidende seropositieve hengsten op te sporen.

Virusdetectie in verschillende monsters kan ook met PCR plaatsvinden.

Serologisch onderzoek: voor het aantonen van EAV-specifieke antilichamen wordt een virusneutralisatietest gebruikt. Er is ook een ELISA test op de markt, echter alleen de virusneutralisatietest wordt geaccepteerd bij het verlenen van import- en exportvergunningen. Een acute infectie kan alleen worden gediagnosticeerd aan de hand van het aantonen van een significante titerstijging in gepaarde sera.

Equine herpesvirus (EHV)

Van veterinaire en economisch belang zijn EHV-1 en EHV-4.

EHV-1: vooral abortus, 'abortusstormen' en respiratoire symptomen. Infectie laat in de dracht: levend veulen met congenitaal verkregen virale pneumonitis, neurologische symptomen. EHV-4: 'rhinopneumonie', vooral acute respiratoire symptomen, rhinopharyngitis, tracheobronchitis. Sporadisch abortus.

Virologisch onderzoek: Rhinopneumonie: virusisolatie uit nasopharyngeale swab. De swab direct in viraal transportmedium plaatsen en gekoeld versturen naar het laboratorium. Virusisolatie uit een enkel dier is niet bewijzend, gezien de latente infecties die herpesvirussen veroorzaken. Bij voorkeur swabs van verschillende dieren insturen. Er zijn thans typespecifieke PCR-testen beschikbaar voor diagnostisch onderzoek.

Abortus: bij sectie karakteristieke macroscopische en microscopische laesies in geaborteerde foeten. Aantonen van viraal antigeen in de coupes van de laesies of m.b.v. PCR. Voor PCR is de 'kwaliteit' van het monster minder belangrijk dan voor virus-isolatie.

Serologisch onderzoek: Rhinopneumonie: een retrospectieve diagnose kan worden gesteld door het aantonen van een significante antilichaamtiterstijging in gepaarde sera.

Verschillende testen kunnen worden gebruikt.

Abortus: heeft over het algemeen geen zin, omdat de incubatietijd bij de merrie wel 4 maanden kan bedragen.

Paardeninfluenza

Een zeer besmettelijke infectie, gekenmerkt door een explosief optreden van respiratoire verschijnselen bij paarden van alle leeftijden (in een gevoelige populatie). Plotseling optredende koorts, anorexie, droge hoest, later ophoesten van mucopurulent slijm. Dyspneu, rhinitis en conjunctivitis met oog- en neusuitvloeiing. Herstel binnen 1-3 weken; bij ernstiger verloop kan herstel 1-6 maanden vergen. Bij onvoldoende rust tijdens herstelfase kan longemfyseem (dampigheid) overblijven. Twee influenzavirus typen zijn verantwoordelijk: H7N7 (A equi 1) en H3N8 (A equi 2).

Virologisch onderzoek: virusisolatie kan geschieden in bebroede eieren. Na een incubatieperiode van enkele dagen wordt allantoïsvloeistof onderzocht op de aanwezigheid van het virus. Voor onderzoek geschikt zijn neus- of conjunctiva-swabs die zijn genomen tijdens de vroege koortsfase (binnen 48 uur). Voor directe antigeendetectie in neusswabs zijn groepsspecifieke testen beschikbaar. Tevens zijn er PCR-testen beschikbaar die in relatief korte tijd tot de diagnose kunnen leiden.

Serologisch onderzoek: gepaarde sera kunnen worden onderzocht op titerstijging.

Rotavirus

Net als bij veel andere diersoorten kunnen rotavirussen bij veulens van 5 tot 35 dagen, met een duidelijke piek rond 14 dagen, profuse waterige diarree veroorzaken.

