UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2014 – 2015

PATHOLOGIE VAN *ANGIOSTRONGYLUS VASORUM* BIJ DE HOND

door

Falke GORRIS

Promotoren: Leslie Bosseler
Prof. dr. Koen Chiers

Klinische casus in het kader van de masterproef

© 2015 Falke Gorris

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2014 – 2015

PATHOLOGIE VAN *ANGIOSTRONGYLUS VASORUM* BIJ DE HOND

door

Falke GORRIS

Promotoren: Leslie Bosseler
Prof. dr. Koen Chiers

Klinische casus in het kader van de masterproef

© 2015 Falke Gorris

VOORWOORD

In de eerste plaats zou ik graag mijn co-promotor Prof. dr. Koen Chiers willen bedanken. Hij heeft mij de vrijheid gegeven om een casus te bespreken die volledig aansluit bij mijn interesses. Gezien de lage prevalentie van het onderwerp van mijn keuze in België, was het zeker niet evident om mij die kans te geven.

Daarnaast ben ik mijn promotor, Leslie Bosseler, zeer dankbaar voor alle hulp. Zonder haar goede geheugen was er zelfs nooit sprake geweest van deze casus. Ze begreep heel goed waar ik naartoe wou en gaf zeer opbouwende kritiek. Ze heeft mij goed begeleid en genoeg ruimte gelaten voor persoonlijke invulling van het onderwerp.

Ik zou ook graag mijn ouders en mijn zus bedanken voor hun interesse. Ze bieden mij een goede feedback in verband met de logica en de leesbaarheid van mijn werk, iets dat ik zelf nogal eens uit het oog durf verliezen. Tenslotte wil ik nog mijn vriend en mijn medestudenten bedanken, om samen met mij de laatste knopen door te hakken en mij te motiveren om mijn casus tot een goed einde te brengen.

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING **1**

INLEIDING **2**

LITERATUURSTUDIE **3**

1. EIGENSCHAPPEN VAN ANGIOSTRONGYLUS VASORUM **3**

1.1. LEVENSCYCLUS 3

1.2. PREVALENTIE 4

1.3. RISICOFACTOREN 5

2. ANTE-MORTEM DIAGNOSE **5**

2.1. KLINISCHE SYMPTOMEN 5

2.2. BAERMANN-TECHNIEK 6

2.3. BLOEDONDERZOEK 6

2.3.1. Hematologie 6

2.3.2. Biochemie 6

2.3.3. Coagulatie 7

2.3.3.1. Primaire hemostase 7

2.3.3.2. Secundaire hemostase 7

2.4. BEELDVORMING 8

2.4.1. Thoraxradiografie 8

2.4.2. Echocardiografie 8

2.5. THERAPIE 8

3. POST-MORTEM DIAGNOSE **9**

3.1. WORMINFESTATIE 9

3.1.1. Macroscopisch beeld 9

3.1.2. Microscopische identificatie van de parasieten 9

3.1.2.1. Volwassen wormen 9

3.2.2.2. Larvaire stadia 11

3.2. PNEUMONIE MET VASCULAIRE VERANDERINGEN 12

3.2.1. Macroscopisch beeld 12

3.2.2. Microscopisch beeld 12

3.3. MULTIFOCALE BLOEDINGEN 13

3.3.1. Macroscopisch beeld 13

3.3.2. Microscopisch beeld 13

CASUSBESPREKING **14**

1. ANTE-MORTEM DIAGNOSE **14**

2. POST-MORTEM DIAGNOSE **14**

2.1. WORMINFESTATIE 14

2.2. PNEUMONIE MET VASCULAIRE VERANDERINGEN 15

2.3. MULTIFOCALE BLOEDINGEN MET ANEMIE EN MELENA 16

DISCUSSIE **17**

REFERENTIELIJST **21**

SAMENVATTING

De Franse hartworm of *Angiostrongylus vasorum* is een parasiet waarvan de volwassen wormen in het rechterhart en de pulmonale arteries van honden en vossen wordt aangetroffen. De eitjes worden afgevoerd naar de capillairen en er worden larven uitgescheiden met de feces. De ontwikkeling van de infectieuze stadia gebeurt in een tussengastheer. Na perorale opname door de eindgastheer, ondergaan de larven vanuit de darm een migratie via bloed- en lymfevaten. De parasiet heeft de laatste jaren wereldwijd aan belang gewonnen en zal in de toekomst naar alle waarschijnlijkheid ook meer frequent in onze streken voorkomen. Klinische angiostrongylose wordt het vaakst gezien in de winterperiode bij eerder jonge honden.

Door de migratie van de larven doorheen de longen komen ademhalingsstoornissen in het chronische stadium zeer frequent voor. De aanwezigheid van de parasieten in de bloedbaan wordt vaak geassocieerd met stollingsstoornissen. Door het variabel symptomenbeeld en gebrek aan specifieke diagnostische testen, is de klinische diagnose niet eenvoudig te stellen. Wanneer er niet tijdig een behandeling wordt ingesteld, kan de infestatie fataal aflopen.

In deze casus werd een hond gepresenteerd met onder andere ademhalingsstoornissen, bleke mucosae en hematurie. Het dier is overleden vooraleer een diagnose gesteld kon worden. Op autopsie worden in het hart en de pulmonale bloedvaten talrijke wormen aangetroffen die op de histologische coupes van de longen geïdentificeerd kunnen worden als *Angiostrongylus vasorum*. In het longparenchym worden histologisch eieren en larven aangetroffen, omgeven door een granulomateuze ontstekingsreactie. Zowel macroscopisch als microscopisch zijn er bloedingen aanwezig in verschillende organen.

Key words: *Angiostrongylus vasorum* – caniene angiostrongylose – granulomateuze pneumonie – verworven coagulopathie

INLEIDING

Angiostrongylus vasorum is een nematode die behoort tot de superfamilie van de Metastrongyloidea of longwormen (Fig. 1) (Bolt et al., 1994). De parasiet werd in 1866 voor de eerste keer beschreven door Baillet in Frankrijk. Sindsdien spreekt men ook wel van de Franse hartworm (Koch en Willesen, 2009; Morgan et al., 2009).

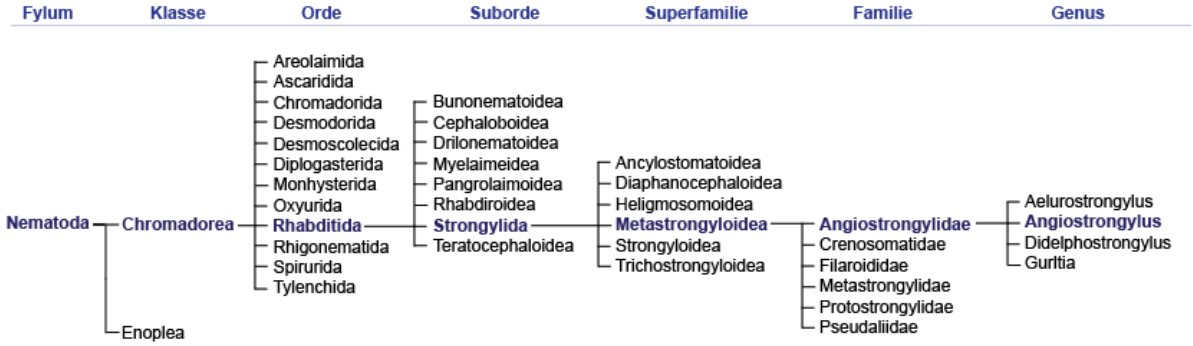


Fig. 1. Taxonomie van het genus Angiostrongylus (Naar: Benson et al., 2009 (NCBI Taxonomy)).

LITERATUURSTUDIE

1. EIGENSCHAPPEN VAN *ANGIOSTRONGYLUS VASORUM*

1.1. LEVENSCYCLUS

De volwassen wormen van beide geslachten worden aangetroffen in de pulmonale arteries en het rechterhart van vossen en gedomesticeerde honden (Bolt et al., 1994; Morgan en Shaw, 2010). De eieren worden meegevoerd met de pulmonaire bloedvaten tot aan de capillairen, waar de L1-larven uitkomen en de alveoli penetreren. Ze kunnen dan worden opgehoest en ingeslikt, waarna ze doorheen het gastro-intestinaal kanaal worden gevoerd en uitgescheiden worden met de feces (Morgan en Shaw, 2010; Gallagher et al., 2012). De L1-larven worden opgenomen door een tussengastheer die voorkomt in de buurt van hondenfeces. In de tussengastheer ondergaan de larven maturatie tot L2 en het infectieus stadium L3. Waar deze maturatie precies plaatsvindt, is niet gekend (Bolt et al., 1994; Ferdushy et al., 2009). De eindgastheer besmet zich door opname van een geïnfecteerde gastheer (Morgan et al., 2005; Gallagher et al., 2012). De vrijgestelde L3-larven penetreren de darmen van de eindgastheer en worden via bloed- en lymfevaten getransporteerd naar de mesenteriale, portale en cecocolische lymfeknopen. Hier ondergaan ze maturatie tot L5. Vervolgens migreren de mature larven via de vena porta, de lever en de vena cava caudalis naar het hart en de pulmonale arteries waar ze volwassen worden en zich voortplanten (Fig. 2) (Bolt et al., 1994; Morgan en Shaw, 2010). De prepatente periode bedraagt 38 tot 60 dagen (Bolt et al., 1994; Gallagher et al., 2012).

Vroeger werd verondersteld dat alleen slakken van het genus *Arion* spp. als tussengastheer fungeerden (Guilhon, 1960). Tegenwoordig is het niet meer exact duidelijk welke soorten allemaal geschikt zijn. Er wordt verondersteld dat de keuze van de tussengastheer tamelijk aspecifiek is (Barçante et al., 2003; Ferdushy et al., 2009). Experimentele studies tonen aan dat L3-larven de tussengastheer actief kunnen verlaten wanneer er aan bepaalde licht- en warmteprikkels wordt voldaan. Ze zouden dan enkele dagen vrij overleven, waardoor rechtstreekse opname van het infectieus stadium uit de omgeving ook mogelijk zou zijn, maar verder onderzoek is nodig (Barçante et al., 2003).

Kikkers, ratten en muizen zouden zich net als de hond kunnen besmetten met L3-larven (Barçante et al., 2003; Morgan en Shaw, 2010). De larven ondergaan echter geen verdere maturatie omdat deze diersoorten niet geschikt zijn als eindgastheer. Ze zijn niet essentieel voor de cyclus maar kunnen wel van belang zijn als dragers van het infectieus stadium. Men spreekt van paratenische gastheren (Mehlhorn, 2008). Het is nog niet bekend welke impact ze hebben op de verspreiding van *Angiostrongylus vasorum* (Barçante et al., 2003; Morgan en Shaw, 2010).

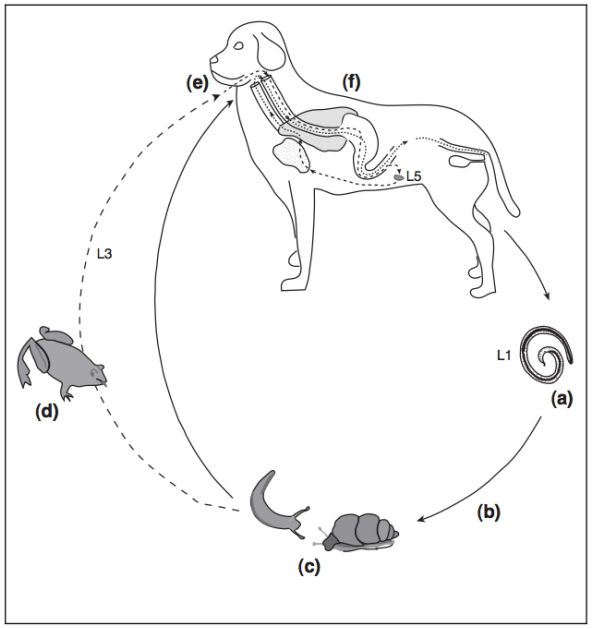


Fig. 2. Levenscyclus van *Angiostrongylus vasorum*. **(a)** L1 wordt uitgescheiden met de feces en **(b)** opgenomen door de tussengastheer; **(c)** De larve ondergaat ontwikkeling tot infectieus stadium L3 in de gastropode tussengastheer; **(d)** Onder andere kikkers en kleine zoogdieren kunnen facultatief deel uitmaken van de cyclus als paratenische gastheer; **(e)** De eindgastheer neemt het infectieus stadium L3 op; **(f)** Ontwikkeling tot L5 in de lymfeknopen en maturatie tot volwassen wormen in hart en pulmonale bloedvaten (Uit: Morgan et al., 2005).

1.2. PREVALENTIE

De geografische verspreiding van de longworm is lang beperkt gebleven tot een aantal hotspots verspreid over de hele wereld. Typische voorbeelden van dergelijke hotspots zijn Newfoundland in Canada, het noorden van Denemarken, het oosten van Ierland en het zuidwesten van Groot-Brittanië (Fig. 3a) (Morgan et al., 2009; Gallager et al., 2012; Kirk et al., 2014). Recent wordt de longworm echter ook in lage aantallen buiten deze gebieden gerapporteerd, waaronder in Duitsland en in Nederland (Traversa et al., 2010). In België werd in 2014 de eerste autochtone besmetting beschreven (Jolly et al., 2014).

Door het sterk gelokaliseerde voorkomen van de parasiet is het moeilijk om een algemene prevalentie te bepalen. Men kan zich echter wel baseren op een studie die tussen 2003 en 2007 uitgevoerd werd, waarbij ongeveer 5000 honden met klinische klachten uit Duitsland en Denemarken onderzocht werden. *Angiostrongylus vasorum* kon geïsoleerd worden uit de feces in 1,2% van de gevallen in Duitsland en 2,4% in Denemarken (Taubert et al., 2009). In een gelijkaardige Duitse studie was de prevalentie bij honden met klinische symptomen tussen 2007 en 2009 toegenomen tot 7,4% (Barutzki en Schaper, 2009). Men vermoedt dat de prevalentie in de toekomst nog verder zal toenemen (Fig. 3b) (Morgan en Shaw, 2010). De verspreiding van de parasiet wordt onder andere in de hand gewerkt door de klimaatverandering en diens invloed op de mogelijke tussengastheren, de verdere urbanisatie van de vos en het toenemend internationaal transport van honden (Morgan en Shaw, 2010; Traversa et al., 2010).

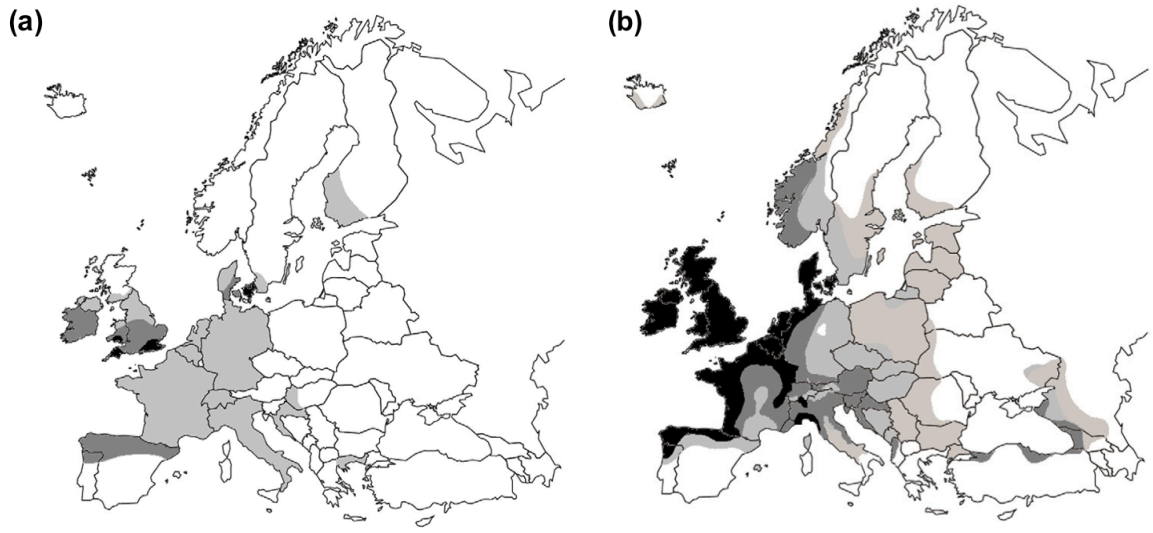


Fig. 3. (a) Huidige prevalentie van *Angiostrongylus vasorum* in Europa; **(b)** Voorspellend toekomstmodel van de prevalentie van *Angiostrongylus vasorum* in Europa; Zwart = hotspots met frequente ziekte bij honden en hoge prevalentie bij vossen, donkergrijs = endemische ziekte bij honden of hoge prevalentie bij vossen, lichtgrijs = sporadische ziekte bij honden of hoge prevalentie bij vossen, wit = zowel honden als vossen vrij van besmetting (Naar: Morgan et al., 2009).

1.3. RISICOFACTOREN

De klinische diagnose wordt vaker gesteld tussen oktober en februari. Dit kan teruggebracht worden op het hoger risico tot infectie in de zomer, wanneer de kans op contact met een besmette tussengastheer het grootst is (Conboy, 2004; Taubert et al., 2009).

De infectie kan op alle leeftijden voorkomen. In de literatuur worden gevallen beschreven met een leeftijd van 3 maanden tot 14 jaar (Conboy, 2004; Koch en Willesen, 2009). Angiostrongylose wordt echter het meest vastgesteld bij dieren jonger dan één jaar (Barutzki en Schaper, 2009; Koch en Willesen, 2009).

Het bestaan van een echte raspredispositie is twijfelachtig. Chapman et al. (2004) beschrijven dat besmettingen bij Staffordshire Bull Terriers en Cavalier King Charles Spaniels iets vaker zouden voorkomen in vergelijking met andere rassen. Andere rassen die vaker vermeld worden zijn Beagles, vermoedelijk door een hoger blootstellingsrisico door het gebruik als jachthonden, en Labrador Retrievers (Conboy, 2004).

2. ANTE-MORTEM DIAGNOSE

2.1. KLINISCHE SYMPTOMEN

De klinische symptomen van angiostrongylose kunnen sterk variëren. De besmetting kan onopgemerkt voorbij gaan, maar kent een fatale afloop in ongeveer 25% van de gevallen (Gallagher et al., 2012). Cardiorespiratoire symptomen zoals chronisch hoesten, dyspnee, tachypnee en inspanningsintolerantie komen het vaakst voor (Brennan et al., 2004; Barutzki en Schaper, 2009; Gallagher et al., 2012). Daarnaast is er vaak een secundaire coagulopathie aanwezig. De lokalisatie, de ernst en de gevolgen van de veroorzaakte bloedingen kunnen sterk variabel zijn (Gould en

McInnes, 1999; Brennan et al., 2004). Dit leidt tot een zeer uitgebreid symptomenbeeld: erge subcutane bloedingen na beperkt trauma, hematurie en neurologische symptomen door hersenbloedingen worden geregeld beschreven (Brennan et al., 2004; Koch en Willesen, 2009; Gallagher et al., 2012). Het ziekteverloop kan verder gepaard gaan met anorexie en vermageren. Minder frequent worden syncopes, braken, diarree en plotse sterfte door acuut hartfalen gerapporteerd (Chapman et al., 2004; Koch en Willesen, 2009).

2.2. BAERMANN-TECHNIEK

De klinische diagnose gebeurt voornamelijk op basis van de identificatie van L1-larven. Deze kunnen aangetoond worden in feces of na broncho-alveolaire lavage met behulp van de Baermann-techniek (McGarry en Morgan, 2009; Taubert et al., 2009). Bij uitvoering van de Baermann-test wordt er warm water in een trechter gebracht die is aangesloten op een rubberen buis en afgesloten met een klem. Er wordt 5 gram van de feces afgewogen en omhuld met gaas in het warme water gebracht. Na 8 uur wordt de onderste 15 ml uit de trechter gehaald en gedurende vijf minuten gecentrifugeerd (1500 rmp). Hierna worden enkele druppels van de bodem van de gecentrifugeerde vloeistof onder de lichtmicroscoop gebracht, waarna de larven kunnen worden opgespoord en geïdentificeerd (Foreyt, 2001). Het detecteren van *Angiostrongylus vasorum* in de feces is moeilijk door de intermitterende uitscheiding van de larven. De diagnose wordt hierdoor helaas nog vaak gemist. Bij voorkeur worden feces van drie opeenvolgende dagen gebruikt (Koch en Willesen, 2009).

2.3. BLOEDONDERZOEK

2.3.1. Hematologie

Geen enkele hematologische parameter kan gebruikt worden om de diagnose van angiostrongylose met zekerheid te stellen (Chapman et al., 2004; Schnyder et al., 2010; Gallagher et al., 2012). Bij een parasitaire infestatie verwacht men de aanwezigheid van eosinofilie, maar dit is zeker niet altijd aanwezig. Een algemeen chronisch ontstekingsbeeld wordt gekenmerkt door monocytose en neutrofilie (Schnyder et al., 2010). Verder komt basofilie voor in 25% van de klinische gevallen (Chapman et al., 2004; Schnyder et al., 2010). Plasmacytose wordt zelden in verband gebracht met angiostrongylose, maar kan wel verwacht worden aangezien er circulerende antistoffen worden geproduceerd (Schnyder et al., 2010). Aangetaste dieren worden klinisch meestal gediagnosticeerd met een variabele graad van regeneratieve anemie en thrombocytopenie (Ramsey et al, 1996; Gould en McInnes, 1999; Chapman et al., 2004; O'Neill et al., 2010).

2.3.2. Biochemie

De meest voorkomende biochemische afwijkingen die geassocieerd worden met caniene angiostrongylose zijn hypercalcemie en hyperglobulinemie (Chapman et al., 2004). De belangrijkste differentiaaldiagnose van hypercalcemie is neoplasie, met bijzondere aandacht voor mediastinaal lymfoma en anaalzakadenocarcinoma. Daarnaast moet gedacht worden aan hypoadrenocorticisme, nierfalen, hyperparathyroïdie en hypervitaminose D (Ettinger, 1983). Recent wordt de aanwezigheid van hypercalcemie op het bloedonderzoek in verband gebracht met granulomateuze aandoeningen, zoals blastomycose, schistosomiase en ook angiostrongylose (Chapman et al., 2004; Boag et al.,

2005). Bij groeiende dieren tot vier maand kan een milde hypercalcemie echter fysiologisch zijn (Mischke et al., 1996). Verder kunnen laboratoriumfouten, dehydratatie en hyperproteinemie leiden tot een hogere meting van calcium in het bloed (Ettinger, 1983; Boag et al., 2005).

2.3.3. Coagulatie

2.3.3.1. Primaire hemostase

De primaire hemostase wordt gekenmerkt door de activatie van bloedplaatjes en von Willebrand factor. De buccale mucosale bloedingstijd (BMBT) test de aanwezigheid van een stoornis van de primaire hemostase (Schulman, 2014). Er is slechts één geval van caniene angiostrongylose bekend met een verlengde buccale mucosale bloedingstijd aangezien deze test vaak ontbreekt in de klinische opwerking (Whitley et al., 2005). Een thrombocytentelling gebeurt meer courant en toont meestal een milde tot ernstige thrombocytopenie (Gould en McInnes, 1999; Chapman et al., 2004; Gallagher et al., 2014).

2.3.3.2. Secundaire hemostase

Met behulp van de geactiveerde partiële thromboplastinetijd (aPTT) kan men de werking van de extrinsieke pathway van de stollingscascade nagaan (Fig. 4a). De betrokken factoren zijn stollingsfactoren VII, IX en IX en de verschillende contactfactoren factor XII, prekallikreine en kininogeen. De aPPT kan fysiologisch verlengd zijn bij neonati en erythrocytose. Pathologische verlenging kan te wijten zijn aan deficiëntie van de betrokken contactfactoren en stollingsfactoren of de aanwezigheid van een anticoagulans (Friedman, 2014).

De prothrombinetijd (PT) evalueert de extrinsieke pathway van de stollingscascade en meer specifiek de werking van factor VII (Fig. 4b). Een verlengde PT kan wijzen op aangeboren factor VII deficiëntie. Er zijn echter ook een heel deel verworven stoornissen, waaronder vitamine K deficiëntie, coumarine intoxicatie, gedissemineerde intravasculaire stolling en leverinsufficiëntie, die aan de basis kunnen liggen van de verlengde prothrombinetijd (Lichtin, 2014).

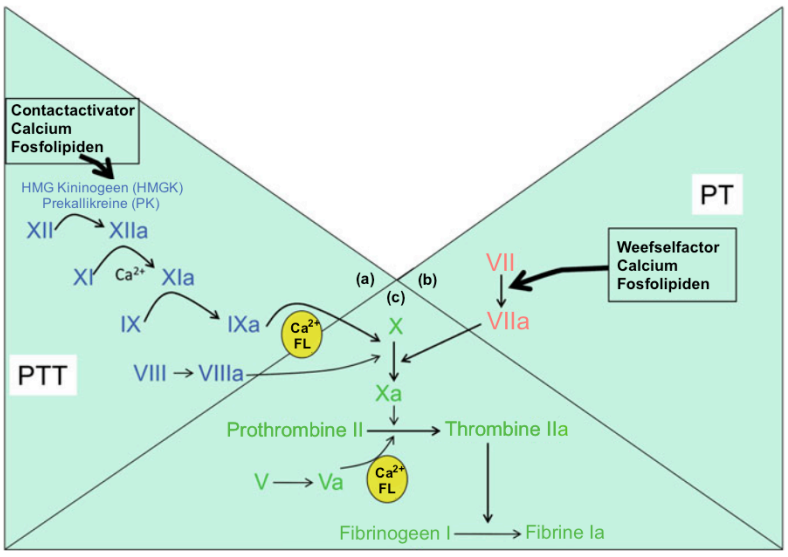


Fig. 4. Schematische weergave van **(a)** de intrinsieke pathway van de stollingscascade, **(b)** de extrinsieke pathway en **(c)** de gemeenschappelijke pathway van de stollingscascase; HMWK = hoog moleculair gewicht kininogeen, PK = prekallikreine, FL = fosfolipiden, PT = prothrombinetijd, PTT = partiële thromboplastinetijd.
(Naar: Friedman, 2014).

De prothrombinetijd (PT) en geactiveerde partiële thromboplastinetijd (aPTT) geven dus informatie over de werking van de secundaire hemostase (Schulman, 2014). Ze zijn vaak verlengd bij klinisch aangetaste dieren, al dan niet in aanwezigheid van bloedingen. Ze kunnen echter ook normaal zijn, waardoor de stollingstijden geen betrouwbare diagnostische waarde bieden (Ramsey et al., 1996; Gould en McInnes, 1999; Chapman et al., 2004; Schnyder et al., 2010).

2.4. BEELDVORMING

2.4.1. Thoraxradiografie

De bevindingen op radiografie zijn, op een paar uitzonderingen na, steeds afwijkend (Chapman et al., 2004). De longen vertonen een bronchiolair, alveolair of interstitieel patroon, maar combinaties hiervan zijn eveneens mogelijk. Het patroon is meestal gegeneraliseerd aanwezig (Brennan et al., 2004; Gallagher et al., 2012). Daarnaast wijst de aanwezigheid van fissuurlijnen op een milde pleurale effusie (Bolt et al., 1994; Chapman et al., 2004). Af en toe wordt er een vermoeden van lymfadenopathie beschreven door de aanwezigheid van een mediastinale massa (Bolt et al., 1994; Gould en McInnes, 1999; Kranjc et al., 2010).

Op laterale opnamen is de hartschaduw in ongeveer de helft van de gevallen vergroot (Gallagher et al., 2012). Op ventrodorsale opnamen is de axis van het hart dan naar links verplaatst. Dit wijst op een vergroting van het rechterhart (Brennan et al., 2004).

2.4.2. Echocardiografie

Wanneer echocardiografie uitgevoerd wordt na vermoeden van rechterhartdilatatie op radiografie, kan men bevestigen dat zowel het rechteratrium als het rechterventrikel en de pulmonaire arterie gedilateerd zijn (Brennan et al., 2004). In een experimentele studie die de rechterhartdilatatie als gevolg van pulmonaire hypertensie bij angiostrongylose onderzocht, werden geen echografische afwijkingen aan het hart gedetecteerd (Kranjc et al., 2010).

2.5. THERAPIE

Wanneer de klinische diagnose gesteld is, kan anthelminthische en ondersteunende therapie worden opgestart. De anthelminthische behandeling bestaat bij voorkeur uit mebendazole of fenbendazole. Door hun traag werkingsmechanisme verlaagt men de kans op anafylactische shock, die kan ontstaan door het massaal afsterven van de wormen (Bolt et al., 1994). De therapie bestaat uit de toediening van 50 mg/kg fenbendazole éénmaal per dag gedurende 10 dagen (Gallagher et al., 2012). De respons is meestal goed (Brennan et al., 2004; Koch en Willesen, 2009; Traversa et al., 2010).

De ondersteunende therapie omvat bronchodilatoren om het respiratoir stelsel te ondersteunen en diuretica om de overbelasting van het hart te verminderen. Corticosteroïden en eventueel acetylsalicylzuur kunnen helpen om de ontstekingsreactie van de longen onder controle te houden. Het gebruik van acetylsalicylzuur moet vermeden worden bij patiënten met een vermoeden van coagulopathie (Bolt et al., 1994).

3. POST-MORTEM DIAGNOSE

3.1. WORMINFESTATIE

3.1.1. Macroscopisch beeld

Ter hoogte van het rechterhart en de pulmonale arteries kunnen twee parasieten voorkomen: *Dirofilaria immitis* of de hartworm en *Angiostrongylus vasorum* of de Franse hartworm (Bolt et al., 1994; Kassai, 1999; Traversa et al., 2010). De volwassen wormen van *Angiostrongylus vasorum* bereiken een lengte van 14 tot 20 mm (Bolt et al., 1994; Kassai, 1999). Hiermee zijn ze meer dan tien keer kleiner dan volwassen exemplaren van *Dirofilaria immitis*, die 12 tot 30 cm kunnen meten (Fig. 5a) (Kassai, 1999). Bij de vrouwelijke exemplaren van *Angiostrongylus vasorum* is het witte voortplantingsstelsel verstrengeld met het rode spijsverteringskanaal. Dit geeft de wormen het karakteristieke uitzicht van een zogenaamde “barbierspaal” (Fig. 5b) (Bolt et al., 1994; Yamakawa et al., 2009).

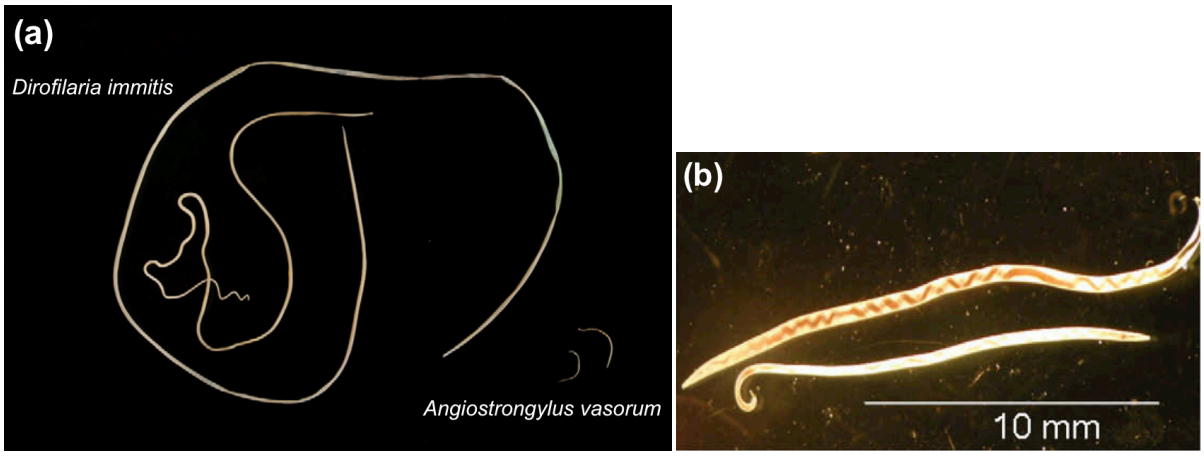


Fig. 5. (a) Macroscopische vergelijking van een mannelijk en een vrouwelijk exemplaar van *Dirofilaria immitis* en *Angiostrongylus vasorum* (Naar: Conboy, 2011); **(b) “**Barbierspaal”-uitzicht van de volwassen vrouwelijke wormen van *Angiostrongylus vasorum* (Naar: Koch en Willesen, 2009).

3.1.2. Microscopische identificatie van de parasieten

3.1.2.1. Volwassen wormen

De post-mortem diagnose kan gesteld worden aan de hand van doorsneden doorheen volwassen wormen op histologie (Gardiner, 1999). Hierbij is het vooral van belang om de kenmerken van de Filaroidea, waartoe *Dirofilaria* spp. behoren, te kunnen onderscheiden van de kenmerken van de Strongylida, waartoe *Angiostrongylus* spp. behoren.

Er bestaat zeer veel variatie ter hoogte van de cuticula van de nematoden. *Angiostrongylus* spp. hebben gladde cuticula die naar binnen instulpt en de worm zo in verschillende kwadranten opsplitst. De mondholte wordt inwendig afgelijnd door een dikke laag cuticulair epitheel (Gardiner, 1999; Yamakawa et al., 2009). Bij *Dirofilaria* spp. zijn er op regelmatige afstand typische externe ribbels aanwezig. Ook hier stulpt de cuticula in naar binnen toe, maar de gevormde inwendige strengen zijn kleiner. De aanwezigheid van accessoire hypodermale strengen is een kenmerk van zowel de

Strongylida als de Filaroidea. De strengen delen de verschillende kwadranten van de parasiet verder op (Gardiner, 1999).

De spieren van de nematoden kunnen volgens twee patronen gerangschikt worden. Het eerste patroon is de coelomyriane structuur. Hierbij vormen de talrijke spiercellen uitlopers in de richting van het pseudocoeloom. Op dwarse doorsnede doorheen de worm worden zeer veel spiercellen aangesneden, waarbij de spiervezels een cilinderachtige structuur vormen die loodrecht langs de cuticula verloopt (Fig. 6a). Het tweede patroon is de plathymyriane structuur. Hierbij zijn er weinig cellen aanwezig op dwarse doorsnede, worden er zelden uitlopers gevormd en lopen de gevormde spiervezelbundels parallel ten opzichte van de cuticula (Fig. 6b) (Gardiner, 1999). Zowel *Dirofilaria immitis* als *Angiostrongylus vasorum* hebben een coelomyriane musculatuur (Gardiner, 1999; Yamakawa et al., 2009).

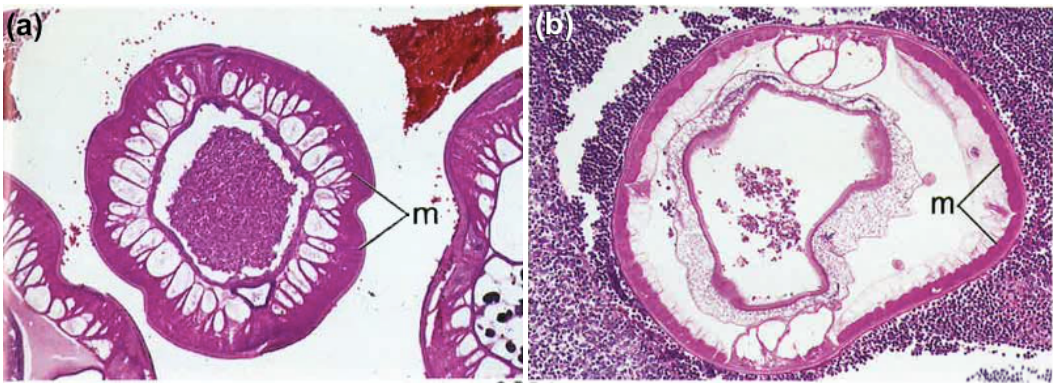


Fig. 6. Vergelijking van een **(a)** coelomyriane en een **(b)** pathymyriane musculatuur (m) (Naar: Gardiner, 1999).

Het onderscheid tussen beide verdachte parasieten kan gemaakt worden op basis van de morfologie van het spijsverteringsstelsel. Bij de Metastrongyloidea wordt een grote darm beschreven, waarvan het epitheel bestaat uit verschillende grote, multinucleaire cellen (Fig. 7a) (Gardiner, 1999; Yamakawa et al., 2009). Dit staat in contrast met het spijsverteringsstelsel van de Filaroidea, dat typisch gekenmerkt wordt door een zeer kleine darm met dun epitheel (Fig. 7b) (Gardiner, 1999).

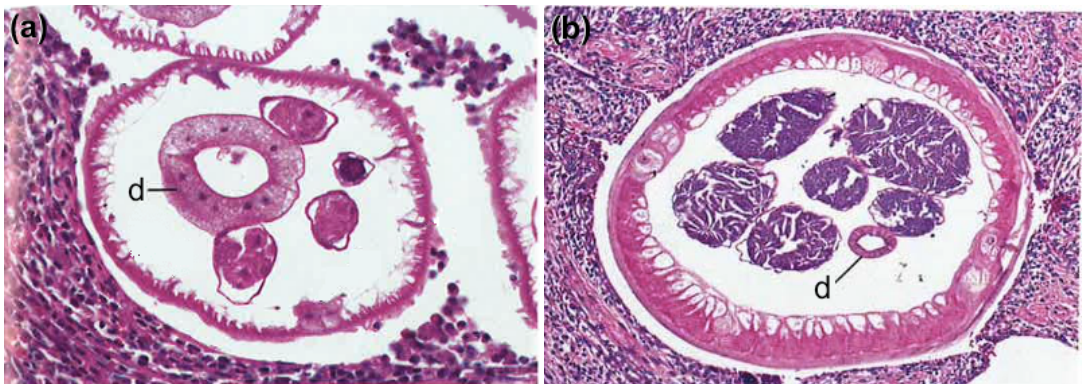


Fig. 7. (a) Grote darm (d) met multinucleaire cellen die typisch is voor Metastrongyloidea; **(b)** Kleine darm zoals die voorkomt bij Filaroidea (Naar: Gardiner, 1999).

Bij de meeste nematoden zijn de wormen éénslachtig. Bij *Dirofilaria* spp. en *Angiostrongylus* spp. vindt men echter wel een verschillende voortplantingswijze. Bij de ovipare *Angiostrongylus vasorum*

zijn er histologisch kleine, ovale eitjes met een dunne schaal aanwezig in de uteri (Fig. 8a) (Gardiner, 1999; Morgan en Shaw, 2010). De eieren zijn ongeveer 60 µm groot en bevatten naast kleine larven ook eosinofiele granules (Yamakawa et al., 2009). *Dirofilaria immitis* is ovovivipaar. In de uteri zijn er microfilaria te zien (Fig. 8b) (Gardiner, 1999; Kassai, 1999).

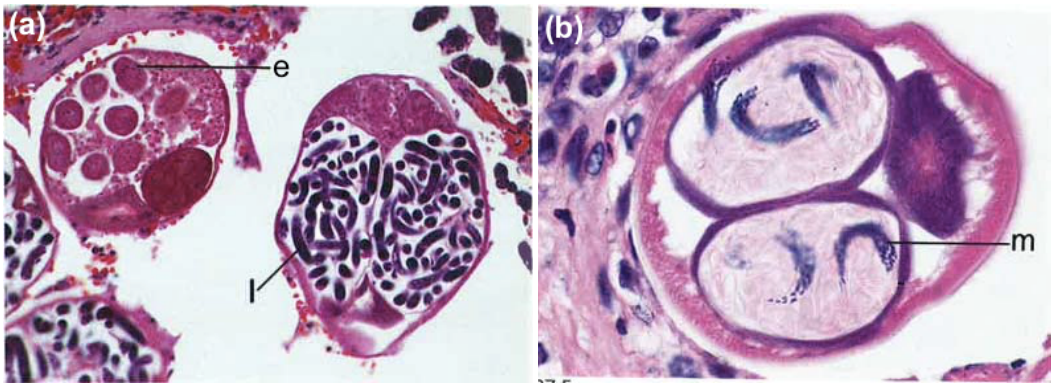


Fig. 8. (a) Eieren (e) met een dunne schaal en ontwikkelende larven (l) in de uteri van Metastrongyloidea; **(b)** Microfilaria in de uteri (m) bij Filaroidea (Naar: Gardiner, 1999).

3.2.2.2. Larvaire stadia

De larven van *Angiostrongylus* spp. worden meestal geïsoleerd uit de feces en zijn 300 tot 400 µm groot (Zajac, 2006; McGarry en Morgan, 2009; Traversa et al., 2010). Op natief microscopisch onderzoek zijn er larven opgekruld en is er ter hoogte van de staart een dorsale stekel aanwezig. De staart zelf loopt caudaal uit in een korte sinusgolf (Fig. 9a) (Bolt et al., 1994; Zajac, 2006; Traversa et al., 2010). De aanwezigheid van knopvorming rond de mond, een zogenaamde “cephalic button”, wordt af en toe beschreven, maar blijkt geen betrouwbare parameter te zijn (Bolt et al., 1994; Zajac, 2006; McGarry en Morgan, 2009; Conboy, 2011).

De microfilaria van *Dirofilaria immitis* zijn aanwezig in het bloed en kunnen met behulp van specifieke microscopische technieken geïdentificeerd worden, die hier niet verder besproken zullen worden. De smalle, rechte microfilaria zijn 260 tot 240 µm groot (Fig. 9b) (Traversa et al., 2010).

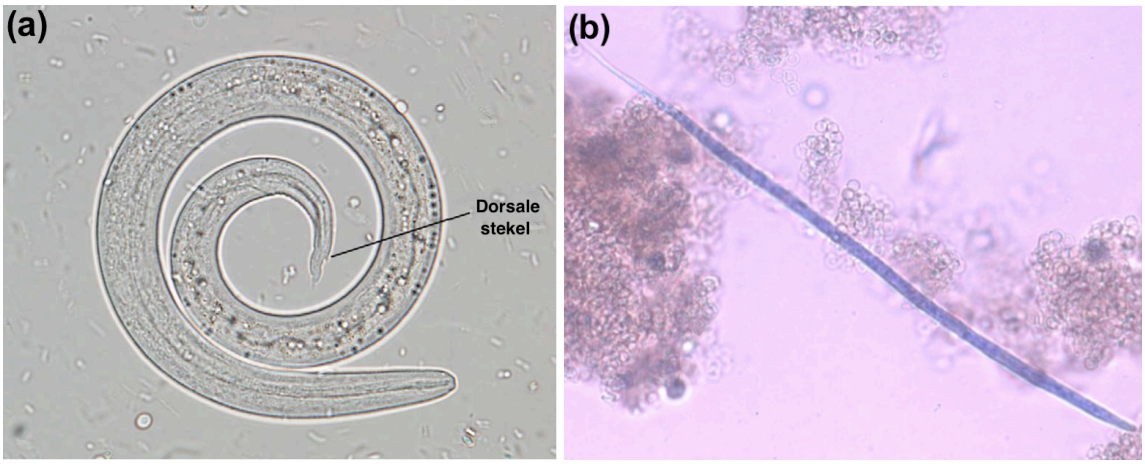


Fig. 9. (a) Lichtmicroscopisch uitzicht van L1 van *Angiostrongylus vasorum*: de karakteristieke staart met dorsale stekel en S-vormig uiteinde zijn duidelijk zichtbaar (Naar: Conboy, 2011); **(b)** Lichtmicroscopisch uitzicht van de microfilaria van *Dirofilaria immitis* (Naar: Traversa et al., 2010).

De larvaire stadia kunnen histologisch onderscheiden worden van de volwassen nematoden door hun grootte en door de afwezigheid van duidelijke inwendige structuren. Bepaalde cuticulaire stekels zouden kunnen helpen in de histologische identificatie, maar dat is moeilijk. De staart van de larven loopt uit in een excentrisch gelegen punt (Fig. 10) (Gardiner, 1999).

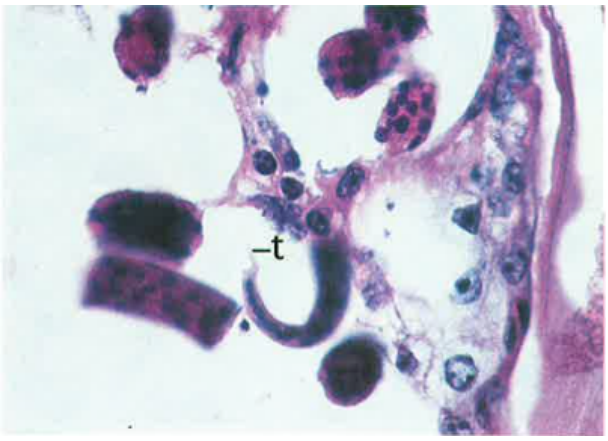


Fig. 10. Histologische coupe doorheen longweefsel. De excentrische top van de staart (t) geeft een vingervormig uitzicht aan het caudale uiteinde van de Metastrongyloide-larve (Uit: Gardiner, 1999).

3.2. PNEUMONIE MET VASCULAIRE VERANDERINGEN

3.2.1. Macroscopisch beeld

Zowel bij experimentele als natuurlijke *Angiostrongylus*-infecties zijn de longen op autopsie donkerrood en geconsolideerd (Fig. 11). Ze bevatten vaste nodules waarvan de kleur varieert tussen bleek, bruin en geelachtig. De nodules komen vaak voor in associatie met hemorrhagische vlekjes. Op doorsnede hebben de macroscopisch niet-aangetaste zones een granulair aspect (Yamakawa et al., 2009; Schnyder et al., 2010).

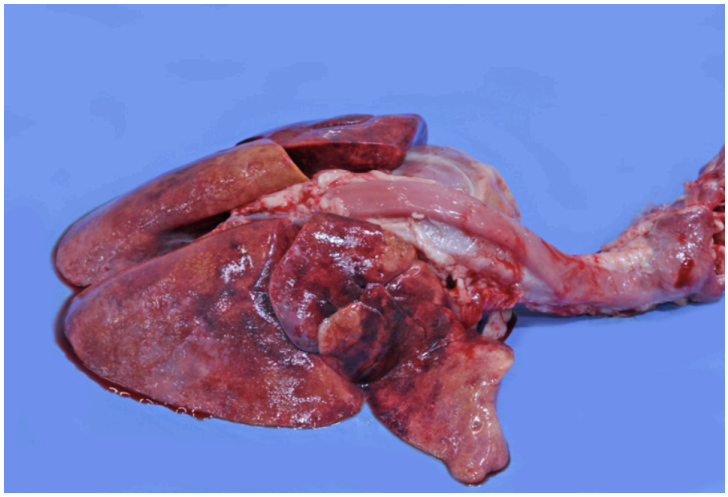


Fig. 11. Macroscopisch uitzicht van de longen op autopsie. De longen zijn geconsolideerd en donkerrood.
(Uit: Gallagher et al., 2012).