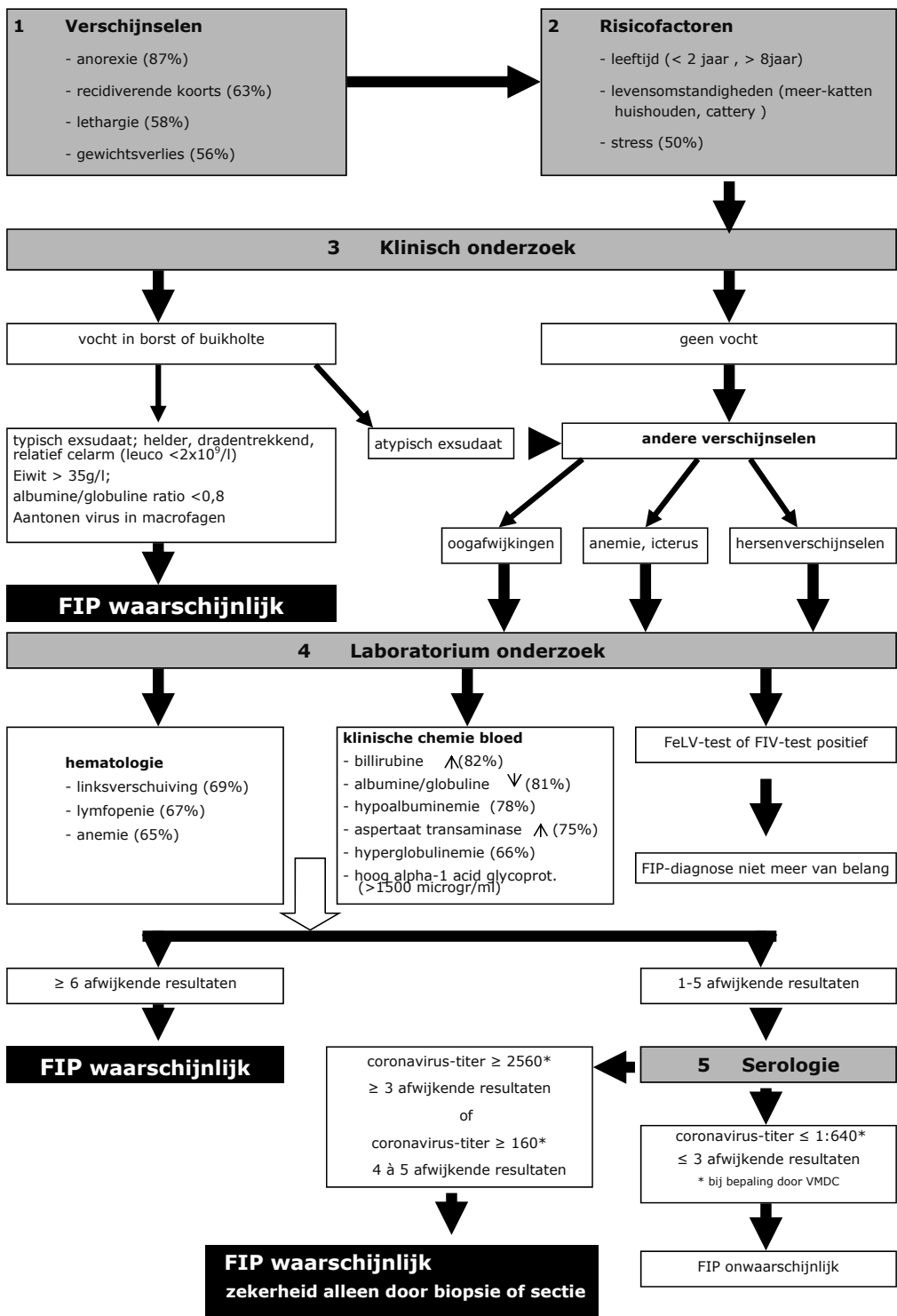
Virologisch onderzoek: virusisolatie is mogelijk, maar de meest gangbare methode van aantonen is de directe detectie in de feces. Hiervoor zijn diverse testkits verkrijgbaar, die veelal ontwikkeld zijn voor de diagnostiek bij de mens. Sommige van die kits kunnen ook het rotavirus dat bij paarden voorkomt, aantonen. De meest praktische testkits zijn gebaseerd op de agglutinatie van met antistoffen beladen latexbolletjes. De geschiktheid voor het paard dient geverifieerd te zijn.