3.2.2. Microscopisch beeld

Angiostrongylose wordt histologisch gekenmerkt door een granulomateuze ontstekingsreactie (Yamakawa et al., 2009). De meest voorkomende ontstekingscellen in de granulomen zijn macrofagen, meerkernige reuzencellen en lymfocyten (Bourque et al., 2008; Kranjc et al., 2010; Schnyder et al., 2010). Koch en Willesen (2009) beschrijven echter een inflammatie met hoofdzakelijk neutrofielen en enkele eosinofielen. Een mildere granulomateuze ontstekingsreactie kan daarnaast tegelijkertijd aanwezig zijn ter hoogte van de milt, pancreas, nieren, hersenen en lymfeknopen (Bourque et al., 2008; Yamakawa et al., 2009).

In verschillende bloedvaten zijn thrombi aanwezig. Deze thrombi worden geassocieerd met de aanwezigheid van larven (Schnyder et al., 2009). In sommige bloedvaten kan een deel van de

thrombus geïncorporeerd zijn in de bloedvatwand. Dit proces van recanalisatie vindt plaats wanneer de thrombus reeds langdurig aanwezig is (Bourque et al., 2008; Kranjc et al., 2010).

In gevallen van ernstige angiostrongylose is de wand van de longbloedvaten vaak verdikt. Deze verdikking is te wijten aan hypertrofie en hyperplasie van de tunica media (Bourque et al., 2008; Kranjc et al., 2010; Schnyder et al., 2010). Dit ontstaat door de weerstand die het bloed ondervindt door de massale aanwezigheid van de thrombi en/of emboli. Dit kan leiden tot pulmonaire hypertensie, maar de onderliggende ontstaansmechanismen zijn onvoldoende gekend (Bourque et al., 2008; Kranjc et al., 2010). Wanneer er inderdaad sprake is van pulmonaire hypertensie, kan er eveneens een compensatoire hypertrofie van het rechterhart ontstaan (Bourque et al., 2008).

Naargelang de ernst van de besmetting is er in het chronische stadium meer of minder interstitiële fibrose aanwezig (Bourque et al., 2008). Ter hoogte van de granulomen wordt er soms eveneens een multifocale pleurale fibrose beschreven (Yamakawa et al., 2009).

3.3. MULTIFOCALE BLOEDINGEN

3.3.1. Macroscopisch beeld

De aard van de bloedingen kan zeer sterk verschillen, zowel van grootte als van lokalisatie. Deze bloedingen komen frequent voor, maar zijn zeker niet bij alle aangetaste honden aanwezig (Bourque et al., 2008; Jolly et al., 2014). Subcutane bloedingen worden vaak gezien en kunnen soms geassocieerd worden met zeer mild trauma of bloedname (Brennan et al., 2004). Er worden eveneens frequent bloedingen beschreven van het zenuwstelsel, waarbij zowel de grote hersenen, de kleine hersenen, het ruggenmerg als de meningen aangetast kunnen zijn. Verder worden onder andere bloedingen ter hoogte van de conjuctivae, de spieren, de longen en de neusholte gerapporteerd (Gould en McInnes, 1999; Whitley et al., 2005; Yamakawa et al., 2009). Bij honden met een dergelijk beeld van multifocale bloedingen is de milt doorgaans bleek en gecontraheerd (Gould en McInnes, 1999).

3.3.2. Microscopisch beeld

De bloedingen kunnen ook microscopisch vastgesteld worden in de verschillende organen. De infiltratie van rode bloedcellen is bijvoorbeeld vaak zeer duidelijk ter hoogte van de longalveolen (Yamakawa et al., 2009). De lokale macrofagen zijn dan beladen met grote hoeveelheden hemosiderine (Brennan et al., 2004). Dit is één van de belangrijkste stapelproducten van ijzer. De talrijke aanwezigheid ervan in de macrofagen wijst op een massale of chronische intracellulaire vertering van bloed (Robbins, 2010).

CASUSBESPREKING

1. ANTE-MORTEM DIAGNOSE

De hond in deze casus is een Mechelse Herder die werd geboren in Los Angeles (USA) en op een leeftijd van twee maanden werd overgebracht naar Nederland. De klinische klachten waren aanwezig in de winter, met als belangrijkste symptomen tachypnee en milde hyperventilatie. De hond had verder last van hematurie, een overmatige speekselproductie en anorexie. Hij liep met kromme rug en was apathisch. Op klinisch onderzoek werden bleke mucosae, een verlengde capillaire vullingstijd en een zwakke pols vastgesteld. Het bloedonderzoek toonde een sterke eosinofilie aan, samen met een sterke monocytose en milde neutrofilie. Er werd eveneens een milde anemie en een hyperproteïnemie vastgesteld. In de klinische opwerking van deze patiënt werd geen fecesonderzoek of broncho-alveolaire lavage uitgevoerd. Eind januari is de hond overleden op een leeftijd van anderhalf jaar.

2. POST-MORTEM DIAGNOSE

Op het ogenblik van de autopsie is de hond in een staat van licht post-mortale autolyse. Het post-morteminterval bedraagt 2 dagen. De algemene voedingstoestand is matig met een body condition score (BCS) van 2,5/5. De hond is mild gedehydrateerd.

2.1. WORMINFESTATIE

Het rechterhart is gedilateerd en bevat een grote hoeveelheid wormen. De lumina van de truncus pulmonalis en de aa. pulmonales zijn eveneens volledig gevuld met wormemboliën. De tracheobronchale en craniale mediastinale lymfeknopen zijn sterk opgezet. De grootte en het uitzicht van de wormen werd niet genoteerd tijdens de autopsie. In het duodenum zijn eveneens enkele wormen aanwezig. De mesenteriale lymfeknopen zijn matig vergroot.

Op de histologische coupes zijn er doorsneden doorheen multicellulaire organismen aanwezig in de grotere bloedvaten van de longen en in de bronchiale en craniale mediastinale lymfeknopen. De aangetroffen organismen zijn volwassen nematoden. Ze worden omgeven door een dunne cuticula, hebben een coelomyriane musculatuur en een zeer grote darm met multinucleaire cellen. Er kunnen ovaria met eitjes en larven of testes worden onderscheiden in verschillende wormen (Fig. 12).

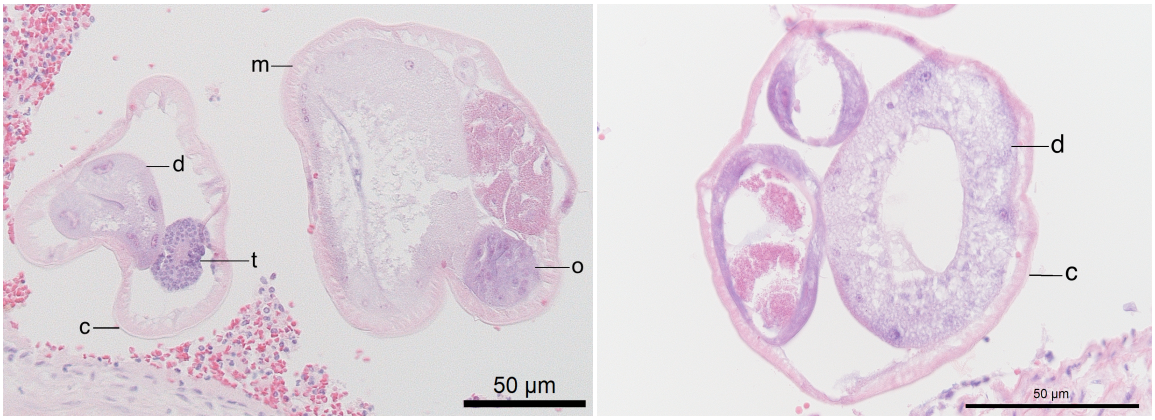


Fig. 12. Doorsneden doorheen de volwassen nematoden op de histologische coupes van deze casus; d = grote darm met multinucleaire cellen, o = ovarium, t = testis, m = coelomyriane musculatuur, c = gladde cuticula.

De larven zijn op de histologische coupes van de longen massaal aanwezig in de alveoli (Fig. 13a). Ze komen ook intravasculair en in de bronchiale en craniale mediastinale lymfeknopen voor. Ter hoogte van de mucosa van het colon zijn eveneens doorsneden doorheen enkele nematode-larven aanwezig (Fig. 13b).

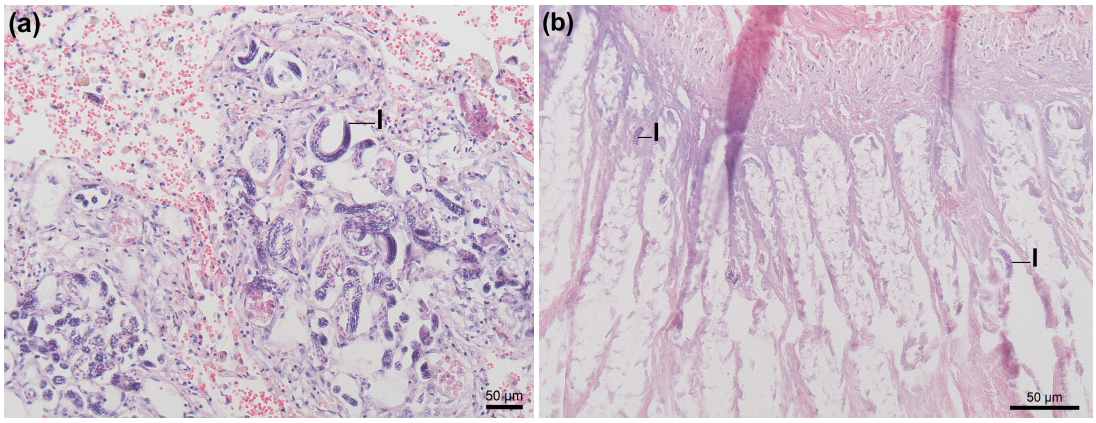


Fig. 13. Histologisch uitzicht van de larven (l) in **(a)** de longen en **(b)** het colon in deze casus.

2.2. PNEUMONIE MET VASCULAIRE VERANDERINGEN

De longen voelen hard aan op autopsie. Ze vertonen een landkaartachtig patroon van donkere en lichtere zones. Afgezien van de aanwezigheid van wormen in het hart, vertoont het hartweefsel zelf geen macroscopische veranderingen. De wand van het linkerventrikel meet 2 cm en die van het rechterventrikel 0,6 cm.

Op histologie zijn de wanden van verschillende longbloedvaten verdikt. Ze bevatten aggregaten van fijnvezelig, eosinofiel fibrine. Samen met geïnfiltreerde eosinofielen en neutrofielen worden er talrijke thrombi gevormd. In sommige bloedvaten maken de larven deel uit van de thrombi. Soms is er een proces van recanalisatie aanwezig met incorporatie van een deel van de thrombus in de bloedvatwand (Fig. 14a). Ter hoogte van het longparenchym is er rondom de larven een granulomateuze ontstekingsreactie aanwezig (Fig. 14b). De ontstekingscellen bestaan hoofdzakelijk uit macrofagen en enkele reuzencellen. Er zijn slechts weinig eosinofielen en neutrofielen aanwezig.

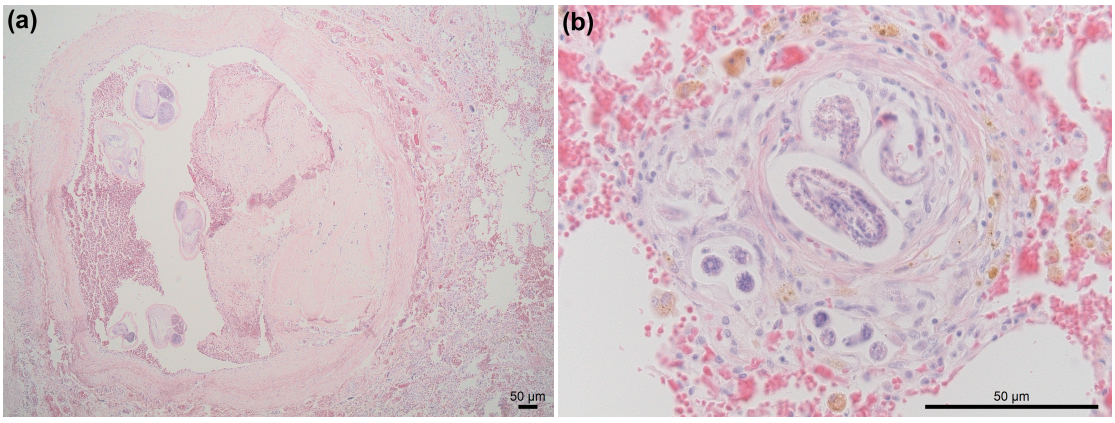


Fig. 14. Histologische coupes van de longen in deze casus; **(a)** Verdikte bloedvatwand met wormen, een thrombus en beginnende recanalisatie; **(b)** Granulomateuze ontstekingsreactie rondom enkele larven en eieren.

2.3. MULTIFOCALE BLOEDINGEN MET ANEMIE EN MELENA

Ter hoogte van de huid en subcutis zijn multifocale subcutane bloedingen aanwezig van variabele grootte. De kleinste bloedingen meten 3-4 cm bij 10 cm en zijn te vinden ter hoogte van de rechterelleboog en de linkerschouder. Aan de rechterzijde van thorax is een bloeding van 5 cm bij 10 cm aanwezig. De grootste subcutane bloeding meet 20 cm bij 25 cm en spreidt zich uit over de gehele ventrale middellijn tot 5 cm voorbij het sternum. Er is een kleine hoeveelheid serohemorrhagisch vocht aanwezig in het pericard. De neusholte en de paranasale sinussen bevatten eveneens bloed. In de larynx en in de trachea is een grote hoeveelheid serohemorrhagisch spumeus vocht aanwezig. De pancreas bevat kleine, multifocale bloedingen. Het distale deel van de slokdarm vertoont talrijke puntbloedingen. De dikke darm bevat halfvaste, bruin-zwarte inhoud. Men spreekt van melena. Tenslotte is er een sclerale bloeding aanwezig in het linkeroog.

Op de histologische coupes zijn multipele subcutane bloedingen te identificeren. Er zijn multifocaal uitgebreide bloedingen aanwezig in de long. In sommige delen zijn alle alveoli volledig gevuld met bloed (Fig. 15a). De alveolaire macrofagen bevatten grote hoeveelheden intracytoplasmatisch, goud-bruin, korrelig pigment. Dit is hemosiderine (Fig. 15b).

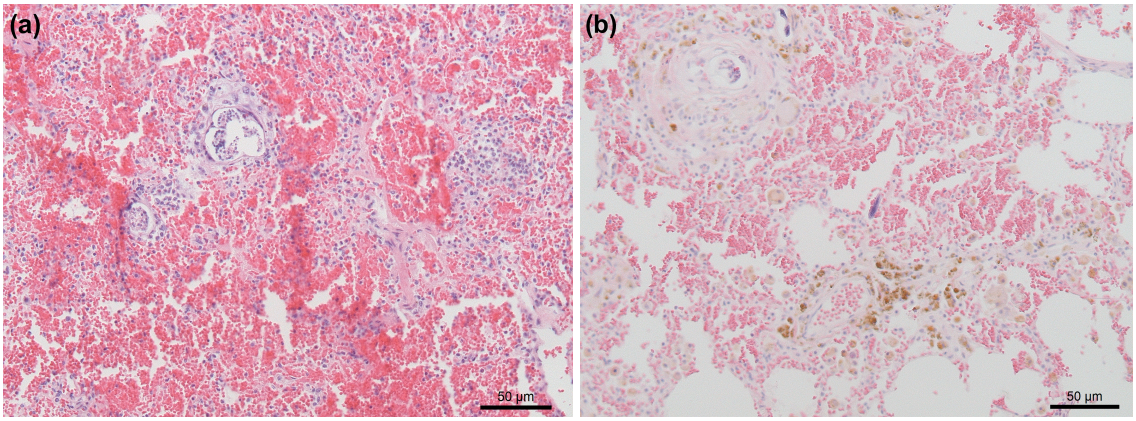


Fig. 15. Histologische coupes van de longen in deze casus; **(a)** De bloedingen ter hoogte van de longalveolen; **(b)** Longmacrofagen met bruin pigment (hemosiderine).

De bronchiale en craniale mediastinale lymfeknopen vertonen microscopisch multifocale bloedingen. Er is necrose van het lymfoïd weefsel en sterke aanwezigheid van macrofagen met hemosiderine. In de pancreas zijn er eveneens multifocale bloedingen aanwezig, maar de beoordeling is moeilijk door post-mortale autolyse.

De milt is macroscopisch vergroot en bleek. De rode miltpulpa is zeer arm aan rode bloedcellen. Er is een diffuse infiltratie door macrofagen beladen met hemosiderine. Er zijn eveneens plasmacellen aanwezig, vaak met inclusielichaampjes. De aanwezigheid van megakaryocyten wijst op extramedullaire hematopoëse.

DISCUSSIE

Het variabel klinisch beeld, de intermitterende uitscheiding van de larven in de feces en de onvoldoende waakzaamheid bij de clinici, zorgen ervoor dat de diagnose in België vermoedelijk nog vaak gemist wordt (Morgan en Shaw, 2010; Traversa et al., 2010). De prevalentie van *Angiostrongylus vasorum* is zowel in Nederland als in de Verenigde Staten zeer laag, maar het kan niet uitgesloten worden dat de hond uit deze casus in één van beide gebieden toch in contact is gekomen met de parasiet (Morgan et al., 2009). Als jonge hond met klinische klachten als tachypnee en hyperventilatie tijdens de winter, moet angiostrongylose zeker worden opgenomen in de differentiaaldiagnose. De Mechelse Herder behoort niet tot de vooropgestelde rassen die mogelijk een hogere vatbaarheid zouden hebben, maar de correlatie tussen het ras en de gevoeligheid is niet algemeen aanvaard (Chapman et al., 2004). Het bloedonderzoek toont een chronisch ontstekingsbeeld met sterke eosinofilie. Dit is indicatief voor een parasitaire of een allergische aandoening (Ettinger, 1983). Het licht verhoogde totale eiwit dat in deze casus vastgesteld werd, is waarschijnlijk te wijten aan een hyperglobulinemie door een polyclonale gammopathie (Chapman et al., 2004). Dit wijst op een chronische stimulatie van het immuunsysteem met de productie van antilichamen. Het is een eerder aspecifieke bevinding die vaak aanwezig is bij bacteriële, mycotische en parasitaire infecties. Hyperproteïnemie kan ook wijzen op uitdroging, maar dan zou men klinisch plakkerige mucosae, ogen die diep in de oogkassen liggen en een verminderde huidturgor verwachten (Ettinger, 1983).

Op autopsie wordt de aanwezigheid van de kleine wormen niet steeds opgemerkt (Jolly et al., 2014). Wanneer er in het hart en de pulmonale bloedvaten wel wormen gevonden worden, kunnen die normaal gezien macroscopisch van elkaar worden onderscheiden door het significant verschil in grootte (Kassai, 1999). Er werd echter niets genoteerd over het uitzicht van de wormen, vermoedelijk omdat bij de aanwezigheid van hartwormen meteen aan *Dirofilaria immitis* gedacht werd. Op de histologische evaluatie wordt duidelijk dat het niet om *Dirofilaria* spp. gaat. De parasieten kunnen worden geïdentificeerd als *Angiostrongylus* spp. op basis van de coelomyriane musculatuur, de dunne cuticula, de grote darm met multinucleaire cellen en de ovaria met eitjes (Gardiner, 1999).

De larven en eieren die aanwezig zijn in het longparenchym kunnen met de beschikbare middelen niet geïdentificeerd worden. In theorie is de identificatie van *Angiostrongylus vasorum* wel mogelijk met behulp van histologie, maar dit vereist een histologische snede die perfect doorheen de top van de staart gaat (Gardiner, 1999). Door de identificatie van volwassen exemplaren van *Angiostrongylus vasorum* in de longbloedvaten, kan men echter wel verwachten dat de larven in het longparenchym tot dezelfde soort behoren. In deze casus zijn er ter hoogte van de mucosa van het colon eveneens doorsneden doorheen nematode-larven aanwezig. Ook hier is de identificatie van de larven niet mogelijk. Ze kunnen zowel afkomstig zijn van *Toxocara canis* als van *Angiostrongylus vasorum*. De larven van *Toxocara canis* kunnen een somatische migratie ondergaan waarbij de parasieten in ongeveer alle organen kunnen terechtkomen (Schnieder et al., 2011). De cyclus van *Angiostrongylus vasorum* vereist een migratie vanuit het spijsverteringsstelsel naar de mesenteriale lymfeknopen (Bolt et al., 1994). Het is hierbij niet ondenkbaar dat de *Angiostrongylus*-larven onderweg in het colon

aanwezig kunnen zijn. Er kan dus geen besluit gevormd worden in verband met de identificatie van de larven in het colon. De opzetting van de mesenteriale lymfeknopen kan eveneens door de aanwezigheid van beide parasieten verklaard worden.

De granulomateuze pneumonie is een reactie op de chronische migratie en penetratie van de larven doorheen het longweefsel tot in de alveolen. Een granulomateuze pneumonie is de meest voorkomende vorm van chronische, interstitiële pneumonie. Deze wordt histologisch gekenmerkt door een infiltratie van voornamelijk macrofagen, proliferatie van de type II alveolaire cellen en een verdikking van het interstitium door bindweefselvorming. Vaak geeft dit aanleiding tot pulmonaire hypertensie (Dungworth, 1993). De eieren en larven induceren een vreemd voorwerp reactie en worden als het ware omkapseld door de ontstekingsreactie, in een poging om de infestatie te neutraliseren.

De migratie van de larven vanuit de darm naar de longen gebeurt via de bloedvaten (Morgan en Shaw, 2009). De intravasculaire aanwezigheid van de parasieten leidt tot de massale vorming van thrombi (Ramsey et al., 1996). Dit kan leiden tot een verhoging van de weerstand in de bloedvaten. De histologische beelden van de longen vertonen inderdaad een verdikking van de wand van de longbloedvaten. Dit wijst in de richting van pulmonaire hypertensie en kan secundair een overbelasting van het rechterhart veroorzaken (Bourque et al., 2008). De ratio van de wanddikte van het rechterventrikel ten opzichte van de wanddikte van het linkerventrikel van een normaal hart is 1:3,26 (Robinson, 1993). De metingen van het hart in deze casus komen overeen met een ratio van 1:3,3. Er is dus geen sprake van compensatoire hypertrofie van het rechterhart.

Het vermoeden van een gegeneraliseerde coagulopathie op basis van de klinische bevindingen wordt bevestigd door de verschillende bloedingen die gevonden worden op autopsie. De aanwezigheid van melena is indicatief voor interne bloedingen ter hoogte van het craniale deel van het spijsverteringsstelsel (Wilson, 1990). Het exacte mechanisme waardoor coagulopathie ontstaat bij angiostrongylose kan niet éénduidig worden bepaald (Bourque et al., 2008). De onderliggende oorzaak die het meest wordt aangehaald in de literatuur, stelt een milde, chronische gedisseminеerde intravasale coagulatie (DIC) met verbruikscoagulopathie voor (Fig. 16) (Ramsey et al., 1996; Koch en Willesen, 2009; O'Neill et al., 2010). Een definitieve diagnostische test is niet beschikbaar, maar DIC kan klinisch vermoed worden op basis van een verlengde capillaire vullingstijd, milde thrombocytopenie, verlengde stollingstijden (PT en aPTT) en een hoog gehalte aan fibrine degradatie producten (FDP) (O'Neill et al., 2010). Door de verlengde capillaire vullingstijd op het klinisch onderzoek en de talrijke aanwezigheid van thrombi op histologie, kan men verwachten dat er in deze casus waarschijnlijk een proces van DIC aan de gang was.

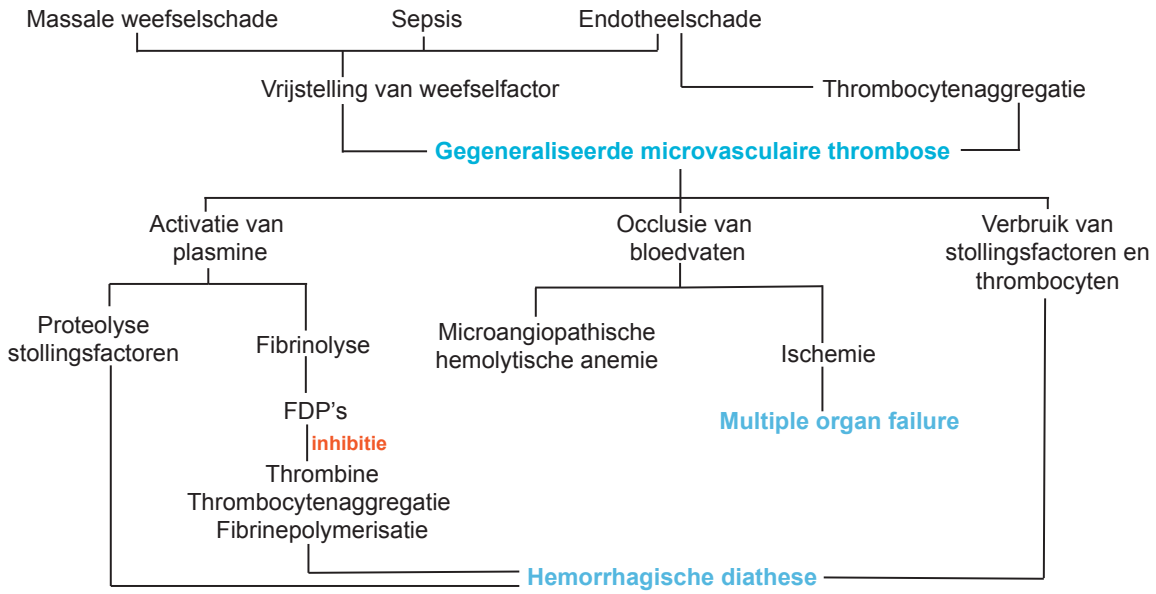


Fig. 16. Schematische weergave van het ontstaansmechanisme van DIC; FDP = Fibrine degradatie product (Naar: Ducatelle, 2010).

Differentiaaldiagnostisch komt secundaire immuungemedieerde thrombocytopenie (IMTP) in aanmerking. De verhoogde macrofagenactiviteit en de productie van antiplaatjes-antilichamen in respons op de parasitaire infectie, kan de afbraak van de bloedplaatjes verhogen (Gould en McInnes, 1999; Bourque et al., 2008). De graad van thrombocytopenie zou ernstiger zijn bij IMTP dan bij DIC (O'Neill et al., 2010). IMTP kan worden aangetoond door een immunofluorescentietest in combinatie met een regeneratief beeld in het beenmerg en normale stollingstesten (aPT en PTT) (Gould en McInnes, 1999).

Whitley et al. (2005) beschrijven tenslotte een associatie van angiostrongylose met een verworven vorm van von Willebrandfactor deficiëntie (vWFD). De productie van anti-vWF-antilichamen en de destructie van vWF door een hoog stressniveau kunnen de verworven deficiëntie veroorzaken. Klinisch is er geen thrombocytopenie en de aPT en PPT zijn normaal. De aandoening wordt gekenmerkt door een verlengde buccale mucosale bloedingstijd (BMBT) en een lage concentratie aan von Willebrandfactor (vWF) in het bloed. Aangezien er slechts één dergelijk geval bekend is, is verder onderzoek wenselijk.

Wanneer gegeneraliseerde bloedingen apart worden beschouwd, is rodenticide-intoxicatie, gezien de leeftijd van de hond, de belangrijkste differentiaaldiagnose (Valli, 2007). De meest gebruikte rodenticiden bevatten antagonisten van het vitamine-K-epoxide reductase, waardoor gebruikt vitamine K niet meer kan omgezet worden tot zijn actieve vorm. Zonder actief vitamine K kunnen bepaalde reacties in de productie van de stollingsfactoren II, VII, IX en X niet meer doorgaan en kan er een fatale coagulopathie optreden (Mount, 1988). Ook zonder de opname van rattengif in de anamnese, werd er in deze casus voor de zekerheid vitamine K opgestart.

Naast coumarine-intoxicatie moet ook zeker aan leverinsufficiëntie gedacht worden, aangezien de stollingsfactoren, met uitzondering van factor VIII, geproduceerd worden in de lever (Ettinger, 1983; Valli, 2007). De lever in deze casus heeft geen afwijkende grootte en vertoont zowel macroscopisch als microscopisch geen tekenen die in de richting van leverinsufficiëntie wijzen.

De milt van de hond in deze casus is groot en bleek, wat compatibel kan zijn met de aanwezige anemie. De bleke kleur is te wijten aan een uitputting van de reservebloedcellen door de massale bloedingen. Splenomegalie gaat hand in hand met een verhoogde activiteit. De massale aanwezigheid van macrofagen die beladen zijn met hemosiderine en het beeld van extramedullaire hematopoëse wijzen inderdaad in die richting. Extramedullaire hematopoëse ontstaat wanneer het beenmerg onvoldoende bloedcellen kan produceren om aan de vraag van het lichaam te voldoen (Valli, 2007). De inclusielichaampjes die gevonden werden in de plasmacellen van de milt zijn zogenaamde “Russell bodies”. Ze vertegenwoordigen een opstapeling van antilichamen en ontstaan wanneer de productie van de antilichamen binnen de cel hoger is dan de hoeveelheid die gesecreteerd wordt. Ze worden geassocieerd met inflammatoire letsels die zich in de herstelfase bevinden (Cheville, 1999).

Naar alle waarschijnlijkheid hebben de verschillende bloedingen in dit geval een verbruikscoagulopathie veroorzaakt. Dit is het gevolg van een gedissemineerde intravasale stolling (DIC) door de vorming van talrijke thrombi en emboli in respons op de intravasculaire aanwezigheid van de parasiet en de weefselschade die veroorzaakt wordt door de migratieroute van de larven. Deze weefselschade is vooral duidelijk ter hoogte van de longen, waar een uitgebreide granulomateuze ontstekingsreactie de goede werking van de longen in de weg staat. De worminfestatie en de geassocieerde DIC hebben waarschijnlijk geleid tot de sterfte van het dier.

REFERENTIELIJST

Barçante T.A., Barçante J.M.P., Dias S.R.C., Lima W.S. (2003). *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: emergence of thrid-stage larvae from infected *Biomphalaria glabrata* snails. Parasitology Research 91, 471-475.

Barutzki D., Schaper R. (2009). Natural Infections of *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* in Dogs in Germany (2007-2009). Parasitology Research 105, 39-38.

Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW (2009). GenBank Nucleic Acids Research 37, D26-31, Taxonomy ID: 321387.

Boag A.K., Murphy K.F., Connolly D.J. (2005). Hypercalcaemia associated with *Angiostrongylus vasorum* in three dogs. Journal of Small Animal Practice 46, 79-84.

Bolt G., Monrad J., Koch J., Jensen A.L. (1994). Canine angiostrongylosis: a review. The Veterinary Record 135, 447-452.

Bourque A.C., Conboy G., Miller L.M., Whitney H. (2008). Pathological findings in dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* in Newfoundland and Labrador, Canada. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 20, 11-20.

Brennan S.F., McCarthy G., McAllister H., Bassett H., Jones B.R. (2004). Clinical signs, diagnosis and treatment of three dogs with angiostrongylosis in Ireland. Irish Veterinary Journal 57, 103-109.

Chapman P.S., Boag A.K., Guitian J., Boswood A. (2004). *Angiostrongylus vasorum* infection in 23 dogs (1999-2002). Journal of Small Animal Practice 45, 435-440.

Cheville N.F. (1999). Cell and Tissue Responses to Sublethal Injury. In: Ackerman M., Andreasen C., Brees D., Haynes J., Hedstrom O., Meador V., Mosier D., Myers R., O'Brien T. (Editors). Introduction to Veterinary Pathology, 2de editie, Blackwell Publishing Professional, Iowa, p. 33.

Conboy G.A. (2004). Natural infections of C*renosoma vulpis* and *Angiostrongylus vasorum* in dogs in Atlantic Canada and their treatment with milbemycin oxime. Veterinary Record 155, 16-18.

Conboy G.A. (2011). Canine angiostrongylosis: The French heartworm: An emerging threat in North America. Veterinary Parasitology 176, 382-389.

Ducatelle R. (2010). Circulatiestoornissen. Algemene pathologie, Cursus Faculteit diergeneeskunde, Gent, p. 113-115.

Dungworth D.L. (1993). The Respiratory System. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (Editors). Pathology of Domestic Animals Volume 2, 4de editie, Academic Press Inc., California, USA p. 602.

Ettinger S.J. (1983). Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat Volume I & II. 2de editie, W.B. Saunders Company, USA, p. 107, 1569, 2024, 2077 en 2169.

Ferdushy T., Kapel C.M.O., Webster P., Al-Sabo M.N.S., Grønvold J. (2009). The occurence of Angiostrongylus vasorum in terrestrial slugs from forests and parks in the Copenhagen area, Denmark. Journal of Helminthology 83, 379-383.

Foreyt W.J. (2001). Diagnostic Parasitology. In: Veterinary Parasitology Reference Manual, 5de editie, Blackwell Publishing Professional, Iowa, p. 6.

Friedman K.D. (2014). Prolonged PTT. In: Petkova J.H., Lichtin A., Bartholomew J. (Editors). The Coagulation Consult: A Case-Based Guide, 1ste editie, Springer Science+Business Media, New York, p. 151-152.

Gallagher B., Brennan S.F., Zarelli M., Mooney C.T. (2012). Geographical, clinical, clinicopathological and radiographic features of canine angiostrongylosis in Irish dogs: a retrospective study. Irish Veterinary Journal 65, doi: 10.1186/2046-0481-65-5.

Gardiner C.H. (1999). Morphological Characteristics of Nematodes in Tissue Section. In: Poyton S.L. (Editor). An Atlas of Metazoan Parasites in Animal Tissues, 1ste editie, American Registry of Pathology, Washington DC, USA, p 2-46.

Gould S.M., McInnes E.L. (1999). Immune-mediated thrombocytopenia associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in a dog. Journal of Small Animal Practice 40, 227-232.

Guilhon M.J. (1960). Rôle des Limacidés dans le cycle évolutif d'Angiostrongylus vasorum (*Baillet*, 1866). Académie des Sciences 251, 2252-2253.

Jolly S., Poncelet L., Lempereur L., Caron Y., Bayrou C., Cassart D., Grimm F., Losson B. (2014). First report of a fatal autochthonous canine *Angiostrongylus vasorum* infection in Belgium. Parasitology International 64, 97-99.

Kassai T. (1999). Veterinary Helminthology, 1ste editie, Butterworth-Heinemann, Oxford, Verenigd Koninkrijk, p. 88-90 en 121-124.

Kirk L., Limon G., Guitian F.J., Hermosilla C., Fox M.T. (2014). *Angiostrongylus vasorum* in Great Brittain: a nationwide postal questionnaire survey of veterinary practices. Veterinary Record, doi: 10.1136/vr.102196.

Koch J., Willesen J.L. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: An update. The Veterinary Journal 179, 348-359.

Kranjc A., Schnyder M., Dennler M., Fahrion A., Makara M., Ossent P., Morgan J., Deplazes P., Glaus T.M. (2010). Pulmonary Artery Thrombosis in Experimental *Angiostrongylus vasorum* Infection Does Not Result in Pulmonary Hypertension and Echocardiographic Right Ventricular Changes. Journal of Veterinary Internal Medicine 24, 855-862.

Lichtin A. (2014). Prolonged PT. In: Bartholomew J. (Editor). The Coagulation Consult: A Case-Based Guide, 1ste editie, Springer Science+Business Media, New York, p. 151-152.

McGarry J.W., Morgan E.R. (2009). Identification of first-stage larvae of metastrongyles from dogs. The Veterinary Record 165, 258-261.

Mehlhorn H. (2008). Encyclopedia of Parasitology, 3de editie, Springer Science+Business Media, New York, p. 1071.

Mischke R., Hänies R., Lange K., Rivera Ramirez P.A. (1996). Einfluß der Albuminekonzentration auf die Beziehung zwischen der Konzentration des ionisierten Calciums und Gesamtcalciums im Blut des Hundes. Deutsche Tierärtzliche Wochenschrift 103, 197-236.

Morgan E.R., Shaw S.E., Brennan S.F., De Waal T.D., Jones B.R., Mulcahy G. (2005). *Angiostrongylus vasorum*: a real heartbreaker. TRENDS in Parasitology 21, 49-51.

Morgan E.R., Jefferies R., Krajewski M., Ward P., Shaw S.E. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: The influence of climate on parasite distribution. Parasitology International 58, 406-410.

Morgan E.R., Shaw S. (2010) *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs: continuing spread and developments in diagnosis and treatment. Journal of Small Animal Practice 51, 616-621.

Mount E.M. (1988). Diagnosis and Therapy of Anticoagulant Rodenticide Intoxications. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 18, 115-130.

O'Neill E.J., Acke E., Tobin E., McCarthy G. (2010). Immune-mediated thrombocytopenia associated with Angiostrongylus vasorum infection in a Jack Russell terrier. Irish Veterinary Journal 63, 434-440.

Ramsey I.K., Littlewood J.D., Dunn J.K., Herrtage M.E. (1996). Role of chronic disseminated intravascular coagulation in a case of canine angiostrongylosis. Veterinary Record 138, 360-363.

Robbins S.L. (2010). Cellular Responses to Stress and Toxic Insults: Adaptation, Injury and Death. In: Cotran R.S., Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Aster J.C. (Editors). Robbins and Cotran: Pathologic Basis of Disease, 8ste editie, Saunders Elsevier, Philadelphia, p. 36.

Robinson W.F. (1993). The Cardiovascular System. In: Maxie M.G., Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (Editors). Pathology of Domestic Animals Volume 3, 4de editie, Academic Press Inc., California, p. 7.

Schnieder T., Laabs E.-M., Welz C. (2011). Larval development of *Toxocara canis* in dogs. Veterinary Parasitology 175, 193-206.

Schnyder M., Fahrion A., Riond B., Ossent P., Webster P., Kranjc A., Glaus t., Deplazes P. (2010). Clinical, laboratory and pathological findings in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum*. Parasitology Research 107, 1471-1480.

Schulman S. (2014). Prolonged bleeding after surgury. In: Lichtin A., Bartholomew J. (Editors). The Coagulation Consult: A Case-Based Guide, 1ste editie, Springer Science+Business Media, New York, p. 151-152.

Taubert A., Pantchev N., Vrhovec M.G., Bauer C., Hermosilla C. (2009). Lungworm infections (*Angiostrongylus vasorum, Crenosoma vulpis, Aelurostrongylus abstrusus*) in dogs and cats in Germany and Denmark in 2003-2007. Veterinary Parasitology 159, 175-180.

Traversa D., Di Cesare A., Conboy G. (2010). Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. Parasites & Vectors, doi: 10.1186/1756-3305-3-62.

Valli V.E.O. (2007). Hematopoietic system. In: Gentry P.A., Maxie M.G. (Editors). Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals Volume 3, 5de editie, Elsevier Saunders, China, p. 284-324.

Whitley N.T., Corzo-Menendez N., Carmichael N.G., McGarry J.W. (2005). Cerebral and conjuctival haemorrhages associated with von Willebrand factor deficiency and canine angiostrongylosis. Journal of Small Animal Practice 46, 75-78.

Wilson I.D. (1990). Hematemesis, Melena, and Hematochezia. In: Walter H.K., Hall W.D., Jurst J.W. (Editors). Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations, 3de editie, Butterworth Publishing, Boston, USA, p. 439-441.

Yamakawa Y., McGarry J.W., Denk D., Dukes-McEwan J., Macdonald N., Mas A., McConnell F., Tatton B., Valentine E.G., Wayne J., Williams J.M., Hetzel U. (2009). Emerging canine angiostrongylosis in northern England: five fatal cases. Veterinary Record 164, 149-152.

Zajac A.M. (2006). Fecal Examination for the Diagnosis of Parasitism. In: Conboy, G.A., Greiner E.C., Smith S.A., Snowden K.F. (Editors). Veterinary Clinical Parasitology, 7de editie, Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA, p. 70-71.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2014 – 2015

PRIMAIRE IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE BIJ DE HOND

door

Falke GORRIS

Promotoren: Annelies Willems
Isabel Van de Maele

Klinische case in het kader van de masterproef

© 2015 Falke Gorris

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2014 – 2015

PRIMAIRE IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE BIJ DE HOND

door

Falke GORRIS

Promotoren: Annelies Willems
Isabel Van de Maele

Klinische case in het kader van de masterproef

© 2015 Falke Gorris

VOORWOORD

Eerst en vooral zou ik graag mijn co-promotor Isabel Van de Maele willen bedanken. Ze heeft me de kans gegeven om een casus te bespreken die ik vorige zomer zelf van dichtbij heb opgevolgd. Hierdoor kon ik gemakkelijker het overzicht behouden en was het zeer leerrijk om de toegepaste diagnostiek en therapie achteraf in detail te analyseren.

Verder wil ik graag mijn promotor Annelies Willems bedanken voor haar hulp. Zij was destijds de behandelende dierenarts van de hond en heeft een logische en uitgebreide opwerking verzekerd. Daardoor was het voor mij zeer gemakkelijk om de literatuur en de praktische opwerking aan elkaar te toetsen. Ze heeft mij steeds opbouwende kritiek gegeven en mij geholpen om kritisch naar de bestaande literatuur te kijken.

Ik wil eveneens mijn zus en mijn ouders bedanken voor hun interesse en hun feedback over de opbouw van mijn werk. Als laatste wil ik zeker ook mijn medestudenten bedanken. Het is altijd leuk om de weten dat je er niet alleen voorstaat.

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING **1**

INLEIDING **2**

LITERATUURSTUDIE **3**

1. ETIOLOGIE 3
   1.1. PRIMAIRE IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE 3
   1.2. SECUNDAIRE IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE 3
2. SYMPTOMEN 3
3. DIAGNOSE 4
   3.1. DIAGNOSE VAN IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE 4
   3.2. DIAGNOSE VAN EEN ONDERLIGGENDE OORZAAK 8
4. BEHANDELING 11
   4.1. BLOEDTRANSFUSIE 11
   4.2. IMMUNOSUPPRESSIVA 11
   4.3. ANTICOAGULANTIA 12
   4.4. SPLENECTOMIE 13
   4.5. GASTRO-INTESTINALE MEDICATIE 13
   4.6. BEHANDELING VAN EEN ONDERLIGGENDE OORZAAK 13
5. PROGNOSE 13

CASUSBESPREKING **15**

1. SIGNALEMENT & ANAMNESE 15
2. LICHAMELIJK ONDERZOEK 15
3. PROBLEEMLIJST 15
4. DIFFERENTIAALDIAGNOSE 15
   4.1. BLEKE MUCOSAE (TEN GEVOLGE VAN ANEMIE) 16
   4.2. ICTERUS 16
   4.3. TACHYCARDIE/TACHYPNEE 16
   4.4. SYSTOLISCH BIJGERUIS 17
   4.5. PIGMENTURIE 17
   4.6. BRAKEN 17
   4.7. DIARREE 17
5. PLAN 18
6. RESULTATEN 18
   6.1. AANTONEN VAN EEN IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE 18
   6.2. UITSLUITEN VAN EEN ONDERLIGGENDE OORZAAK 20
7. DIAGNOSE 21
8. BEHANDELING 21
   8.1. BLOEDTRANSFUSIE 21
   8.2. IMMUNOSUPPRESSIVA 22
   8.3. ANTICOAGULANTIA 22
   8.4. GASTRO-INTESTINALE MEDICATIE 22
   8.5. ANTIBIOTICA 22
   8.6. INFUUSTHERAPIE MET KALIUM-SUPPLEMENTATIE 22
9. OPVOLGING 22
   9.1. OPVOLGING TIJDENS DE HOSPITALISATIE 22
   9.2. VERDERE OPVOLGING 23

DISCUSSIE **25**

REFERENTIELIJST **27**

BIJLAGE I – OPVOLGING HEMATOLOGIE BIJ DE DOORVERWIJZENDE DIERENARTS

BIJLAGE II – OPVOLGING HEMATOLOGIE OP DE FACULTEIT

BIJLAGE III – SPECIFIEKE OPVOLGING HEMATOCRIET EN IONOGRAM TIJDENS DE HOSPITALISATIE

BIJLAGE IV – OPVOLGING BIOCHEMIE OP DE FACULTEIT EN BIJ DE DOORVERWIJZENDE DIERENARTS

SAMENVATTING

Immuungemedieerde hemolytische anemie is een aandoening die vaak voorkomt bij honden. Het grootste deel van de gevallen kan niet gelinkt worden aan een onderliggende oorzaak en wordt als primair of idiopathisch beschouwd. De aandoening ontstaat door een type II overgevoeligheidsreactie, waarbij antistoffen geproduceerd worden die de lichaamseigen rode bloedcellen afbreken. De anemie die hierdoor ontstaat is vaak zeer ernstig en kan levensbedreigend zijn. In het geval van idiopathische IMHA bestaat de therapie erin om het immuunsysteem te onderdrukken met behulp van immunosuppressieve medicatie en zo verdere hemolyse tegen te gaan. Er dient eveneens ondersteunend behandeld te worden, aangezien de algemene toestand van de dieren vaak zeer slecht is. Ernstige complicaties, zoals thrombo-embolieën, moeten vermeden worden. De prognose is dan ook gereserveerd, met een gemiddeld overlevingspercentage van 50 %.

In deze casus wordt een klassiek, maar ernstig geval van primaire immuungemedieerde hemolytische anemie bij de hond beschreven. Ondanks volledige klinische opwerking, kon er geen onderliggende oorzaak gevonden worden. De hond werd aangeboden in een stadium van gedecompenseerde anemie, maar kon aan de hand van intensieve therapie, met onder andere bloedtransfusies en een combinatie van immunosuppressieve geneesmiddelen, er bovenop gebracht worden.

Key words: Immuungemedieerde hemolytische anemie – idiopathisch – hond – immunosuppresiva – anticoagulantia

INLEIDING

Anemie is een belangrijk symptoom waarmee de clinicus vaak geconfronteerd wordt. Een juiste opwerking van het dier kan met behulp van eerder eenvoudige technieken reeds veel informatie verschaffen (Nelson en Couto, 2009). Bij een regeneratieve anemie moet men het onderscheid maken tussen bloeding en hemolyse. Dit is niet altijd even eenvoudig. Er moet gezocht worden naar petechiën en ecchymosen om een eventuele stollingsstoornis aan het licht te brengen. Ook moet er gecontroleerd worden op uitwendige en inwendige bloedingen, met speciale aandacht voor melena, bloedbijmenging op rectaal onderzoek en hematurie (Harvey, 2012).

Bij de hond is immuungemedieerde hemolytische anemie (IMHA) de belangrijkste oorzaak van hemolyse (Harvey, 2012; Nelson, 2014). De diagnose van IMHA is niet eenvoudig en berust op een combinatie van verschillende testresultaten. Ondanks dat de aandoening in het merendeel van de gevallen primair is, blijft het zoeken naar onderliggende oorzaken essentieel om een optimale behandeling te kunnen instellen (Nelson, 2014). Daarnaast is een volledige anamnese cruciaal om andere oorzaken van hemolyse te kunnen uitsluiten. Hierbij zijn vooral toegediende geneesmiddelen, voedingsgerelateerde toxines en mogelijke blootstelling aan infectieuze organismen van belang (Tab. 1) (Thrall, 2012; Nelson 2014).