Serologisch onderzoek: door de mogelijke aanwezigheid van maternale antistoffen heeft serologie geen zin.

West-Nile virus en Afrikaanse paardenpest

Dit zijn exotische infecties die in de toekomst ook in onze contreien kunnen gaan voorkomen als gevolg van de noordelijke uitbreiding van de leefgebieden van hun insect-vectoren. Voor informatie over de actuele diagnostische mogelijkheden kunt u zich richten tot de auteur.

Beslisboom/algortme tot de diagnose FIP bij katten (naar ABCD, 2009)



7. De laboratoriumdiagnostiek van enkele specifieke infecties

door dr. D.J.Houwers

Leptospirose

Omdat het isoleren van leptospiren weken in beslag neemt en het direct aantonen m.b.v. donkerveld-microscopie weinig betrouwbaar is, wordt meestal gebruikgemaakt van serologische diagnostiek. De diagnose van de Ziekte van Weil bij de hond wordt gesteld door het aantonen van IgM antistoffen (ELISA). In de beginfase van de ziekte is alleen de IgM-titer hoog, in een iets latere fase neemt ook de IgG-titer toe. Een IgG-titer kan ook duiden op vaccinatie tot maximaal 4 maanden eerder. Vaccinatie leidt weliswaar ook tot een IgM-respons, maar deze is kortdurend (3 à 4 weken) zodat dit op basis van de anamnese kan worden uitgesloten.

De microscopische agglutinatie-test (MAT) is minder geschikt voor diagnostiek in de acute fase omdat geen onderscheid tussen IgG- en IgM-antistoffen wordt gemaakt en ook gezonde honden titers kunnen hebben hetgeen de interpretatie kan bemoeilijken. In dit geval kan meer zekerheid worden verkregen door gepaarde sera te onderzoeken. Voorts bestaat het theoretische risico dat de oorzakelijke serovar niet in het test-panel zit, hetgeen dan een vals-negatief resultaat geeft.

Bij het paard komt klinische leptospirose sporadisch voor en dan voornamelijk in verband met abortus of vroeggeboorte.

Ook bij de kat kunnen leptospiren-infecties voorkomen, maar die zijn tot nu toe niet in verband gebracht met ziekteverschijnselen.

Het aantonen van leptospiren-DNA m.b.v. PCR in bijvoorbeeld urine is technisch mogelijk, maar ook hier geldt dat gezonde dieren uitscheider kunnen zijn. Dit betekent dat alleen een negatief resultaat diagnostische betekenis heeft: waarschijnlijk geen leptospirose.

Brucellose

Brucella canis komt zeer zelden voor in Nederland en Vlaanderen; het betreft dan veelal importdieren. De bacteriën zijn moei-

lijk te isoleren en daarom wordt de diagnose op grond van serologisch onderzoek gesteld. Bij de meeste serologische testen is de specificiteit enigszins beperkt, dus een vals-positief resultaat is mogelijk, maar een negatief resultaat sluit brucellose met redelijke zekerheid uit.

Coxiellose (Q koorts)