Congenitaal	Pyruvaatkinasedeficiëntie, fosfofructokinasedeficiëntie, stomatocytose, non-sferocytaire hemolytische anemie
Immuungemedieerd	Primair of secundair
Infectieus	Mycoplasmose, babesiose, ehrlichiose
Metabool	Hypofosfatemie
Toxines	Ui, look, bieslook, zink, vitamine K, naftaleen
Medicatie	Sulfonamiden, penicillines, cephalosporines, fenothiazines, anticonvulsiva, benzocaïne, levende vaccins
Microangiopathisch	Hemangiosarcoma

Tabel 1. Differentiaaldiagnose van hemolytische anemie bij de hond (Naar: Harvey, 2012; Thrall, 2012; Nelson, 2014).

LITERATUURSTUDIE

1. ETIOLOGIE

Immuungemedieerde hemolytische anemie is een type II immuunrespons waarbij IgG- en IgM-antistoffen geproduceerd worden die rechtstreeks of onrechtstreeks schade berokkenen aan de eigen rode bloedcellen (Horgan et al., 2009; Harkin et al., 2012; Harvey, 2012). Ook complement kan deel uitmaken van de reactie (Jackson en Kruth, 1985; Wardrop et al., 2012). De vorming van IgG-antistoffen stimuleert de fagocytose van rode bloedcellen (extra-vasculaire hemolyse) en gaat vaak gepaard met spleno- en hepatomegalie (Gerschwin, 2013). De vorming van IgM-antistoffen resulteert in zowel intra- als extravasculaire hemolyse en veroorzaakt een sterke auto-agglutinatie (Beck, 2009; Harkin et al., 2012). De productie van zowel IgG als IgM zou een ernstiger ziektebeeld met zich meebrengen (Harkin et al., 2012).

IMHA komt vaker voor bij gesteriliseerde vrouwelijke dieren van middelbare leeftijd (Orcutt et al., 2010; Harvey, 2012; Gerschwin, 2013). Onder andere Springer Spaniels, Cocker Spaniels, Golden Retrievers en Miniatuur Schnauzers zouden een hogere gevoeligheid vertonen (Weinkle et al., 2005; Warman et al., 2008; Orcutt et al., 2010; Gerschwin, 2013).

1.1. PRIMAIRE IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE

Bij primaire immuungemedieerde hemolytische anemie worden er antistoffen gevormd die specifiek gericht zijn tegen de eigen rode bloedcellen (Gerschwin, 2013). Er kan geen onderliggende oorzaak worden gevonden en men spreekt dan ook wel van auto-immune of idiopathische IMHA (Beck, 2009; Harvey, 2012). In tegenstelling tot bij de meeste andere diersoorten is bij 60 % van de honden met immuungemedieerde hemolytische anemie de aandoening primair (Harvey, 2012).

1.2. SECUNDAIRE IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE

Bij secundaire immuungemedieerde hemolytische anemie is de immuunrespons gericht tot een ander agens, maar worden de rode bloedcellen accidenteel eveneens aangevallen (Harvey, 2012). De onderliggende oorzaak kan een infectieus of neoplastisch proces zijn, maar ook intoxicaties, geneesmiddelen en combinatievaccins kunnen aan de basis liggen (Harvey, 2012; Gerschwin, 2013; Nelson, 2014). Vaak voorkomende oorzaken zijn ehrlichiose, borreliose, dirofilariose, leptospirose, hemangiosarcoma en lymfoma (Weinkle et al., 2005; Harvey et al., 2012).

2. SYMPTOMEN

Sufheid, anorexie en braken zijn symptomen die frequent door de eigenaar worden opgemerkt. Verder wordt soms gezien dat de urine een bruinrode kleur heeft. Op het lichamelijk onderzoek zijn de mucosae typisch icterisch en/of bleek en wordt geregeld een bijgeruis opgemerkt. Ook de aanwezigheid van koorts is een frequente bevinding (Crump en Seshradi, 2009; Brenner et al., 2013). In sommige gevallen worden de dieren aangeboden met erge tachycardie, tachypnee, een sterk

geslagen pols en lethargie. Dit wijst in de richting van decompensatie door hypoxie en vereist snelle therapie (Horgan et al., 2009; Ettinger, 2010).

3. DIAGNOSE

3.1. DIAGNOSE VAN IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE

3.1.1. Hematologie

Op hematologisch bloedonderzoek is er typisch een matig tot zeer ernstige anemie aanwezig en een matig tot zeer uitgesproken regeneratief beeld (Weinkle et al., 2005). Extreem lage hematocrietwaarden worden vaker geassocieerd met IMHA dan met andere oorzaken van hemolyse of bloeding (Chervier et al., 2012). Een regeneratief bloedbeeld wordt gekenmerkt door een hoge reticulocytentelling. Dit moet steeds vergeleken worden met de aanwezige anemie. Bij een milde anemie is een reticulocytentelling van 120 000 per µl en een reticulocytenpercentage van 4 % indicatief voor een goede regeneratieve respons. Naarmate de anemie ernstiger is, moet de regeneratieve respons sterker zijn (Nelson, 2014). Reticulocyten zijn groter en bevatten minder hemoglobine dan normale rode bloedcellen. Hierdoor is het gemiddelde celvolume (mean cell volume of MCV) vaak toegenomen en de gemiddelde hemoglobineconcentratie per rode bloedcel (mean corpuscular hemoglobine concentration of MCHC) vaak afgenomen. Een regeneratieve anemie is dus meestal macrocytair en hypochroom (Ettinger, 2010).

Af en toe wordt bij honden met IMHA een niet-regeneratieve anemie opgemerkt. Dit kan onder andere voorkomen wanneer de rodebloedcelprecursoren in het beenmerg worden aangevallen door de antistoffen of wanneer er een beenmergpathologie aanwezig is waardoor de erythropoëse gecompromitteerd wordt (Weiss, 2008; Chervier et al., 2012). Bij het acuut optreden van een bloeding of hemolyse is er initieel eveneens een niet-regeneratief beeld aanwezig. Men moet er steeds rekening mee gehouden worden dat het drie tot vijf dagen kan duren vooraleer de regeneratieve respons van het beenmerg zichtbaar is in het bloed (Harvey, 2012).

De aanwezigheid van thrombocytopenie wordt regelmatig gezien en kan te wijten zijn aan het optreden van diffuse intravasale stolling (DIC). Dit gebeurt bijvoorbeeld wanneer de anemische toestand veel weefselschade heeft veroorzaakt (Ducatelle, 2010**;** Harvey, 2012). Om een vermoeden van DIC te versterken, dienen de stollingstijden (PT en aPTT), fibrinogeengehalte en D-dimeren bepaald te worden (O'Neill et al., 2010). IMHA komt echter geregeld voor in combinatie met immuungemedieerde thrombocytopenie (IMTP), ook wel Evans syndroom genoemd. In dat geval is de thrombocytopenie te wijten aan een immuungemedieerde destructie (Jackson en Kruth, 1985; Orcutt et al., 2010).

Tenslotte is er op het hematologisch onderzoek zeer vaak een leukocytose aanwezig (Reimer et al., 1999). Dit kan gezien worden als een deel van de leukoerythroblastische reactie. Hierbij wordt de productie van alle bloedcellen in het beenmerg opgedreven en komen ook immature precursoren in de bloedbaan terecht. Deze reactie wordt gezien bij IMHA en ook de anemische toestand op zich, die

matige tot ernstige hypoxie van verschillende organen veroorzaakt, kan een leukocytose induceren (Harvey, 2012; Nelson, 2014).

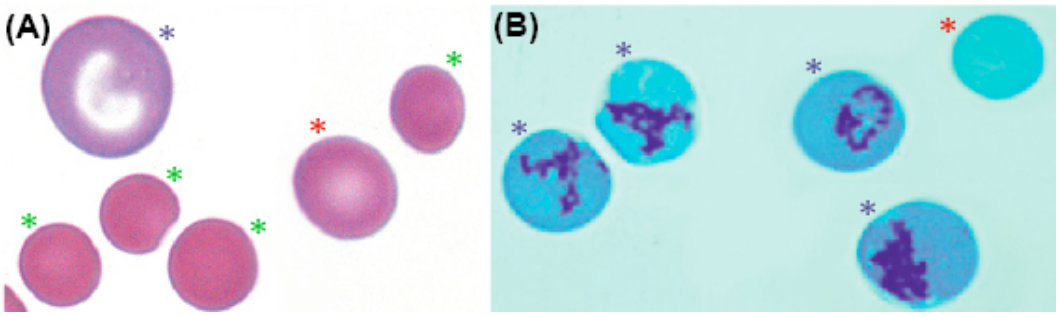
3.1.2. Biochemie

Intravasculaire hemolyse leidt tot een verhoogd gehalte aan vrij hemoglobine in de bloedbaan. Dit hemoglobine wordt samen met het hemoglobine van de extravasculaire hemolyse gemetaboliseerd tot bilirubine en zoveel mogelijk uitgescheiden. Bij massale hemolyse of verminderde leverfunctie kan er hyperbilirubinemie optreden (Ettinger, 2010; Nelson, 2014). Zowel bilirubine als hemoglobine kunnen uitgescheiden worden via de urine en een kleurverandering veroorzaken (Harvey et al., 2012; Garner et al., 2014).

Op basis van het totale eiwit in het bloed kan geprobeerd worden om het onderscheid te maken tussen hemolyse en bloeding. Bij anemie ten gevolge van hemolyse is het totaal eiwit normaal tot gestegen, terwijl bij een anemie ten gevolge van bloeding eerder een hypoproteïnemie aanwezig zal zijn. In de praktijk is dit verschil echter niet steeds voldoende om een onderscheid te kunnen maken (Garner et al., 2014; Nelson, 2014).

3.1.3. Bloeduitstrijkje

Op het bloeduitstrijkje wordt de regeneratieve anemie bevestigd. Dit wordt gekenmerkt door de aanwezigheid gekernde rode bloedcellen of rubricyten, Howell-Jolly-lichaampjes en polychromatofiele cellen (Harvey, 2012). De laatste zijn onvoldoende gematureerde rode bloedcellen en zijn groter dan mature rode bloedcellen. Ze hebben een vlekkerige paarse kleur door de combinatie van rood aankleurend hemoglobine en blauw aankleurend ribosomaal materiaal. Men spreekt aldus van anisocytose en polychromasie op het bloeduitstrijkje (Fig. 1A) (Horgan et al., 2009; Harvey, 2012). Wanneer het bloeduitstrijkje gekleurd wordt met Nieuwmethyleenblauw, worden deze cellen gekenmerkt door een blauwpaarse granulatie en noemt men ze reticulocyten (Fig. 1B) (Thrall, 2012).



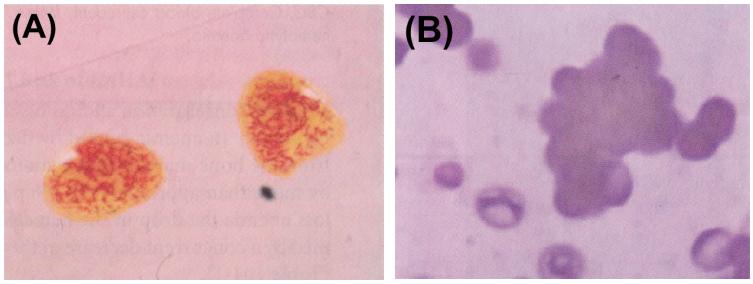
Figuur 1. (A) Een bloeduistrijkje volgens Wright-Giemsakleuring toont een grote polychromatofiel met paarse kleur (paarse asterisk), kleine sferocyten zonder centrale opklaring (groene asterisk) en een normale rode bloedcel (rode asterisk) (Naar: Harvey, 2012); (**B)** Een bloeduitstrijkje volgens Nieuwmethyleenblauwkleuring toont de donkere granulatie van de reticulocyten (paarse asterisk) en een normale rode bloedcel (rode asterisk) (Naar: Thrall, 2012).

Immuungemedieerde hemolytische anemie wordt zeer typisch gekenmerkt door een sferocytose, maar dit is geen pathognomonische bevinding (Fig. 1) (Weinkle et al., 2005; Horgan et al., 2009; Nelson, 2014). Sferocyten zijn rode bloedcellen die door de coating met antilichamen partieel door de macrofagen worden opgeruimd. Bij passage door de milt worden ze aanzien als beschadigde rode bloedcellen en worden ze verwijderd (Nelson, 2014). Sferocyten hebben de integriteit van hun membraan verloren, waardoor ze kleiner en ronder zijn dan normaal en er geen centrale opklaring meer zichtbaar is. Ze zijn minder flexibel en vertonen een verhoogde fragiliteit (Harvey, 2012; Nelson, 2014).

Wanneer de automatische bepaling van het aantal bloedplaatjes een thrombocytopenie weergeeft, is het van essentieel belang om na te gaan of er op het uitstrijkje geen plaatjesaggregatie is. Wanneer er veel plaatjesaggregaten te zien zijn, is de thrombocytopenie op de automatische telling te wijten aan een laboratoriumfout en spreekt men van pseudothrombocytopenie (Harvey, 2012).

3.1.4. Auto-agglutinatietest in fysiologische zoutoplossing

Wanneer er veel antistoffen aanwezig zijn op de rode bloedcellen, kan er in vitro auto-agglutinatie optreden. Dit kan reeds zichtbaar zijn in het bloed zelf (macroscopisch) of wordt duidelijk wanneer er een uitstrijkje gemaakt wordt (microscopisch) (Fig. 2) (Nelson, 2014).



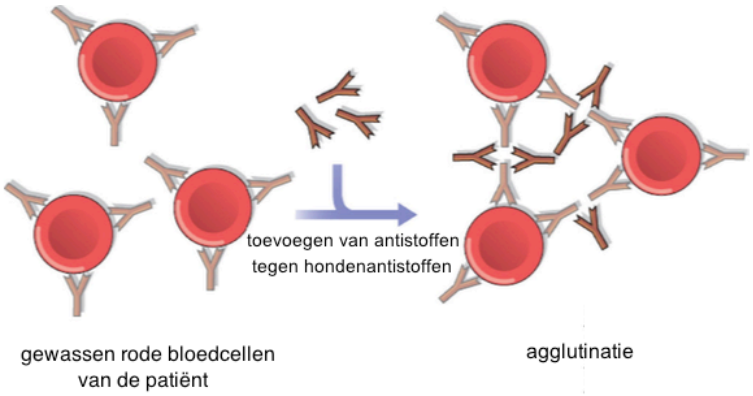
Figuur 2. Auto-agglutinatie **(A)** macroscopisch zichtbaar in een druppel bloed en **(B)** microscopisch zichtbaar op een gekleurd bloeduitstrijkje (Naar: Nelson, 2014).

Auto-agglutinatie dient onderscheiden te worden van rouleaux-vorming. Dit laatste kan fysiologisch zijn bij bepaalde diersoorten, maar is bij de hond steeds indicatief voor een onderliggende pathologie. Rouleaux-vorming kan optreden wanneer de rode bloedcellen een flexibelere membraan hebben dan normaal of wanneer er een groot aantal immunoglobulinen of fibrinogenen aanwezig zijn in het plasma, zoals bij inflammatoire reacties (Harvey, 2012). De verbindingskrachten tussen de rode bloedcellen die werkzaam zijn bij de rouleaux-vorming zijn echter zwak. Het toevoegen van enkele druppels NaCl-oplossing kan deze verbindingen reeds verbreken (Wagner et al., 2013). Hierdoor kan dus het onderscheid gemaakt worden tussen rouleaux-vorming en ware auto-agglutinatie, aangezien deze laatste niet zal verdwijnen (Harvey, 2012).

3.1.5. Coombs' test

De Coombs' test of directe antiglobuline test (DAT) is een test die gebruikt wordt om antistoffen en/of complement die gebonden zijn op het oppervlak van rode bloedcellen aan te (Caviezel et al., 2014). De rode bloedcellen worden gewassen en antistoffen tegen hondenantistoffen worden toegevoegd. Deze zijn specifiek gericht tegen IgG, IgM en complement. Ze kunnen afzonderlijk worden toegediend

of er kan een combinatie van deze drie gebruikt worden. Wanneer er antistoffen aanwezig zijn op de membraan van de rode bloedcellen, kunnen de toegevoegde antistoffen zich hieraan binden en ontstaat er een agglutinatiereactie (Fig. 3). De Coombs' test kan dan als positief beschouwd worden (Wardrop, 2012).

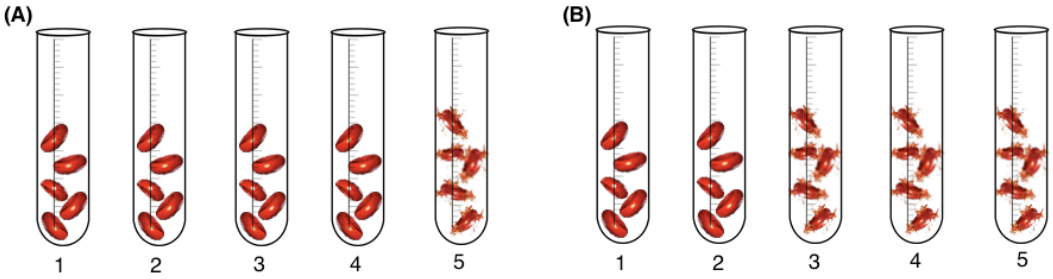


Figuur 3. Werkingsmechanisme van de Coombs' test. De toegevoegde immunoglobulines binden aan de immunoglobulines die zich ter hoogte van de membraan van de rode bloedcellen bevinden. Door deze binding komt er een agglutinatie van de rode bloedcellen tot stand (Naar: Wardrop, 2012).

De Coombs' test heeft een lage specificiteit en een lage sensitiviteit, maar kan wel dienen als diagnostisch hulpmiddel in combinatie met andere technieken (Caviezel et al., 2014). Zoals steeds dient een positieve test bekeken te worden in het kader van de aanwezige klinische symptomen en sluit een negatieve test de diagnose niet uit (Harvey, 2012; Wardrop, 2012).

3.1.6. Osmotische fragiliteitstest (OFT)

De klassieke osmotische fragiliteitstest (classic osmotic fragility test of COFT) is tijdsrovend en vereist zeer gespecialiseerd materiaal. De snelle osmotische fragiliteitstest (rapid osmotic fragility test of ROFT) werd ontwikkeld om een snellere en meer gebruiksvriendelijke diagnose te kunnen stellen (Paes et al., 2013). Beide testen zijn gebaseerd op een verhoogde broosheid van de rodebloedcelmembraan. De afwijkende rode bloedcellen of sferocyten die bij IMHA gevormd worden, kunnen minder water opnemen. Hierdoor lyseren ze bij minder hypotone oplossingen dan normale rode bloedcellen (Fig. 4). De mate van hemolyse kan nadien spectrofotometrisch bepaald worden (Boogaerts, 2015).



Figuur 4. Vereenvoudigde voorstelling van **(A)** normale rode bloedcellen en **(B)** sferocyten bij een osmotische fragiliteitstest. De sferocyten lyseren reeds bij weinig hypotone oplossingen (positieve test), terwijl de normale rode bloedcellen pas bij sterk hypotone oplossingen lyseren (negatieve test). 1-5: Oplossingen van zwak naar sterk hypotoon. Bij de COFT worden 15 oplossingen gebruikt, bij de ROFT slechts 2 (Naar: Paes et al., 2013).

De snelle osmotische fragiliteitstest heeft een hoge sensitiviteit, maar het is ook hier zeer belangrijk om de test steeds te evalueren samen met de aanwezige klinische symptomen en de andere testresultaten (Paes et al., 2013).

3.2. DIAGNOSE VAN EEN ONDERLIGGENDE OORZAAK

3.2.1. Anamnese en lichamelijk onderzoek

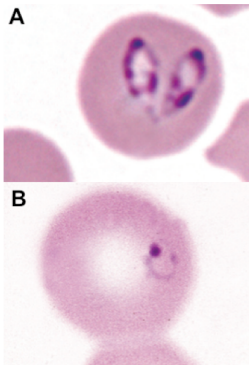
Om bepaalde onderliggende oorzaken te kunnen uitsluiten, is het van belang om te weten of de hond ooit in het buitenland geweest is. Bepaalde infectieziekten zoals babesiose, dirofilariose en leishmaniose komen namelijk niet intrinsiek voor in onze streken (Traversa et al., 2010; Best et al., 2014; Sykes, 2014). De aanwezigheid van teken in het verleden kan een belangrijke factor zijn om aan anaplasmose en Lyme borreliose te denken (Sykes, 2014). Zoals reeds vermeld werd, kunnen bepaalde stoffen toxisch zijn voor de hond en hemolyse veroorzaken (Harvey, 2012; Nelson, 2014). Het is dus belangrijk om na te gaan welke medicatie recent toegediend werd en of er opname van look, bieslook, ui of zink mogelijk was. Ook de datum van de laatste vaccinatie is van belang (Harvey, 2012; Thrall, 2012). De aanwezigheid van verdere klachten, zoals eventuele ademhalingsstoornissen, huidletsels en opgezette lymfeknopen, kunnen eveneens indicatief zijn voor een onderliggende oorzaak (Traversa et al., 2010; Noli en Saridomichelakis, 2014).

3.2.2. Bloeduitstrijkje

Naast de detectie van sferocyten, het oordelen over de mate van regeneratie en het verifiëren van een mogelijke thrombocytopenie, is het bloedstrijkje eveneens essentieel om infectieuze organismen op te sporen (Nelson, 2014). De belangrijkste organismen worden hieronder kort besproken.

Babesia-species

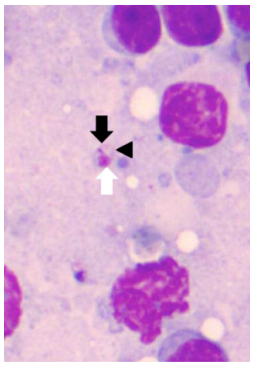
Caniene babesiose is een wereldwijd verspreide tropische ziekte en wordt overgedragen door teken (Sykes, 2014). De sporozoïeten penetreren tot in de rode bloedcellen en kunnen op zich reeds massale cellyse veroorzaken. De infectie wordt klinisch gekenmerkt door icterus en anemie en gaat vaak gepaard met koorts (Ballweber, 2001). *Babesia canis* is tamelijk groot, heeft een peervormig uitzicht en komt meestal in paren voor (Fig. 5A). *Babesia gibsoni* komt minder frequent voor en is kleiner en ronder van uitzicht (Fig. 5B) (Harvey, 2012; Paulauskas et al., 2014). De parasiet kan ook worden aangetoond met behulp van PCR of serologie (indirect fluorescent antibody test of IFAT) (Kubelová et al., 2013; Paulauskas et al., 2014).



Figuur 5. Rode bloedcellen van een hond geïnfecteerd met **(A)** *Babesia canis* en **(B)** *Babesia gibsoni* (Naar: Harvey, 2012).

Leishmania infantum

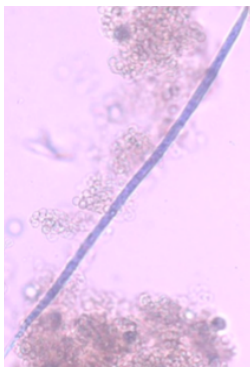
Caniene leishmaniose is een zoönotische importziekte die wordt overgedragen door zandvliegjes (Best et al., 2014). De parasiet infecteert macrofagen en kan een zeer variabel symptomenbeeld veroorzaken, waarbij huidletsels en perifere lymfadenopathie het meest voorkomen. De parasiet kan geïdentificeerd worden op cytologie door de typische vorm van de nucleus en de kinetoplast (Fig. 6) (Noli en Saridomichelakis, 2014). De diagnose wordt echter vaker gesteld door middel van PCR of serologie (Best et al., 2014).



Figuur 6. Cytologie van een lymfeknoopaspiraat. De protozoale organismen (pijlpunt) zijn ongeveer 2 µm groot en hebben een ronde kern (witte pijl) en een kinetoplast (zwarte pijl). Dezelfde organismen kunnen worden opgemerkt op een bloeduitstrijkje (Naar: Noli en Saridomichelakis, 2014).

Dirofilaria immitis

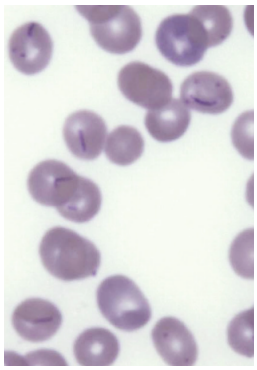
Dirofilaria immitis is een parasiet die vooral in Zuid-Europa voorkomt en zich ter hoogte van het rechterhart en de pulmonaire arteriën bevindt. De nematode wordt overgedragen door muggen en de microfilaria komen zo rechtstreeks in de bloedbaan terecht. Klinisch wordt de infectie vooral gekenmerkt door ademhalingsstoornissen (Traversa et al., 2010). De diagnose kan gesteld worden door het identificeren van de microfilaria op een uitstrijkje (Fig. 7) of het aantonen van antigenen van adulte hartwormen in het bloed (Ballweber, 2001).



Figuur 7. De rechte microfilaria van *Dirofilaria immitis* kunnen onder andere zichtbaar gemaakt worden in het bloed met behulp van de Knott-methode (Traversa et al., 2010).

Mycoplasma haemocanis

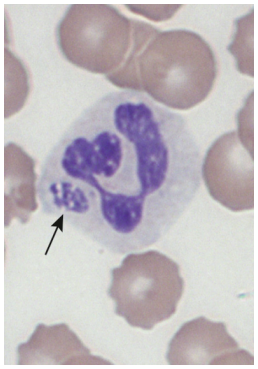
Mycoplasma haemocanis is een bacterie die voorkomt ter hoogte van de membraan van de rode bloedcellen (Harvey, 2012). De wijze van besmetting is voorlopig nog onduidelijk, al wordt overdraagbaarheid door teken of andere arthropode vectoren vermoed (Sykes, 2014). Honden kunnen asymptomatische dragers zijn, maar acute hemolytische anemie kan voorkomen bij immunosuppressie (Harvey, 2012; Pitorri et al., 2012). De organismen kunnen worden aangetroffen op een bloeduitstrijkje (Fig. 8) of aangetoond worden met behulp van PCR (Pitorri et al., 2012).



Figuur 8. Romanowsky-kleuring van rode bloedcellen van een hond met aanwezigheid van *Mycoplasma haemocanis* ter hoogte van het celoppervlak (Uit: Sykes, 2014).

Anaplasma phagocytophilum

Caniene granulocytaire anaplasmose is een frequent voorkomende aandoening (Barth et al., 2014). De rickettsia-bacteriën zijn obligaat intracellulair en infecteren voornamelijk neutrofielen. De infectie wordt overgedragen door teken en veroorzaakt aspecifieke symptomen. Een positief bloeduitstrijkje wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van morulae ter hoogte van de granulocyten. Deze zijn echter moeilijk te identificeren en zijn alleen zichtbaar in de eerste twee weken na infectie (Fig. 9) (Mazepa et al., 2010). De diagnose wordt meer frequent gesteld met behulp van PCR of verschillende serologische testen (Barth et al., 2014).



Figuur 9. Vermoedelijke infectie van een neutrofiel met *Anaplasma phagocytophilum*, herkenbaar door aanwezigheid van een morula (zwarte pijl) (Uit: Sykes et al., 2014).

Tenslotte is het belangrijk om te vermelden dat bloedparasieten niet mogen verward worden met andere celinclusies, zoals Howell-Jolly- en Heinz-lichaampjes. Howell-Jolly-lichaampjes zijn restanten van het kernmateriaal van de rode bloedcel. Ze kunnen, zoals eerder vermeld, wijzen op regeneratieve anemie, maar kunnen evengoed fysiologisch voorkomen in lage aantallen of geïnduceerd worden door glucocorticoïden. Heinz-lichaampjes vertegenwoordigen geoxideerd hemoglobine dat is neergeslagen tegen de membraanwand. In tegenstelling tot bij de kat, komen ze bij de hond nooit fysiologisch voor. Ze kunnen gezien worden na intravasculaire hemolyse in de overgebleven skeletten van de rode bloedcellen (Harvey, 2012).

3.2.3. Biochemie

Biochemisch bloedonderzoek kan helpen bij het identificeren van een onderliggende oorzaak en eventuele complicaties. Er wordt onder andere gelet op mogelijke lever- of nieraantasting (Nelson, 2014).

3.2.4. Radiografie van de thorax en echografie van het abdomen

Met behulp van medische beeldvorming, probeert men een zo volledig mogelijke opwerking te garanderen. Er wordt specifiek gezocht naar inflammatoire of neoplastische letsels die de hemolytische anemie zouden kunnen verklaren (Horgan et al., 2009).

3.2.5. Serologie

Serologisch onderzoek wordt uitgevoerd om recente infecties op te sporen. Hierbij is niet alleen de huidige antistoffentiter van belang, maar dient de test later herhaald te worden om seroconversie aan te tonen (Sykes, 2014). De belangrijkste micro-organismen waarvoor in België getest moet worden, zijn *Anaplasma phagocytophilum*, *Leptospira interrogans* en *Borrelia burgdorferi* (Horgan et al., 2009; Barth et al., 2014; Sykes, 2014). Wanneer er sprake is van een bezoek aan het buitenland in de

anamnese, verdienen ook *Leishmania infantum* en *Babesia* spp. bijzondere aandacht (Kubelová et al., 2013; Best et al., 2014).

4. BEHANDELING

4.1. BLOEDTRANSFUSIE

Aangezien de anemie bij honden met IMHA zeer laag kan zijn en tot decompensatie kan leiden, is vaak een levensreddende bloedtransfusie nodig (Tab. 2). De bloedtransfusie wordt bij voorkeur opgestart wanneer de hond zich in een stadium van decompensatie bevindt. In de literatuur wordt daarnaast aangehaald dat een bloedtransfusie standaard kan worden toegediend wanneer de hematocriet lager is dan 12-15 % (Horgan et al., 2009; Helmond et al., 2010). Decompensatie ontstaat wanneer het lichaam het gebrek aan zuurstof niet meer kan compenseren door de hart- en ademhalingsfrequentie op te drijven. De hond verkeert dan in een gevaarlijke staat van ernstig zuurstoftekort (Horgan et al., 2009; Ettinger, 2010).

Packed RBC	10 – 15 ml/kg
Oxyglobine	10 – 20 ml/kg
Volledig bloed	15 – 20 ml/kg

Tabel 2. Verschillende opties en bijhorende dosissen voor het opstarten van een bloedtransfusie (Naar: Horgan et al., 2009).

Bloedtransfusies vormen uiteraard slechts een symptomatische behandeling. Zonder verdere therapie wordt het bloed van de transfusie opnieuw afgebroken door de aanwezige antistoffen en zal het effect slechts van korte duur zijn. De hematocriet en de klinische parameters dienen dus ook nadien strikt opgevolgd te worden (Helmond et al., 2010).

4.2. IMMUNOSUPPRESSIVA

Bij de behandeling van primaire IMHA wordt in de eerste plaats getracht om de productie van antistoffen tegen te gaan. Er is steeds enige voorzichtigheid geboden, aangezien er bij alle immunosuppressiva milde tot ernstige gastro-intestinale klachten en myelosuppressie kunnen voorkomen (Viviano, 2013). Prednisolone aan immunosuppressieve dosis en azathioprine worden het vaakst gebruikt, al dan niet in combinatie (Orcutt et al., 2010; Viviano, 2013). Als alternatief kan ook cyclosporine samen met prednisolone worden opgestart (Tab. 3) (Reimer et al., 1999; Helmond et al., 2010). De behandeling van IMHA met azathioprine zou de hoogste succesratio kennen, maar verder onderzoek is wenselijk vooraleer er conclusies kunnen worden getrokken (Weinkle et al., 2005; Orcutt et al., 2010; Piek et al., 2011).

Prednisolone	tot stabiel hematocriet: 1,5 mg/kg bid of 40 mg/m^2 bij lichaamsgewicht hoger dan 35 kg	daarna: elke vier weken 20-25 % afbouwen
Azathioprine	gedurende 14 dagen: 2 mg/kg sid	daarna: 2 mg/kg elke twee dagen
Cyclosporine	5 mg/kg bid	-

Tabel 3. Overzicht van de meest gebruikte immunosuppressieve medicatie voor de behandeling van primaire immuungemedieerde hemolytische anemie (Naar: Helmond et al., 2010; Orcutt et al., 2010; Viviano, 2013).

Naast de klassieke immunosuppressiva zijn ook eerder experimentele behandelingen mogelijk, zoals het gebruik van humane immunoglobulines, mycofenolaat mofetil, leflunomide en melatonine (Giannoulia-Karantana et al., 2006; Viviano, 2013; West en Hart, 2014). Dit laatste heeft een immunomodulerende en anti-inflammatoire werking en wordt in de humane geneeskunde reeds gebruikt bij de behandeling van kanker. Melatonine zal mogelijk in de toekomst eveneens bij andere aandoeningen aangewend kunnen worden (Giannoulia-Karantana et al., 2006).

4.3. ANTICOAGULANTIA

De meest voorkomende complicatie van IMHA is de vorming van thrombi, zowel veneus als arterieel. Pulmonaire thrombo-embolieën worden het vaakst gerapporteerd en hebben een zeer negatieve impact op de prognose. Het exacte onderliggend mechanisme van de hypercoagulabiliteit geassocieerd met IMHA is niet bekend. Men vermoedt dat er een verhoogde expressie van weefselfactor aan de basis ligt. Dit kan onder andere veroorzaakt worden door inflammatoire cytokines, geactiveerde monocyten of de aanwezigheid van vrij hemoglobine in de bloedbaan (Miller et al., 2012; Kidd en Mackman, 2013).

Aangezien veneuze thrombi veel fibrine bevatten en arteriële thrombi vooral rijk zijn aan plaatjes, moet er zowel rekening gehouden worden met de primaire als de secundaire hemostase (Kidd en Mackmann, 2013). Heparine werkt in op de stollingsfactoren, maar heeft slechts een mild en indirect effect op de plaatjesaggregatie. Daarom is het interessant om simultaan acetylsalicylzuur of clopidogrel op te starten (Tab. 4). Deze geneesmiddelen inhiberen de plaatjesaggregatie door interferentie met respectievelijk thromboxane A_2 (plaatjesagonist) en plaatjesreceptor ADP (plaatjesactivatie) (Weinkle et al., 2005; Helmond et al., 2010; Smith, 2012; Kidd en Mackman, 2013). Hierbij dient vermeld te worden dat het gebruik van dergelijke lage dosis acetylsalicylzuur in combinatie met corticosteroïden geen vergroot risico op gastro-intestinale ulceraties lijkt te vormen (Kidd en Mackman, 2013).

Heparine (LMWH)	150 – 566 U/kg vier keer per dag
Acetylsalicylzuur (LDA)	1-2 mg/kg per dag
Clopidogrel	2-4 mg/kg per dag

Tabel 4. Overzicht van de meest courante thromboprofylactische medicatie. LMWH = low molecular weight heparin; LDA = low dose aspirin (Naar: Helmond et al., 2010; Kidd en Mackman, 2013; Smith, 2012).

4.4. SPLENECTOMIE

Een splenectomie kan een deel van de behandeling van IMHA uitmaken, aangezien een groot deel van de immuunrespons uitgaat van de milt. Door de milt weg te nemen, worden er minder antistoffen geproduceerd en minder rode bloedcellen vernietigd (Nelson, 2014). De algemene immuniteit wordt echter automatisch ook gecompromitteerd waardoor het dier levenslang een verhoogde gevoeligheid voor infecties zal vertonen. Daarnaast komen cardiovasculaire complicaties vaak voor en ook de hematopoëse komt in het gedrang, aangezien de milt hier ook gedeeltelijk voor verantwoordelijk is (Nelson, 2014; Weledji, 2014).

Bij de behandeling van IMHA in de humane geneeskunde wordt een splenectomie vaak uitgevoerd en boekt men zeer goede resultaten. In de diergeneeskunde wordt er vooral beroep op gedaan in refractaire gevallen en gevallen waarbij immunosuppressieve therapie onvoldoende effect heeft. Ook hier lijken de resultaten zeer positief, maar onderzoek op grotere schaal is nodig (Horgan et al., 2009; Nelson, 2014).

4.5. GASTRO-INTESTINALE MEDICATIE

Om het maagdarmstelsel te beschermen tegen de schadelijke invloed van de immunosuppressieve medicatie worden best maagbeschermers toegediend. Famotidine, omeprazole en sucralfaat worden hiervoor vaak gebruikt (Orcutt et al., 2010).

4.6. BEHANDELING VAN EEN ONDERLIGGENDE OORZAAK

Aangezien er niet altijd kan gewacht worden op de testresultaten en aangezien de resultaten sowieso zelden 100 % sluitend zijn, wordt vaak standaard een antibioticumtherapie opgestart. Tetracyclines en penicilines wordt vaak gebruikt met het oog op anaplasmose, leptospirose, borreliose en mycoplasmose (Mazepa et al., 2010; Pitorri et al., 2012; Sykes, 2014).

Voor andere aandoeningen kan echter niet zomaar behandeld worden zonder voorafgaande diagnose. De behandeling van dirofilariose vereist een speciaal behandelingsschema met melarsomine dihydrochloride (Traversa et al., 2010). Babesiose wordt meestal met imidocarb diproprionaat behandeld (Brandão et al., 2003). De behandeling van leishmaniose gebeurt ideaal gezien met meglumine antimonaat en allopurinol (Noli en Saridomichelakis, 2014). Wanneer neoplasie aan de basis van het ziektebeeld ligt, kan er afhankelijk van het type tumor gekozen worden voor onder andere chirurgie, chemotherapie of palliatieve zorgen (Withrow, 2007).

5. PROGNOSE

De prognose van IMHA is gereserveerd. Algemeen gezien loopt, afhankelijk van de ernst van de situatie, 20 tot 80 procent van de gevallen fataal af (Horgan et al., 2009; Orcutt, 2010; Miller et al., 2012; Kid en Mackman, 2013). Het overlijden kan vaak geassocieerd worden met de vorming van thrombo-embolieën (Miller et al., 2012; Kidd en Mackman, 2013).

De prognose is slechter bij zeer ernstige anemie, niet-regeneratieve anemie, simultane thrombocytopenie en oudere dieren. Ook de aanwezigheid van auto-agglutinatie, hyperbilirubinemie en hypoalbuminemie zijn negatief prognostische factoren (Reimer et al., 1999; Weinkle et al., 2005).

CASUSBESPREKING

1. SIGNALEMENT & ANAMNESE

De hond die in deze casus besproken wordt, is een vrouwelijke, gesteriliseerde Shih-Tzu van twee jaar oud. De klachten waarmee ze bij de dierenarts werd aangeboden, waren braken, diarree, verkleurde urine en erge apathie. Er werd tolfenamzuur (Tolfedine®, 1,5-3 mg/kg, twee keer per dag gedurende 3 dagen) en maropitant (Cerenia®, 2 mg/kg, één keer per dag gedurende 5 dagen) toegediend. De volgende dag was ze nog steeds apathisch, maar cardiovasculair bleef ze stabiel. Op het bloedonderzoek was een ernstige anemie te zien (Bijlage I). De dierenarts startte een infusietherapie op, maar de volgende ochtend deed de hond het plots veel minder goed en werd ze doorverwezen naar de faculteit.

De hond was afkomstig uit Nederland, maar er was geen verdere buitenlandanamnese. Er was geen geschiedenis van teken en opname van toxische stoffen leek zeer onwaarschijnlijk. Er waren nooit eerder klachten van braken of diarree en er was geen andere medische voorgeschiedenis. Vaccinatie- en ontwormingsstatus waren echter niet in orde.

2. LICHAMELIJK ONDERZOEK

De hond maakte een zeer kalme indruk, maar was alert. De mucosae waren zeer bleek en icterisch. De capillaire vullingstijd was hierdoor niet te beoordelen. De hond was tachycard (160 bpm) en vertoonde tachypnee (48 pm). Op auscultatie van de longen waren er geen afwijkingen hoorbaar, maar er was een luid, systolisch bijgeruis aanwezig (3/6) bij auscultatie van het hart aan de linkerzijde. De pols was zeer krachtig geslagen. Verder waren er geen opgezette lymfeknopen of koorts (38,6°C) en waren er geen petechiën of ecchymosen aanwezig. Het lichaamsgewicht bedroeg 5,9 kg.

3. PROBLEEMLIJST

- Bleke mucosae (ten gevolge van anemie)
- Icterus
- Tachycardie
- Tachypnee
- Krachtige pols
- Lethargie
- Systolisch bijgeruis links
- Pigmenturie
- Braken
- Diarree

4. DIFFERENTIAALDIAGNOSE

Lethargie is een vaag symptoom en kan geassocieerd worden met tal van onderliggende ziektes. De krachtige pols kan verklaard worden door de ernstige anemie. De andere problemen worden hieronder meer uitgebreid besproken.

4.1. BLEKE MUCOSAE (TEN GEVOLGE VAN ANEMIE)

Door middel van het hematologisch onderzoek kan gecontroleerd worden of er al dan niet anemie aanwezig is. Ernstige anemie kan leiden tot decompensatie en hypoxemische shock (Silverstein, 2006). Dit sluit aan bij de tachycardie, de tachypnee, de lethargie, de krachtige pols en het systolisch bijgeruis die eveneens worden opgemerkt op het lichamelijk onderzoek.

Aangezien de hond in lethargische toestand met tachypnee en tachycardie wordt binnengebracht, kunnen andere oorzaken van shock op zich niet uitgesloten worden. Bij de hond is er dan meestal wel een zwak geslagen pols aanwezig (Silverstein, 2006; Nelson, 2014). Cardiogene shock gaat uit van een hartprobleem en kan geassocieerd worden met het systolisch bijgeruis aanwezig in deze casus. Hypovolemische shock kan veroorzaakt worden door een ernstige bloeding en de aanwezige anemie zou hierbij kunnen aansluiten. Ook distributieve shock zoals bij anafylactische reacties of bij sepsis en obstructieve shock zoals bij thrombo-embolieën kunnen niet meteen uitgesloten worden (Silverstein, 2006).

Meestal kan het onderscheid tussen shock en anemie gemaakt worden door de capillaire vullingstijd (CVT) te controleren (Nelson, 2014). Bij shock zal de perifere hypoperfusie er meestal toe leiden dat de vullingstijd verlengd zal zijn. Hypoxemische shock vormt hierbij evenwel een uitzondering, aangezien de perifere perfusie meestal niet is aangetast en de vullingstijd bijgevolg normaal zal zijn (Nelson, 2014; Silverstein, 2006). In deze casus waren de mucosae echter dermate bleek dat de CVT niet bepaald kon worden.

4.2. ICTERUS

Icterus kan volgens drie verschillende ontstaansmechanismen worden opgedeeld: prehepatische, hepatische en posthepatische icterus. Prehepatische icterus ontstaat door massale hemolyse, hepatische icterus gaat uit van een probleem in de lever zelf en posthepatische icterus wordt typisch gezien bij obstructie van de galwegen. Dit laatste kan veroorzaakt worden door cholangitis, pancreatitis, galstenen of ruimte-innemende processen in de omgeving (Ettinger, 2010).

Prehepatische icterus wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van anemie en is in deze casus de meest waarschijnlijke oorzaak van de icterus. Het controleren van leverenzymes (ALT en AST) en leverfunctietesten (bilirubine en ammoniak) kan uitwijzen of er een leverprobleem aan de basis van de icterus ligt. Posthepatische icterus wordt daarnaast vaak gekenmerkt door een stijging van het alkalisch fosfatase (AP). Om de werking van de lever en de galgangen beter te kunnen inschatten, is een abdominale echografie aangewezen (Ettinger, 2010; Thrall, 2012).

4.3. TACHYCARDIE/TACHYPNEE

Zoals reeds vermeld worden tachycardie en tachypnee vaak geassocieerd met shock en anemie (Nelson, 2014). Beide symptomen kunnen echter ook geïnduceerd worden door stress, pijn,

inspanning, koorts, hyperthyroïdie en aandoeningen van het cardiorespiratoir stelsel zelf (Tilley, 2008; Ettinger, 2010).

4.4. SYSTOLISCH BIJGERUIS

Een systolisch bijgeruis kan veroorzaakt worden door verschillende hartklepproblemen, cardiomyopathieën en septumdefecten. Er zijn echter ook verschillende niet-cardiale oorzaken die dergelijk bijgeruis kunnen veroorzaken. De belangijkste differentiaaldiagnose in deze casus was de aanwezigheid van anemie. Het fysiologisch bijgeruis dat ontstaat bij anemie wordt veroorzaakt door een afname van de viscositeit van het bloed en een toename van de cardiac output onder invloed van hypoxie (Tilley, 2008).

4.5. PIGMENTURIE

Een rode tot bruine kleurverandering van de urine kan te wijten zijn aan de aanwezigheid van bloed, hemoglobine of myoglobine in de urine. Ook bilirubine kan een dergelijke kleurverandering veroorzaken en is vaak reeds aanwezig voordat er hyperbilirubinemie of icterus kan worden opgemerkt (Nelson, 2014). Door middel van centrifugatie kan het onderscheid gemaakt worden tussen hematurie enerzijds en myoglubinurie, hemoglobinurie en bilirubinemie anderzijds. Na centrifugatie zal de urine een gele tot roze kleur verkrijgen bij hematurie, terwijl de roodbruine kleur behouden blijft bij hemoglobinurie, myoglobinurie en bilirubinurie (Thrall, 2012). Een microscopische sedimentanalyse kan eveneens helpen de verschillende oorzaken van de kleurverandering van elkaar te onderscheiden (Nelson, 2014). In deze casus was de rode kleur van de urine waarschijnlijk secundair aan hemolyse en verwachtte men dus een hemoglobinurie of een bilirubinurie.

4.6. BRAKEN

Braken kan onderverdeeld worden in acuut en chronisch braken en moet onderscheiden worden van regurgitatie en hematemesis (Nelson, 2014). Men spreekt van chronisch braken wanneer de symptomen langer dan 3 weken aanhouden (Elwood et al., 2010). De meest voor de hand liggende oorzaken zijn gastro-intestinale obstructies, inflammaties en infecties, maar ook aandoeningen van andere orgaansystemen kunnen aan de basis liggen. Enkele voorbeelden zijn nierinsufficiëntie, leverinsufficiëntie, pancreatitis, pyometra en diabetes ketoacidose. In theorie kan elk geneesmiddel dat peroraal wordt toegediend eveneens braken induceren, maar van bepaalde geneesmiddelen is specifiek bekend dat ze emetogene bijwerkingen hebben. Dit is vooral het geval bij bepaalde antibiotica, chemotherapeutica, immunosuppressiva en NSAID's (Nelson, 2014; Elwood et al., 2010).

4.7. DIARREE

Diarree kan enerzijds opgedeeld worden in dunne darm of dikke darm diarree en anderzijds in acute of chronische diarree. Er waren echter geen gegevens bekend in verband met de duur van de symptomen, het uitzicht, de frequentie en een eventuele aanwezige tenesmus in deze casus. Algemeen gezien moet er bij diarree gedacht worden aan dieetproblemen, intoxicaties en gastro-

intestinale infecties en obstructies. Ook aandoeningen van andere orgaansystemen, zoals de pancreas en de bijnieren, kunnen aanleiding geven tot het ontstaan van diarree (Nelson, 2014).