Infecties met *Coxiella burnetii* komen bij vele diersoorten voor, inclusief hond, kat en waarschijnlijk ook het paard. Ze verlopen voor zover bekend subklinisch. Dieren zijn de bron van infectie voor de mens waarbij de meeste infecties symptomloos verlopen. Klinische gevallen van Q-koorts bij de mens zijn aangifteplichtig; het verloopt echter meestal als een griepje en wordt derhalve niet onderkend. Er komen bij de mens ook complicaties met soms ernstige gevolgen voor. Wordt Q-koorts gediagnosticeerd, dan wordt vaak een brononderzoek gedaan bij de dieren in de omgeving of waarmee contact is geweest. Bij hond en kat betekent het voorkomen van antistoffen dat ze waarschijnlijk persistierend zijn besmet en dus mogelijk de bron van infectie voor de mens waren, of kunnen zijn. Vruchtwater van hond en kat (paard: onbekend) van overigens gezonde vruchten kan hoge concentraties van het agens bevatten; in verdroogde verstoffte vorm is dit de belangrijkste infectiebron voor de mens (per inhalatie). De bacterie vermeerdert zich intracellulair; soms zijn immunohistochemisch insluitlichaampjes aan te tonen.

Coxiellae zijn ook met m.b.v. een PCR aan te tonen; een positief resultaat geeft aan dat het dier bron van Q-koorts bij de mens kan zijn.

Mycobacteriose

Met name bij katten komen sporadisch granulomateuze huidaandoeningen voor die door infecties met verschillende Mycobacteriën kunnen worden geïnduceerd.

In zo'n geval is histologisch onderzoek van een biopt zinnig –eventueel herhaald–, zeker

als daar ook een Ziehl-Neelsenkleuring op wordt gedaan. Als eerste stap zou een Ziehl-Neelsenkleuring op een swab gedaan kunnen worden, maar dit is wat minder gevoelig. Is de kleuring positief dan is vervolgonderzoek geïndiceerd o.a. om het zoonose-risico in te schatten. PCR op biopt-materiaal kan snel onderscheid maken tussen de leden van de pathogene tuberculosis-groep en de minder tot niet pathogene anderen. Veelal is daarna een kweek nodig –vaak langdurend- om tot speciestypering te komen.

Chlamydiafilose

Voor het aantonen -van onderdelen- van *Chlamydia* spp kunnen testkits worden toegepast die ontwikkeld zijn voor detectie van *Chlamydia trachomatis* bij de mens, maar die ook bruikbaar zijn gebleken voor dierlijke monsters, zoals conjunctiva-swabs van katten. Bij de monsterneming is het van belang om epitheelcellen te verzamelen door met een wattendrager verschillende malen over het slijmvlies te strijken, omdat het intracellulair levende micro-organismen zijn. Vóór de monsterneming moet pus worden verwijderd.

Chlamydiae vormen intracellulaire insluitlichaampjes die met bijvoorbeeld de Giemsa-kleuring microscopisch goed zichtbaar worden.

DNA van *Chlamydia* spp kan worden aangetoond m.b.v. een PCR.

Een positief test-resultaat dient altijd voorzichtig te worden geïnterpreteerd want ook bij gezonde dieren kan het agens worden aangetoond.

Overigens bestaat over het ziektekundig belang van *Chlamydia* bij de kat nog wel onduidelijkheid; de bacterie kan conjunctivitis veroorzaken en wordt ook wel geassocieerd met het niesziektecomplex waarbij enkele virussen een primaire rol spelen.

Bij hond en paard hebben deze agentia voor zover bekend geen causale betekenis.

Toxoplasmose

Infecties met *Toxoplasma gondii* komen bij veel diersoorten voor en verlopen meestal subklinisch. Katten en katachtigen zijn niet de enige maar wel de belangrijkste eindgastheren en dus bron van infectie; na infectie scheiden ze gedurende een aantal weken oö-

cysten uit die na 2 tot 4 dagen sporuleren tot infectieuze stadia. Bij de kat en hond kunnen klinische infecties voorkomen. Congenitale infecties verlopen vaak fataal met sterk variërende verschijnselen. Klinische infecties bij jonge en volwassen dieren kunnen zich ook zeer divers manifesteren; indien aanwezig zijn de neurologische verschijnselen vaak opvallend.

De diagnose is bij het levende dier moeilijk te stellen; vaak zijn tijdens de acute fase tachyzoïten aantoonbaar in witte bloedcellen uit peritoneaal of thoracaal vocht. Bij klinisch verdachte katten vormen een hoge IgM-titer of een IgG-titerstijging in gepaarde monsters een sterke aanwijzing. De aan- of afwezigheid van oöcysten in de feces heeft in dit verband geen diagnostische waarde.