5. PLAN

Wanneer de hond wordt aangeboden in hypoxemische shock, is het essentieel om deze eerst te stabiliseren. Het aanwezige zuurstoftekort dient onmiddellijk geminimaliseerd te worden door zuurstofsupplementatie en er wordt liefst zo snel mogelijk een bloedtransfusie opgestart (Silverstein, 2006; Horgan et al., 2009; Nelson, 2014).

Op het bloedonderzoek kan de anemie die bij de eigen dierenarts gevonden werd verder onderzocht worden. Met behulp van een reticulocytentelling en een bloeduitstrijkje kan worden bepaald of men te maken heeft met een regeneratieve of niet-regeneratieve anemie (Harvey, 2012). Ook het opmerken van een eventuele sferocytose kan van diagnostisch belang zijn. Wanneer er inderdaad een regeneratieve anemie en/of een sferoctyose aanwezig is, wordt een auto-agglutinatietest, een Coombs' test en/of een osmotische fragiliteitstest uitgevoerd om een immuungemedieerde hemolytische anemie aan te tonen of uit te sluiten (Wagner et al., 2013; Caviezel et al., 2014; Paes et al., 2014). Het biochemisch bloedonderzoek kan daarnaast uitwijzen of de icterus werd veroorzaakt door een proces van hemolyse of dat er eventueel een aandoening van de lever of van de galgangen meespeelt (Ettinger, 2010; Thrall, 2012).

Eens IMHA vermoed wordt en de hond stabieler is, moet achterhaald worden of deze primair of secundair van aard is. Men kan slechts van primaire IMHA spreken wanneer onderliggende oorzaken zoveel mogelijk worden uitgesloten. Secundaire IMHA kan worden bevestigd wanneer er andere aandoeningen kunnen worden vastgesteld op echografie van het abdomen, radiografie van de thorax, positief serologisch onderzoek of de aanwezigheid van bloedparasieten op een bloeduitstrijkje (Horgan et al., 2009; Nelson, 2014; Harvey, 2012; Sykes, 2014).

6. RESULTATEN

6.1. AANTONEN VAN EEN IMMUUNGEMEDIEERDE HEMOLYTISCHE ANEMIE

6.1.1. Hematologie

Op het hematologisch onderzoek was een matig regeneratieve anemie (101 000 reticulocyten per µl en 9,3 % reticulocyten; referentiewaarden (ref.) 120 000 reticulocyten per µl en 4 % reticulocyten) aanwezig. De hematocriet werd eveneens manueel bepaald. Het packed cell volume van slechts 8 % (ref. 37,3 – 61,7 %) wijst op een zeer ernstige anemie (Nelson, 2014). Er was een matige thrombocytopenie (96 000 per µl; ref. 148 000 – 484 000 per µl) aanwezig en er kon eveneens een matige leukocytose (35,82 x 10^9 per liter; ref. 5,05 – 16,76 x 10^9 per liter) opgemerkt worden (Bijlage I en II).

6.1.2. Biochemie en elektrolyten

Na centrifugatie viel op dat het serum sterk hemolytisch was. Het ureum was matig gestegen (16,2 mmol/l; ref. 2,5 – 9,6 mmol/l). Initieel werd er bij de doorverwijzende dierenarts een hyperalbuminemie (> 60 g/l; ref. 23 – 40 g/l) en een hyperproteïnemie (98 g/l; ref. 52-82 g/l) opgemerkt, maar dit was niet meer aanwezig bij herhaald bloedonderzoek op de faculteit (Bijlage IV). Er was tevens een matige hypokaliëmie (3 mmol/l; ref. 3,5 – 5,8 mmol/l) (Bijlage III).

6.1.3. Bloeduitstrijkje

Op het bloeduitstrijkje was een matig regeneratief beeld zichtbaar en waren er grote aantallen sferocyten aanwezig. Er waren ongeveer twee thrombocyten per high power field aanwezig. In de periferie konden grote aggregaten van plaatjes worden opgemerkt.

6.1.4. Auto-agglutinatietest

Het bloedstaal vertoonde ware auto-agglutinatie, die in deze casus zowel macroscopisch als microscopisch kon worden vastgesteld.

6.1.5. Osmotische fragiliteitstest (OFT)

Er werd een snelle osmotische fragiliteitstest (ROFT) uitgevoerd, waarvan het testresultaat positief was.

6.1.6. Interpretatie van de resultaten

Een regeneratief bloedbeeld wordt gezien bij bloedingen en bij hemolyse. De mate van regeneratie moet zoals eerder vermeld toenemen wanneer de anemie ernstiger is (Nelson, 2014). Aangezien er geen petechiën en ecchymosen aanwezig waren en er geen andere tekenen van uitwendige of inwendige bloedingen gevonden werden, was hemolyse de meest waarschijnlijke oorzaak van de regeneratieve anemie (Harvey, 2012; Nelson, 2014). Het sterk hemolytische serum sloot hierbij aan.

Leukocytose wordt vaak opgemerkt bij IMHA door de algemene stimulatie van de hematopoëse. Ook neoplastische processen, sepsis, DIC en endocriene stoornissen kunnen een leukocytose veroorzaken (Harvey, 2012; Nelson, 2014).

Het mild gestegen ureum was waarschijnlijk te wijten aan een milde dehydratatie. Andere mogelijkheden zijn een verhoogde diëtaire opname van eiwit, bloedingen van het proximale maagdarmstelsel of een verhoogde afbraak van lichaamseigen eiwitten ten gevolge van een katabool proces (Ettinger, 2010; Nelson, 2014).

De hyperalbuminemie en de hyperproteïnemie die bij de doorverwijzende dierenarts werden opgemerkt, waren waarschijnlijk een artefact ten gevolge van de aanwezige hemolyse. Algemeen gezien kan hyperproteïnemie veroorzaakt worden door dehydratatie, infecties, immuungemedieerde

aandoeningen en neoplasie. Wanneer er geen dehydratatie of artefact aan de basis ligt, wordt voor verder onderzoek best een elektroforese uitgevoerd om het onderscheid te kunnen maken tussen monoclonale en polyclonale gammopathie, maar dat is in deze casus dus niet nodig geweest (Nelson, 2014).

De hypokaliëmie kon in verband gebracht worden met de geschiedenis van braken en diarree. Verminderde diëtaire opname of nierinsufficiëntie kunnen eventueel ook een hypokaliëmie veroorzaken. Valse testresultaten of pseudohypokaliëmie komt niet vaak voor, maar kan veroorzaakt worden wanneer hyperproteïnemie, hyperglycemie of azotemie interfereren met de metingen (Nelson, 2014).

Op het bloeduitstrijkje konden verschillende plaatjesaggregaten gevonden worden. We konden dus concluderen dat er een pseudothrombocytopenie aanwezig was ten gevolge van een labofout. Een ware thrombocytopenie kan veroorzaakt worden door verhoogd gebruik van de bloedplaatjes bij ernstige bloedingen of diffuse intravasale coagulatie (DIC), door verminderde aanmaak bij beenmergdepressie, door immuungemedieerde destructie of door verhoogde sequestratie bij miltproblemen (Harvey, 2012).

Sferocytose is zeer typisch aanwezig bij IMHA, maar komt daarnaast ook voor bij bepaalde bloedparasieten, zinkintoxicatie, slangenbeten en bijensteken (Harvey, 2012). Verder bestaan er ook congenitale enzymdefecten die gepaard gaan met een verhoogde fragiliteit van de erythrocytmembraan en de vorming van sferocyten. Voorbeelden zijn fosfofructokinasedeficiëntie bij de Springer Spaniel, spectrinedeficiëntie bij de Golden Retriever en pyruvaatkinasedeficiëntie bij de Basenji (Slappendel, 2005; Owen en Harvey, 2012).

De aanwezigheid van auto-agglutinatie wees op de aanwezigheid van antistoffen op de membraan van de rode bloedcellen. De positieve ROFT-test wees eveneens zeer sterk in de richting van IMHA, maar ook honden met hyperlipidemie en congenitale enzymdefecten testen geregeld positief (Paes et al., 2013).

6.2. UITSLUITEN VAN EEN ONDERLIGGENDE OORZAAK

6.2.1. Anamnese

Uit de anamnese bleek dat er geen significante buitenlandanamnese was en dat er nog nooit teken werden aangetroffen. De hond nam geen medicatie en de opname van toxines leek de eigenaars onwaarschijnlijk. De vaccinatie was langer dan een jaar geleden.

6.2.2. Bloeduitstrijkje

Op het bloeduitstrijkje konden geen infectieuze organismen worden geïdentificeerd.

6.2.3. Biochemie

Op het biochemisch onderzoek konden geen afwijkingen gevonden worden die op aandoeningen van de lever, de galgangen of de nieren wijzen (Bijlage IV).

6.2.4. Radiografie van de thorax en echografie van het abdomen

Er werd een linkslaterale en een ventrodorsale radiografische opname van de thorax gemaakt. Hierop waren geen abnormaliteiten te zien. De echografie van het abdomen was eveneens normaal.

6.2.5. Serologie

Om seroconversie te kunnen aantonen, dient de test twee keer te worden uitgevoerd met een tussentijd van minimum 2 weken. Bij acute infecties zal de test initieel vaak vals negatief zijn en zal seroconversie kunnen aangetoond worden met behulp van het tweede staal. Bij chronische infecties zal geen seroconversie aanwezig zijn (Sykes, 2014).

Het serum werd onderzocht op antistoffen tegen *Anaplasma phagocytophilum*. Bij de eerste bepaling was de antistoftiter laag en was het testresultaat dus negatief. De tweede bepaling werd niet uitgevoerd.

7. DIAGNOSE

Wanneer de ernstige regeneratieve anemie, de leukocytose, de sferocytose, het hemolytisch serum, de auto-agglutinatie en positieve osmotische fragiliteitstest samen bekeken werden, kon men concluderen dat er een immuungemedieerde hemolytische anemie aanwezig was (Nelson, 2014). Bij de uitgebreide klinische opwerking van deze hond waren er geen indicaties gevonden die in de richting van neoplasie, infectie of intoxicatie wezen. De IMHA was bijgevolg vermoedelijk primair.

8. BEHANDELING

8.1. BLOEDTRANSFUSIE

Gezien het zeer lage packed cell volume (8 %) en de decompensatie, werd de eerste dag van de hospitalisatie een bloedtransfusie met packed red blood cells (PRBC) opgestart (15 ml/kg over vier uur). Gedurende de bloedtransfusie normaliseerde de hartslag geleidelijk aan en verdween de krachtig geslagen pols. De ademhalingsfrequentie bleef wel hoog. Het post-transfusie packed cell volume bedroeg 22 %.

Twee dagen later was de hond opnieuw heel suf en meer tachycard. De pols was weer krachtig geslagen en het packed cell volume was sterk gedaald (9 %). Er werd een tweede bloedtransfusie opgestart, deze keer met PRBC (5 ml/kg over vier uur) en fresh frozen plasma (FFP) (10 ml/kg over zes uur). De tachycardie en krachtig geslagen pols verdwenen weer geleidelijk aan. Het post-transfusie packed cell volume bedroeg dan 15 %.

8.2. IMMUNOSUPPRESSIVA

Initieel werden alleen corticosteroïden (prednisolone 2,5 %, 1,5 mg/kg intramusculair, twee keer per dag) opgestart. Na twee dagen werd beslist om extra immunosuppressieve medicatie toe te dienen onder de vorm van azathioprine (Imuran®, 2 mg/kg peroraal, één keer per dag). Daarnaast werd eveneens melatonine toegediend (0,5 mg/kg peroraal, één keer per dag).

8.3. ANTICOAGULANTIA

De toediening van acetylsalicylzuur (Aspirine®, 1 mg/kg peroraal, één keer per dag) was belangrijk om de vorming van thrombo-embolieën tegen te gaan. Daarnaast werd dalteparine opgestart (Fragmin®, LMW heparine, 100 IU/kg subcutaan, één keer per dag).

8.4. GASTRO-INTESTINALE MEDICATIE

Er werd metoclopramide (Emeprid®, 0,3 mg/kg intraveneus, drie keer per dag) gegeven om het braken tegen te gaan. Om de maag te beschermen tegen de mogelijke ulceratieve inwerking van de corticosteroïden, werd ook omeprazole (10 mg peroraal, één keer per dag) opgestart.

8.5. ANTIBIOTICA

Met het oog op een mogelijke anaplasmose, leptospirose, borreliose of mycoplasmose werd doxycycline (Ronaxan®, 5 mg/kg peroraal, twee keer per dag gedurende twee weken) gebruikt. Aangezien er reeds een antibioticumkuur werd opgestart voor vier weken, werd het serologisch onderzoek naar *Anaplasma phagocytophilum* niet herhaald.

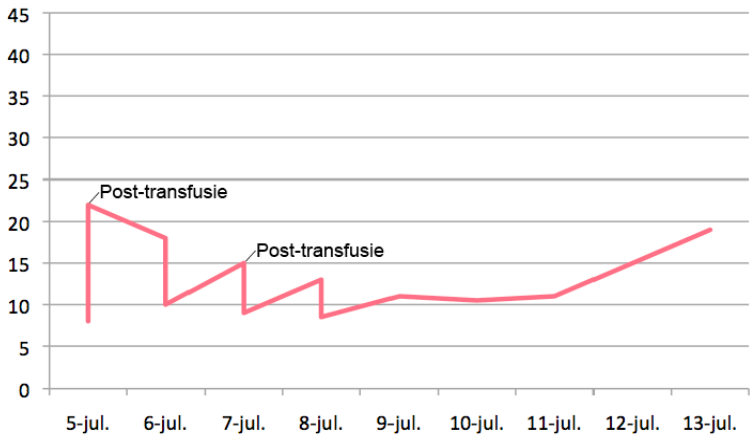
8.6. INFUUSTHERAPIE MET KALIUM-SUPPLEMENTATIE

Ter ondersteuning van de circulatie en behandeling van de hypokaliëmie werd de hond enkele dagen op een Hartmann®-infuus met kaliumsupplementatie (Kali-sterop®) geplaatst. Het kaliumgehalte in het bloed werd vlot genormaliseerd (Bijlage III).

9. OPVOLGING

9.1. OPVOLGING TIJDENS DE HOSPITALISATIE

Na de tweede bloedtransfusie deed de hond het geleidelijk aan beter. Het PCV werd dagelijks opgevolgd en steeg geleidelijk aan (Fig. 10) (Bijlage III). Ze was alert en comfortabel. De slijmvliezen bleven wel bleek, aangezien er nog steeds anemie aanwezig was. De pols was goed geslagen en het systolisch bijgeruis was afgenomen tot 1/6. Ongeveer een week na opname kon de hond worden ontslagen uit de kliniek. De opgestarte behandeling moest thuis verdergezet worden (Tab. 5).



Figuur 10. Verloop van het packed cell volume doorheen de hospitalisatie van 5 tot 13 juli. De initiële waarde van 8 % kon met behulp van twee bloedtransfusies en immunosuppressieve therapie evolueren tot 19 % bij het ontslag uit de kliniek (Bijlage III).

Prednisolone	halve tablet van 20 mg	twee keer per dag
Azathioprine	capsule van 12 mg	één keer per dag
Melatonine	capsule van 3 mg	één keer per dag
Acetylsalicylzuur	capsule van 6 mg	één keer per dag
Omeprazole	capsule van 10 mg	één keer per dag
Doxycycline	anderhalve tablet van 20 mg	twee keer per dag

Tabel 5. Schematische weergave van de medicatie die thuis verdergezet diende te worden na het ontslag van de hond uit de kliniek op 13 juli.

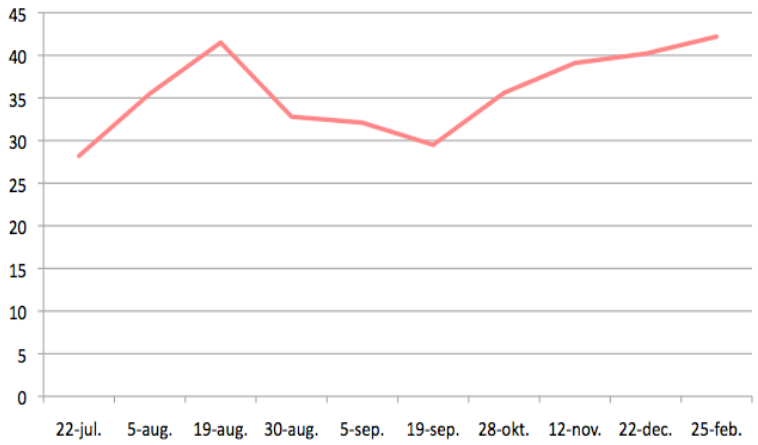
9.2. VERDERE OPVOLGING

Op **22 juli** was er een controlebezoek bij de doorverwijzende dierenarts. Er werd een hematologisch onderzoek uitgevoerd, waarbij de hematocriet reeds gestegen was tot 28,2 % (Bijlage I). De dosis azathioprine werd verminderd naar 2 mg/kg om de twee dagen (één capsule van 12 mg).

Eén maand na de initiële opname (**5 augustus**) is het dier op controle geweest op de faculteit. Ze had last van polyurie, polydipsie en polyfagie, vermoedelijk als gevolg van de prednisolone-therapie. Ze was nog snel moe, maar dat werd langzaam beter. Er waren geen significante afwijkingen aanwezig op het lichamelijk onderzoek en er werd een volledige hematologische controle uitgevoerd (Bijlage II). De hematocriet was gestegen tot 35,5 %. Op het bloeduitstrijkje waren veel minder polychromatofielen en sferocyten aanwezig en er was geen auto-agglutinatie meer. Het acetylsalicylzuur kon worden stopgezet en de dosis prednisolone kon langzaam worden afgebouwd met 25 % per keer (Tab. 6). De azathioprine, melatonine en omeprazole werden voorlopig onveranderd verder gezet.

Op **19 september**, 76 dagen na de eerste consultatie, waren er klachten van anorexie, stinkende diarree met vers bloed, melena en braken. De hematocriet was opnieuw significant gedaald (Fig. 11) en omdat de hond suf was, werd de dosis prednisolone door de doorverwijzende dierenarts opnieuw verhoogd (Tab. 6). In tegenstelling tot wat er waarschijnlijk vermoed werd, wezen deze symptomen eerder op gastro-intestinale bloedingen ten gevolge van de medicatie dan op een heropflakkering van

de IMHA. De dosis omeprazole werd hiervoor verdubbeld (tot 20 mg peroraal, éénmaal per dag) en er werd extra sucralfaat (Ulcogant®, 1 g peroraal, drie tot vier keer per dag) opgestart. De gastro-intestinale bloedingen konden zo gecontroleerd worden, waardoor de hematocriet eveneens normaliseerde.



Figuur 11. Verloop van de hematocriet tijdens de verdere opvolging. In september was er een lichte terugval door het ontstaan van gastro-intestinale bloedingen als complicatie (Bijlage I en II).

Juli	10 mg twee keer per dag
Augustus	10 mg 's morgens, 5 mg 's avonds
September	10 mg twee keer per dag
Oktober	5 mg twee keer per dag
November	5 mg 's morgens, 2,5 mg 's avonds
December	2,5 mg twee keer per dag
Januari	2,5 mg 's morgens, 1,25 mg 's avonds
Februari	1,25 mg twee keer per dag

Tabel 6. Toegepaste afbouwschema van de prednisolone-therapie. In september werd de dosis opnieuw verhoogd door de slechtere toestand van het dier, maar verder kon met goede regelmaat langzaam worden afgebouwd.

Er kon geconcludeerd worden dat de hond het sinds de stabilisatie van de hemolytische crisis in juli eigenlijk steeds beter deed. Het afbouwen van de dosis prednisolone verliep tamelijk vlot (Tab. 6) en er kan aangenomen worden dat ook de azathioprine binnenkort kan worden verminderd.

DISCUSSIE

Het dier dat in deze casus aangeboden werd, was een vrouwelijke, gesteriliseerde hond. Het grootste deel van de honden met IMHA behoort inderdaad tot deze doelgroep. Met een leeftijd van twee jaar was ze misschien wel iets jonger dan de gemiddelhet dier (Orcutt et al., 2010; Harvey, 2012; Gerschwin, 2013). De Shih-Tzu is geen typisch gepredisponeerd ras, maar de aandoening kan zich uiteraard bij een zeer variabel aantal rassen manifesteren (Weinkle et al., 2005; Warman et al., 2008; Orcutt et al., 2010; Gerschwin, 2013).

Bij de doorverwijzende dierenarts werd een anemie vastgesteld (Bijlage I) en bij verder onderzoek op de faculteit kon deze als regeneratief worden bestempeld (Bijlage II). Het systolisch bijgeruis kon bijgevolg vermoedelijk verklaard worden door de anemie, al kon men andere oorzaken op dat moment niet met zekerheid uitsluiten (Tilley, 2008). Het totaal eiwitgehalte in het bloed was verhoogd tot normaal en er konden niet meteen tekenen van uitwendige of inwendige bloedingen worden opgemerkt. Men kon dan ook verwachten dat de anemie veroorzaakt werd door hemolyse (Nelson, 2014). De kleurverandering van de urine was waarschijnlijk te wijten aan de aanwezigheid van hemoglobine of bilirubine, maar verder onderzoek werd niet uitgevoerd omdat het diagnostisch geen extra informatie bood (Garner et al., 2014). De icterus kon geassocieerd worden met de hemolyse en was dus van vermoedelijk van prehepatische oorsprong (Ettinger, 2010).

Het bloedstaal vertoonde ware auto-agglutinatie, wat kenmerkend is voor de aanwezigheid van antilichamen ter hoogte van de membraan van de rode bloedcel. Er werd geen Coombs' test uitgevoerd, aangezien deze volgens sommige bronnen als overbodig wordt beschouwd wanneer er reeds een duidelijke auto-agglutinatiereactie aanwezig is in vitro (Nelson, 2014). De positieve ROFT bevestigde de verhoogde fragiliteit van de aanwezige rode bloedcellen die reeds vermoed werd door de sferocytose op het bloeduitstrijkje (Paes et al., 2013). Er is geen test beschikbaar die met zekerheid een immuungemedieerde hemolytische anemie kan vaststellen en er moet dus steeds een combinatie aan testresultaten worden bekeken vooraleer er een conclusie kan worden getrokken (Horgan et al., 2009). In dit geval kon men op basis van de uitgevoerde testen en de goede respons op de therapie met zekerheid de diagnose van IMHA stellen.

Op biochemisch onderzoek was er geen hyperbilirubinemie aanwezig. Dit is zoals eerder vermeld niet noodzakelijk en sluit de aanwezigheid van een hemolytisch proces dan ook niet uit (Ettinger, 2010). De hypokaliëmie werd waarschijnlijk veroorzaakt door het braken en de diarree. Op zich wordt hypokaliëmie in de literatuur niet meteen geassocieerd met IMHA, maar braken wordt wel vermeld als een vaak voorkomend symptoom (Crump en Seshradi, 2009; Brenner et al., 2013).

De opwerking van een hond verdacht van IMHA dient zeer volledig te gebeuren om zoveel mogelijk onderliggende oorzaken te kunnen uitsluiten en een optimale behandeling te kunnen instellen (Horgan et al., 2009). Gezien de decompenserende toestand van de hond, was eerst een bloedtransfusie nodig om het dier te stabiliseren. De uitgebreide opwerking kon geen onderliggende oorzaken aan het licht brengen. Verder serologisch onderzoek diende ideaal gezien ook te gebeuren voor borreliose,

maar dit werd vermoedelijk niet uitgevoerd door het ontbreken van tekenbeten in de anamnese. Leptospirose leek eveneens onwaarschijnlijk, aangezien het dier geen toegang tot stilstaand water of urine van wilde dieren had. Ook verwacht men dan andere bijkomende symptomen zoals koorts, leverinsufficiëntie, nierinsufficiëntie of longbloedingen (Sykes, 2014). Aangezien er ook geen echte buitenlandanamnese was, werd ook het serologische onderzoek naar dirofilariose, babesiose en leishmaniose overbodig (Traversa et al., 2010; Best et al., 2014). Recente vaccinatie kan een trigger zijn, maar de laatste vaccinatie was reeds langer dan een jaar geleden. Er werd eveneens geen medicatie gegeven in de periode dat de symptomen ontstonden. De klinische opwerking werd volledig en correct uitgevoerd en men kon terecht concluderen dat de IMHA vermoedelijk primair is.