Neosporose

Neospora caninum lijkt in veel opzichten op *Toxoplasma*, maar hier is de hond eindgastheer. Een congenitale infectie kan bij pups verlammingverschijnselen van de achterpootjes geven. De protozo kan bij sectie worden aangetoond. Antilichaambepaling bij dit soort pups biedt behoorlijk diagnostisch houvast. Antilichaambepaling bij honden in het kader preventie van neospora abortus problematiek op rundveebedrijven is vooral nog weinig betrouwbaar gebleken.

Leishmaniose

Dit is een exotische protozoaire ziekte bij de hond en kat. Het is een relatief zeldzame bevinding bij honden met een buitenland (zuidelijke landen, vooral rond de Middellandse Zee) anamnese. Leishmaniose komt aldaar echter wel regelmatig bij honden voor (import!). Het agens wordt door de zandvlieg overgebracht, die dankzij de klimaatverandering steeds noordelijker voorkomt (2009; zuidelijke delen België en Engeland). De diagnose wordt gesteld op grond van aantonen van de protozo in gekleurde biopten (beenmerg, lymfeklier) of het DNA ervan m.b.v. PCR.

Antistofbepaling –serologie- is een veelgebruikte diagnostische methode, waarbij de beperkingen m.b.t. specificiteit en sensitiviteit bij de interpretatie van het resultaat moeten worden meegewogen.

Haemoplasmose

Wordt veroorzaakt door *Mycoplasma haemofelis* en *M. haemominutum* ('Haemoplasma's', voorheen Haemobartonella) die wereldwijd voorkomen bij katten. *M. haemofelis* wordt geassocieerd feline infectieuze anemie, maar subklinische infecties komen ook voor. *M. haemominutum* lijkt minder pathogeen. Diagnostiek geschiedt op grond van het aantonen van de kiem in of op erythrocyten in gekleurde bloeduitstrijkjes. Omdat de bacterie intermitterend aantoonbaar kan zijn is een serie van dagelijks monsters nodig om het uit te kunnen sluiten. PCR-diagnostiek is ook beschikbaar en is in principe gevoeliger dan microscopie: het aantonen van *M. haemofelis*-DNA bij een kat met anaemieproblematiek vormt een indicatie voor behandeling met doxycycline.

Bartonellose

Wordt veroorzaakt door de bacterie *Bartonella henselae*. Kattenkrabziekte is een relatief bekende manifestatie bij de mens. De bacterie komt in de circulatie van tenminste 20% van gezonde katten voor. Een groot gedeelte van de kattenpopulatie heeft antistoffen. De –persisterende- infectie is tot nu toe niet duidelijk geassocieerd met ziekte bij de kat. Overdracht tussen katten vindt plaats via vlooiën. Overdracht naar de mens voornamelijk via krabincidenten door kittens. Mensen met een verminderde weerstand lopen kans op systemische Bartonella-infecties. De bacterie kan d.m.v. speciale kweek of m.b.v. PCR in bloed worden aangetoond: resultaat heeft geen klinische en nauwelijks epidemiologische betekenis. Dit geldt ook voor antilichambepaling.

Uitsluitend of voornamelijk door teken overgebrachte infecties

Borreliose

Infecties met de spirocheet *Borrelia burgdorferi* en enkele verwante species worden door Ixodes-teken overgebracht. *Borrelia* infecties komen bij vele diersoorten voor en verlopen meestal asymptomatisch. Bij de hond kan in enkele gevallen een persisterende, chronisch actieve infectie ontstaan die samenhangt met episodische malaise en kreupelheid. Ook bij

het paard zouden zich dan onduidelijke ziektesymptomen kunnen voordoen, maar gevallen van klinische borreliose zijn moeilijk te bewijzen. Persisterende infecties leiden tot hoge IgG antilichamtiteren. Een hoge 'borrelia-IgG titer' wijst dus op een persisterende infectie met een mogelijk causale betekenis. Een lage titer wijst op een recente infectie, die in enkele gevallen kan overgaan in een chronisch actieve vorm. Als geen IgG antilichamen worden aangetoond is borreliose met redelijke zekerheid uitgesloten.