Dieren met primaire IMHA worden in eerste instantie behandeld met prednisolone en dat is ook hier gebeurd (Viviano, 2013). In deze casus werd met prednisolone alleen onvoldoende controle bereikt en werden azathioprine en melatonine extra opgestart. Hierna werd de hond eigenlijk goed gestabiliseerd. Een splenectomie was dan ook niet nodig (Horgan et al., 2009). Het was niet mogelijk om het aanslaan van de immunosuppressieve combinatietherapie te associëren met één van de gebruikte geneesmiddelen. Aangezien thromboprofylaxie de tweede belangrijke pijler is in de behandeling van IMHA, werden twee anticoagulantia opgestart. Met acetylsalicylzuur en dalteparine speelde men zowel in op de primaire als de secundaire coagulatie, zoals dat ook wordt aangeraden in de literatuur (Smith, 2012; Kidd en Mackman, 2013).

Ondanks de initieel zeer slechte toestand van de hond, ziet de prognose er op dit moment gunstig uit. Wanneer de hematocriet tijdens de verdere opvolging daalde, was het van groot belang om de oorzaak van de anemie te achterhalen. Het verschil tussen een heropflakkeren van de IMHA en het optreden van maagdarmbloedingen als reactie op de medicatie is zeer groot. Beide aandoeningen vereisen een zeer andere aanpak en hebben ook prognostisch een heel andere betekenis. In dit geval waren er secundaire gastro-intestinale bloedingen opgetreden die verantwoordelijk waren voor het heroptreden van de anemie. Door de gepaste medicatie toe te dienen kon opnieuw een stabiele toestand gecreëerd worden voor de hond. De immunotherapie kon geleidelijk aan verder afgebouwd worden en er zijn tot dusver nog geen recidieven geweest.

Er kan geconcludeerd worden dat deze casus een levensbedreigend geval van immuungemedieerde hemolytische anemie beschrijft dat een grote overeenkomst kent met de literatuur. De sterke motivatie van de eigenaars heeft een zeer goede en uitgebreide diagnostiek mogelijk gemaakt. De extensieve behandeling en nauwkeurige opvolging hebben ervoor gezorgd dat de hond het momenteel opnieuw goed doet.

REFERENTIELIJST

Ballweber L.R. (2001). Veterinary Parasitology. In: S.P. Messonier (Editor). 1ste editie, Butterworth-Heinemann, Massachusetts, USA, p. 235-238 en 242-245.

Barth C., Straubinger R.K., Müller E., Sauter-Louis C., Hartmann K. (2014). Veterinary Clinical Pathology 43, 180-184.

Beck N. (2009). Diagnostic Hematology. In: Kerr, J.A. (Editor). 1ste editie, Springer Science + Business Media, Pretoria, Zuid-Afrika, p. 86-88.

Best M.P., Ash A., Bergfeld J., Barrett J. (2014). The diagnosis and management of a case of leishmaniosis in a dog imported to Australia. Veterinary Parasitology 202, 292-295.

Boogaerts M. (2015). Klinische Hematologie. In: Verhoef G. (Editor). 3de editie, Uitgeverij LannooCampus, Leuven, België, e-book, hoofdstuk 1.4.3.

Brandão L.P., Hagiwara M.K., Myiashiro S.I. (2003). Humoral immunity and reinfection resistance in dogs experimentally inoculated with *Babesia canis* and either treated or untreated with imidocarb dipropionate. Veterinary Parasitology 114, 253-265.

Brenner K., Pohlman L., Muldowney I., Petersen D., Schermerhorn T. (2013). Peritoneal EMH in a Dog with Immune-Mediated Hemolytic Anemia. Journal of the American Animal Hospital Association 49, 329-332.

Caviezel L.L., Raj K., Giger U. (2014). Comparison of 4 Direct Coombs' Test Methods with Polyclonal Antiglobulins in Anemic and Nonanemic Dogs for In-Clinic or Laboratory Use. Journal of Veterinary Internal Medicine 28, 583-591.

Chervier C., Cadoré J.L., Rodriguez-Pineiro M.I., Deputte B.L., Chabanne L. (2012). Causes of anaemia other than acute blood loss and their clinical significance in dogs. Journal of Small Animal Practice 53, 223-227.

Crump K.L., Seshadri R. (2009). Use of therapeutic plasmapheresis in a case of canine immune-mediated hemolytic anemia. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 19, 375-380.

Ducatelle R. (2010). Circulatiestoornissen. Algemene pathologie, Cursus Faculteit diergeneeskunde, Gent, België, p. 113-115.

Elwood C., Devauchelle P., Elliott J., Freiche V., German A.J., Gualtieri M., Hall E., Den Hertog E., Neiger R., Peeters D., Roura X., Savary-Bataille K. (2010). Emesis in dogs: a review. Journal of Small Animal Practice 51, 4-22.

Ettinger S.J. (2010). Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat. In: Feldman E.C. (Editor). 7de editie, Elsevier Saunders, Missouri, USA, p. 253, 287-289, 528-531, 761-762, 1621 en 1955.

Garner B.C., Priest H., Smith J. (2014). Pseudo-hypoproteinemie in a hyperbilirubinemic dog with immune-mediated hemolytic anemia. Veterinary Clinical Pathology 43, 266-269.

Gerschwin L.J. (2013). Autoimmune Diseases in Small Animals. Veterinary Clinics of North-America: Small Animal Practice 40, 439-457.

Giannoulia-Karantana A., Vlachou A., Polychronopoulou S., Papassotiriou I., Chrousos G.P. (2006). Melatonin and Immunomodulation: Connection and Potential Clinical Applications. Neuroimmunomodulation 13, 133-144.

Tilley L.P. (2008). Manual of Feline and Canine Cardiology. In: Smith F.W.K. Jr., Oyama M.A., Sleeper M.M. (Editors). 4de editie, Saunders Elsevier, Missouri, USA, p. 20 en 65.

Harkin K.R., Hicks J.A., Wilkerson M.J. (2012). Erythrocyte-bound immunoglobulin isotypes in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 54 cases (2001-2010). Journal of the American Veterinary Medical Association 241, 227 – 232.

Harvey J.W. (2012). Veterinary Hematology: a diagnostic guide and color atlas. In: Pohlman H. en Graham B. (Editors). 1ste editie, Elsevier Saunders, Missouri, USA, p. 14-15, 26-27, 59-90, 101-104, 177-182 en 211-214.

Helmond S.E., Polzin D.J., Armstrong P.J., Finke M., Smith S.A. (2010). Treatment of Immune-Mediated Hemolytic Anemia with Individually Adjusted Heparin Dosing in Dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine 24, 597-605.

Horgan, J.E., Roberts B.K., Schermerhorn T. (2009). Splenectomy as an adjunctive treatment for dogs with immune-mediated hemolytic anemia: ten cases (2003-2006). Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 19, 254-261.

Jackson M.L., Kruth S.A. (1985). Immune-mediated Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia in the Dog: A retrospective stufy of 55 cases diagnosed from 1969 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine. Canadian Veterinary Journal 26, 245-250.

Kidd L., Mackman N. (2013). Prothrombotic mechanisms and anticoagulant therapy in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 23, 3-13.

Kubelová M., Sedlák K., Panev A., Siroky P. (2013). Conflicting resuls of serological, PCR and microscopic methods clarify the various risk levels of canine babesiosis in Slovakia: A complex approach to *Babesia canis* diagnostics. Veterinary Parasitology 191, 353-357.

Mazepa A.W., Kidd L.B., Young K.M., Trepanier L.A. (2010). Clinical Presentation of 26 *Anaplasma phagocytophylum*-Seropositive Dogs Residing in an Endemic Area. Journal of the American Animal Hospital Association 46, 405-412.

Miller A.G., Dow S., Long L., Olver C.S. (2012). Antiphospholipid Antibodies in Dogs with Immune Mediated Hemolytic Anemia, Spontaneous Thrombosis, and Hyperadrenocorticism. Journal of Veterinary Internal Medicine 26, 614-623.

Nelson R.W. (2014). Small Animal Internal Medicine. In: Couto C.G. (Editor). 5de editie, Mosby Elsevier, Missouri, USA, p. 4-6, 371-374, 376-380, 644-645, 883-885, 1201-1212, 1239-1241, 1276-1278, 1416 en 1417-1424.

Noli C., Saridomichelakis M.N. (2014). An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). The Veterinary Journal 202, 425-435.

O'Neill E.J., Acke E., Tobin E., McCarthy G. (2010). Immune-mediated thrombocytopenia associated with Angiostrongylus vasorum infection in a Jack Russell terrier. Irish Veterinary Journal 63, 434-440.

Orcutt E.S., Lee J.A., Bianco D. (2010). Immune-mediated hemolytic anemia and severe thrombocytopenia in dogs: 12 cases (2001-2008). Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 20, 338-345.

Owen J.L., Harvey J.W. (2012). Hemolytic Anemia in Dogs and Cats Due to Erythrocyte Enzyme Deficiencies. Veterinary Clinics of North-America: Small Animal Practice 42, 73-84.

Paes G., Paepe D., Meyer E., Kristensen A.T., Duchateau L., Campos M., Daminet S. (2013). The use of the rapid osmotic fragility test as an additional test to diagnose canine immune-mediated haemolytic anaemia. Acta Veterinaria Scandinavica 55, 74-86.

Paulauskas A., Radzijevskaja J., Karvelienė B., Grigonis A., Aleksandravicienė A., Zamokas G., Babickaité L., Sabunas V., Petkevicius S. (2014). Detection and molecular characterization of canine babesiosis causative agent *Babesia canis* in the naturally infected dog in Lithuania. Veterinary Parasitology 205, 702-706.

Piek C.J., van Spil W.E., Junius G., Dekker A. (2011). Lack of evidence of a beneficial effec of azathioprine in dogs treated with prednisolone for idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective cohort study. Veterinary Research 7, 15-23.

Pitorri F., Dell'Orco M., Carmichael N., Barker E.N., Hollywood M., Tasker S. (2012). Use of real-time quantitative PCR to document successful treatment of *Mycoplasma haemocanis* infection with doxycycline in a dog. Veterinary Clinical Pathology 41, 493-496.

Reimer M.E., Troy G.C., Warnick L.D. (1999). Immune-Mediated Hemolytic Anemia: 70 Cases (1988-1996). Journal of the American Animal Hospital Association 35, 384-391.

Silverstein D. (2006). The Different Types of Shock. International Congress of the Italian Association of Companion Animal Veterinarians, 19 mei 2006, Rimini, Italië.

Slappendel R.J. (2005). Hereditary spectrin deficiency in golden retriever dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine 19, 187-192.

Smith S.A. (2012). Antithrombotic Therapy. Topics in Companion Animal Medicine 27, 88-94.

Sykes J.E. (2014). Canine and Feline Infectious Diseases. 1ste editie, Saunders Elsevier, Missouri, USA, p. 272-283, 293, 390-393, 474-480 en 487.

Thrall M.A. (2012). Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. In: Weiser G., Allison R.W., Campbell T.W. (Editors). 2de editie, Wiley-Blackwell, Massachusetts, USA, p. 62, 90-107 en 404-417.

Traversa D., Di Cesare A., Conboy G. (2010). Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. Parasites & Vectors, doi: 10.1186/1756-3305-3-62.

Viviano K.R. (2013). Update on Immunosuppressive Therapies for Dogs and Cats. Veterinary Clinics of North-America: Small Animal Practice 43, 1149-1170.

Wagner C., Steffen P., Svetina S. (2013). Aggregation of red blood cells: From rouleaux to clot formation. Comptes Rendus Physique 14, 459-469.

Wardrop K.J. (2012). Coombs' Testing and Its Diagnostic Significance in Dogs and Cats. Veterinary Clinics of North-America: Small Animal Practice 42, 43-51.

Warman S.M., Murray J.K., Ridyard A., Eastwoord J., Silva S., Day M.J. (2008). Pattern of Coombs' test reactivity has diagnostic significance in dogs with immune-mediated haemolytic anaemia. Journal of Small animal practice 49, 525-530.

Weinkle T.K., Center S.A., Randolph J.F., Warner K.L., Barr S.C., Erb H.N. (2005). Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 151 cases (1993-2002). Journal of the American Veterinary Medical Association 226, 1869-1880.

Weiss D.J. (2008). Bone marrow pathology in dogs and cats with non-regenerative immune-mediated haemolytic anaemia and pur red cell aplasia. Journal of Comparative Physiology 138, 46-53.

Weledji E.P. (2014). Benefits and risks of splenectomy. International Journal of Surgery 12, 113-119.

West L.D., Hart J.R. (2014). Treatment of idiopathic immune-mediated hemolytic anemia with mycophenolate mofetil in five dogs. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care 24, 226-231.

Withrow S.J. (2007). Therapeutic Modalities for the Cancer Patiënt. In: Vail D.M. (Editor). Withrow en MacEwen's Small Animal Oncology, 4de editie, Elsevier Saunders, Missouri, USA, p. 157-371.

BIJLAGE I – OPVOLGING HEMATOLOGIE BIJ DE DOORVERWIJZENDE DIERENARTS

	4 juli	22 juli	19 augustus	30 augustus	5 september	19 september	referentiewaarden
WBC	22,85 x 10^9 per liter	25,63 x 10^6 per liter	18,30 x 10^9 per liter	13,90 x 10^9 per liter	22,09 x 10^9 per liter	20,27 x 10^9 per liter	5,50 – 16,90 x 10^9 per liter
LYM	12,27 x 10^9 per liter	-	1,32 x 10^9 per liter	0,98 x 10^9 per liter	0,81 x 10^9 per liter	0,78 x 10^9 per liter	0,50 – 4,90 x 10^9 per liter
MONO	0,65 x 10^9 per liter	-	1,85 x 10^9 per liter	2,77 x 10^9 per liter	2,52 x 10^9 per liter	3,16 x 10^9 per liter	0,30 – 2,00 x 10^9 per liter
NEU	9,61 x 10^9 per liter	-	15,21 x 10^9 per liter	9,86 x 10^9 per liter	18,28 x 10^9 per liter	16,01 x 10^9 per liter	2,00 – 12,00 x 10^9 per liter
EOS	0,19 x 10^9 per liter	-	0,08 x 10^9 per liter	0,27 x 10^9 per liter	0,36 x 10^9 per liter	0,21 x 10^9 per liter	0,10 – 1,49 x 10^9 per liter
BASO	0,14 x 10^9 per liter	-	0,08 x 10^9 per liter	0,08 x 10^9 per liter	0,00 x 10^9 per liter	0,10 x 10^9 per liter	0,00 – 0,10 x 10^9 per liter
%LYM	53,7 %	-	10,7 %	7,1 %	3,7 %	3,9 %	-
%MONO	2,8 %	-	7,5 %	19,8 %	11,4 %	15,6 %	-
%NEU	42,0 %	80,7 %	81,8 %	70,7 %	82,8 %	79,0 %	-
%EOS	0,8 %	-	0,4 %	1,9 %	1,7 %	1,1 %	-
%BASO	0,6 %	-	0,2 %	0,4 %	0,4 %	0,5 %	-
HCT	-	28,2 %	41,5 %	32,8 %	32,1 %	29,5 %	37,0 – 55,0 %
RBC	0,25 x 10^{12} per liter	3,21 x 10^{12} per liter	4,56 x 10^{12} per liter	4,20 x 10^{12} per liter	3,80 x 10^{12} per liter	3,68 x 10^{12} per liter	5,50 – 8,50 x 10^{12} per liter
HGB	8,8 g/l	10,5 g/dl	13,2 g/dl	11,3 g/dl	11,8 g/dl	11,2 g/dl	12,0 – 18,0 g/dl
RETIC	5 200 per µl	136 600 per µl	39 700 per µl	71 900 per µl	122 900 per µl	57 200 per µl	-
%RETIC	2,1 %	4,3 %	0,3 %	1,7 %	3,2 %	1,6 %	-
MCV	-	88,1 fl	85,6 fl	77,9 fl	84,3 fl	80,2 fl	60,0 – 77,0 fl
RDW	-	17,6 %	16,5 %	16,3 %	16,2 %	15,9 %	14,7 – 17,9 %
MCHC	-	37,0 g/dl	31,7 g/dl	34,4 g/dl	36,7 g/dl	38,0 g/dl	30,0 – 37,5 g/dl
MCH	-	32,6 pg	27,4 pg	26,8 pg	31,0 pg	30,5 pg	18,5 – 30,0 pg
PLT	428 000 per µl	-	789 000 per µl	454 000 per µl	595 000 per µl	619 000 per µl	175 000 – 500 000 per µl
MPV	9,1 fl	-	8,5 fl	9,9 fl	11,5 fl	6,4 fl	-
PCT	0,39 %	-	0,65 %	0,45 %	0,59 %	0,39 %	-
PDW	24,6 %	-	20,2 %	22,6 %	24,1 %	21,5 %	-

BIJLAGE II – OPVOLGING HEMATOLOGIE OP DE FACULTEIT

	5 juli	5 augustus	28 oktober	12 november	22 december	25 februari	referentiewaarden
WBC	35,82 x 10^9 per liter	22,06 x 10^9 per liter	22,86 x 10^9 per liter	21,01 x 10^9 per liter	19,37 x 10^9 per liter	16,62 x 10^9 per liter	5,05 – 16,76 x 10^9 per liter
LYM	11,33 x 10^9 per liter	1,24 x 10^9 per liter	2,09 x 10^9 per liter	1,97 x 10^9 per liter	1,48 x 10^9 per liter	1,13 x 10^9 per liter	1,05 – 5,1 x 10^9 per liter
MONO	3,08 x 10^9 per liter	0,90 x 10^9 per liter	1,85 x 10^9 per liter	1,61 x 10^9 per liter	1,67 x 10^9 per liter	0,85 x 10^9 per liter	0,16 – 1,12 x 10^9 per liter
NEU	21,26 x 10^9 per liter	19,73 x 10^9 per liter	18,87 x 10^9 per liter	17,39 x 10^9 per liter	16,17 x 10^9 per liter	14,42 x 10^9 per liter	2,95 – 11,64 x 10^9 per liter
EOS	0,14 x 10^9 per liter	0,00 x 10^9 per liter	0,02 x 10^9 per liter	0,02 x 10^9 per liter	0,01 x 10^9 per liter	0,12 x 10^9 per liter	0,06 – 1,23 x 10^9 per liter
BASO	0,01 x 10^9 per liter	0,19 x 10^9 per liter	0,03 x 10^9 per liter	0,02 x 10^9 per liter	0,04 x 10^9 per liter	0,1 x 10^9 per liter	0 – 0,1 x 10^9 per liter
%LYM	31,6 %	5,6 %	9,1 %	9,4 %	7,6 %	6,8 %	-
%MONO	8,6 %	4,1 %	8,1 %	7,7 %	8,6 %	5,1 %	-
%NEU	59,4 %	89,4 %	82,6 %	82,7 %	83,5 %	86,8 %	-
%EOS	0,4 %	0,0 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,7 %	-
%BASO	0 %	0,9 %	0,1 %	0,1 %	0,2 %	0,6 %	-
HCT	8,4 %	35,5 %	35,6 %	39,1 %	40,2 %	42,2 %	37,3 – 61,7 %
RBC	1,09 x 10^{12} per liter	4,45 x 10^{12} per liter	5,01 x 10^{12} per liter	5,48 x 10^{12} per liter	5,75 x 10^{12} per liter	6,01 x 10^{12} per liter	5,65 – 8,87 x 10^{12} per liter
HGB	2,9 g/dl	11,5 g/dl	12,2 g/dl	13,4 g/dl	14,3 g/dl	14,7 g/dl	13,1 – 20,5 g/dl
RETIC	101 000 per µl	28 000 per µl	27 600 per µl	42 700 per µl	31 600 per µl	40 300 per µl	-
%RETIC	9,3 %	0,6 %	0,6 %	0,8 %	0,6 %	0,7 %	-
MCV	77,1 fl	79,8 fl	71,1 fl	71,4 fl	69,9 fl	70,5 fl	61,6 – 73,5 fl
RDW	21,6 %	18,3 %	14,5 %	14,8 %	14,3 %	13,7 %	13,6 – 21,7 %
MCHC	34,5 g/dl	32,4 g/dl	34,3 g/dl	34,3 g/dl	35,6 g/dl	34,7 g/dl	32 – 37,9 g/dl
MCH	26,6 pg	25,8 pg	24,4 pg	24,5 pg	24,9 pg	24,5 pg	21,2 – 25,9 pg
PLT	96 000 per µl	454 000 per µl	690 000 per µl	687 000 per µl	684 000 per µl	512 000 per µl	148 000 – 484 000 per µl
MPV	8,2 fl	8,2 fl	-	-	-	-	8,7 – 13,2 fl
PCT	0,08 %	0,37 %	-	-	-	-	0,14 – 0,46 %
PDW	-	9,7 %	-	-	-	-	-

BIJLAGE III – SPECIFIEKE OPVOLGING PACKED CELL VOLUME EN IONOGRAM TIJDENS DE HOSPITALISATIE

	5 juli	6 juli	7 juli	8 juli	9 juli	10 juli	11 juli	13 juli	referentiewaarden
Na	147 mmol/l	-	145 mmol/l	142 mmol/l	143 mmol/l	136 mmol/l	144 mmol/l	-	144 – 160 mmol/l
K	3 mmol/l	3,2 mmol/l	5,5 mmol/l	3 mmol/l	3,8 mmol/l	3,5 mmol/l	3,7 mmol/l	-	3,5 – 5,8 mmol/l
Cl	122 mmol/l	-	117 mmol/l	120 mmol/l	120 mmol/l	122 mmol/l	119 mmol/l	-	109 – 122 mmol/l
PCV	8 % (10h) 22 % (22h)	18 % (8h) 10 % (18h)	15 % (19h) 9 % (24h)	13 % (1h) 8,5 % (14h)	11 %	10,5 %	11 %	19 %	37,3 – 61,7 %

BIJLAGE IV – OPVOLGING BIOCHEMIE OP DE FACULTEIT EN BIJ DE DOORVERWIJZENDE DIERENARTS

	4 juli	5 juli	22 juli	30 augustus	28 oktober	22 december	referentiewaarden
TBIL	-	63 µmol/l	-	-	-	-	-
ALB	> 60 g/l	32 g/l	39 g/l	37 g/l	39 g/l	36 g/l	23 – 40 g/l
ALB/GL	-	0,8	1,6	1,5	-	1,4	-
ALKP	116 U/l	209 U/l	471 U/l	795 U/l	-	909 U/l	23 – 212 U/l
ALT	105 U/l	104 U/l	254 U/l	706 U/l	-	896 U/l	10 – 100 U/l
UREA	19,1 mmol/l	16,2 mmol/l	8,0 mmol/l	3,7 mmol/l	-	2,8 mmol/l	2,5 – 9,6 mmol/l
BUN/CR	59	75	22	33	-	27	-
CREA	81 µmol/l	54 µmol/l	88 µmol/l	27 µmol/l	-	23 µmol/l	44 – 159 µmol/l
GLOB	-	38 g/l	24 g/l	25 g/l	-	26 g/l	25 – 45 g/l
GLU	6,75 mmol/l	6,03 mmol/l	7,09 mmol/	6,89 mmol/l	-	6,76 mmol/l	4,11 – 7,95 mmol/l
TP	98 g/l	70 g/l	63 g/l	62 g/l	-	62 g/l	52 – 82 g/l