Testen gebaseerd op het zogenaamde C6 antigeen zouden alleen persisterende infecties aantonen; ze 'missen' de infecties die zich nog in een voorstadium bevinden.

Ehrlichiose

Bij hond en paard zijn in Nederland en België infecties met *Ehrlichia* spp., waaronder *Anaplasma phagocytophilum*, gevonden die verband hielden met ziekteverschijnselen. Verschillende teken fungeren als vector. Isolatie van de bacterie is moeilijk. In de acute fase van de infectie zijn vaak in bepaalde witte bloedcellen, na kleuring, typische insluitsels zichtbaar. In de subacute of latere fasen zijn die meestal niet of nauwelijks in het bloeduitstrijkje te vinden en is PCR-detectie beter geschikt voor diagnostiek. Vanwege de verschillende *Ehrlichia* spp verdient een genus-specifieke PCR de voorkeur. Antistofbepaling is ook mogelijk; nadeel hiervan is dat antistoffen betrekkelijk langzaam ontstaan en dat de testen species-specifiek zijn. Titerbepaling wordt ook wel gebruikt in het kader van de evaluatie van een behandeling.

Babesiose bij de hond

Babesia canis wordt vooral bij honden na een verblijf in zuidelijker landen gevonden, maar tegenwoordig komen autochtone infecties ook voor; de verantwoordelijke *Dermacentor* teek lijkt zich ook in onze contreien te hebben gevestigd. De protozo is meestal tijdens de klinische fase aantoonbaar in gekleurde uitstrijkjes van capillair bloed. Daarna is direct aantonen moeilijk. Detectie d.m.v. PCR blijkt gevoeliger, ook in de post-klinische fase. Ook hier gaat de voorkeur uit naar een genus-specifieke test.

Antilichambepaling is niet geschikt voor

Vertrouwd, Vernieuwd en Praktijkgericht !



Naast varken nú ook voor niet melkgevend schaap

Houdbaarheid: 36 maanden,
Rotkreupel (*Dichelobacter nodosus* en *Fusobacterium necrophorum*)
Nu ook in 250 ml naast de 100 ml
Eén flacon voor schaap en varken



DIERGEENESMIDDELEN BV

Kuipersweg 9 NL 3449 JA Woerden

P.O. Box 78 3440 AB Woerden

T. 0348 416945 F. 0348 483676

diergeenesmiddelen@alfasan.nl / www.alfasan.com

diagnostiek in de vroege fase van de infectie vanwege de trage seroconversie, maar wel bij vermoede chronische of weer opflinkerende infecties. Antilichaamtiteren zijn ook bruikbaar bij de evaluatie van een behandeling. Ook hier geldt dat de gebruikte testen vaak species-specifiek zijn.

Piroplasmosis bij het paard

De ziekte wordt door twee verwante protozoa veroorzaakt, *Theileria equi* en *Babesia caballi*. Seropositieve paarden zijn zeldzaam in

Nederland en België en hebben meestal een buitenlands verblijf in hun anamnese; ze worden incidenteel bij onderzoek in het kader van in/export gevonden. In de acute fase van de infectie zijn de protozoën te zien in gekleurde bloeduitstrijkjes, later zijn ze moeilijker te vinden. Babesia-genus PCR is dan de gevoeliger methode. Antilichaam-bepaling is babesia-species specifiek, dus om piroplasmosis uit te sluiten moeten testen met 2 antigenen worden gedaan. De Immuno Fluorescentie Test (IFT) is de hiertoe meest gebruikte techniek.