

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015-2016

**EEN RETROSPECTIEVE STUDIE NAAR HET EFFECT VAN
TRANSFAUNATIE BIJ HET VOLWASSEN PAARD**

door

Charlotte DEMESMAEKER

Promotoren : Prof. Dr. P. Deprez
Prof. Dr. G. van Loon

Onderzoek uitgevoerd in het kader van de Masterproef

© 2016 *Charlotte Demesmaeker*

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 deze masterproef.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015-2016

**EEN RETROSPECTIEVE STUDIE NAAR HET EFFECT VAN
TRANSFAUNATIE BIJ HET VOLWASSEN PAARD**

door

Charlotte DEMESMAEKER

Promotoren : Prof. Dr. P. Deprez
Prof. Dr. G. van Loon

Onderzoek uitgevoerd in het kader van de Masterproef

© 2016 Charlotte Demesmaeker

VOORWOORD

Graag wil ik een aantal mensen bedanken die een belangrijke rol hebben gespeeld in het realiseren van deze studie.

In de eerste plaats wil ik mijn promotor Prof. Dr. Piet Deprez bedanken om mij de kans te geven een studie te verrichten naar dit boeiende onderwerp. De uitstekende begeleiding en enthousiaste manier van samenwerken hebben bijgedragen tot de totstandkoming van deze studie. Bovendien kon ik altijd rekenen op een snelle respons en degelijk advies.

Prof. Dr. Gunther van Loon wil ik eveneens bedanken voor zijn nieuwe inzichten en kritische kijk op deze studie.

Verder wil ik Dr. Bart Pardon van harte bedanken voor de grote hulp bij de statistische analyses. Ondanks zijn drukke agenda stond hij steeds klaar voor het beantwoorden van al mijn vragen.

Daarnaast wil ik mijn familie en vrienden bedanken voor hun onvoorwaardelijke steun.

INHOUDSOPGAVE

Samenvatting	p. 1
Inleiding	p. 2
1. Diarree bij het volwassen paard	p. 3
1.1 Pathofysiologie	p. 3
1.2 Oorzaak	p. 3
1.2.1 Infectieuze oorzaken van diarree	p. 3
1.2.1.1 Kleine strongyliden infestatie	p. 3
1.2.1.2 Bacteriële infectie	p. 4
1.2.1.2.1 Salmonellose	p. 4
1.2.1.2.2 Clostridiose	p. 4
1.2.1.2.3 <i>Lawsonia intracellularis</i> infectie	p. 5
1.2.2 Niet infectieuze oorzaken van diarree	p. 5
1.2.2.1 Malabsorptie ter hoogte van de dunne darm	p. 5
1.2.2.2 NSAID-geïnduceerde colitis	p. 5
1.2.2.3 Antibiotica geïnduceerde diarree	p. 6
1.2.2.4 Chronische zandimpactie	p. 6
1.2.2.5 Inflammatory Bowel Disease	p. 6
1.2.2.6 Idiopathische colitis	p. 7
1.3 Diagnose	p. 7
1.4 Behandeling	p. 8
2. Het gebruik van gezondheidsbevorderende middelen	p. 8
2.1 De intestinale flora bij het paard	p. 8
2.2 Prebiotica	p. 9
2.3 Probiotica	p. 9
2.4 Transfaunatie	p. 10
2.4.1 Definitie	p. 10
2.4.2 Actiemechanisme	p. 10
2.4.3 Proces van transfaunatie	p. 10
2.4.3.1 Donorselectie	p. 10
2.4.3.2 Preparatie van het transfaunatiemateriaal	p. 11
2.4.3.3 Toedieningsroutes	p. 12
2.4.3.4 Kwaliteitseisen	p. 12
3. Onderzoek	p. 12
3.1 Doelstelling van de masterproef	p. 12
3.2 Materiaal en methoden	p. 12
3.2.1 Studieontwerp en selectiecriteria	p. 12
3.2.2 Statistische analyse	p. 13
3.3 Resultaten	p. 14
3.3.1 Descriptieve analyse	p. 14
3.3.1.1 De studiepopulatie	p. 14
3.3.1.2 Aantal aangeboden paarden	p. 14
3.3.1.3 Signalement	p. 15
3.3.1.4 Anamnese	p. 15
3.3.1.5 Bloedwaarden	p. 16
3.3.1.6 Voorkomende oorzaken van diarree op de Faculteit Diergeneeskunde	p. 16
3.3.1.7 Ingestelde behandeling op de Faculteit Diergeneeskunde	p. 16
3.3.1.8 Transfaunatie	p. 17

3.3.1.9 Afloop	p. 18
3.3.1.9.1 Vaste mest	p. 18
3.3.1.9.1.1 Getransfauneerde paarden	p. 19
3.3.1.9.1.2 Niet getransfauneerde paarden	p. 20
3.3.1.9.2 Sterfte	p. 20
3.3.1.9.2.1 Algemeen overlevingspercentage	p. 20
3.3.1.9.2.2 Overlevingspercentage: transfaunatie versus geen transfaunatie	p. 21
3.3.1.10 Totale hospitalisatieduur	p. 22
3.3.2 Survival analyse	p. 22
3.3.2.1 Categorische variabelen	p. 22
3.3.2.2 Continue variabelen	p. 24
3.3.2.3 Het bekomen van vaste mest	p. 24
3.3.2.3.1 Diagnose	p. 26
3.3.2.3.2 Transfaunatie	p. 26
3.3.2.3.3 Het toedienen van corticoiden	p. 27
3.3.2.4 Het optreden van sterfte	p. 27
3.3.2.4.1 Diagnose	p. 28
3.3.2.4.2 Transfaunatie	p. 29
3.3.2.4.3 Het toedienen van corticoiden	p. 29
3.3.2.4.4 Het totaal eiwit gehalte	p. 30
3.4 Bespreking	p. 30
3.4.1 Doelstelling	p. 30
3.4.2 Het effect van transfaunatie bij verschillende types diarree	p. 31
3.4.3 Univariabele Cox Regressie analyse van categorische en continue predictoren	p. 31
3.4.3.1 Ras	p. 31
3.4.3.2 Diagnose	p. 31
3.4.3.3 De duur van diarree	p. 32
3.4.3.4 Behandeling	p. 32
3.4.3.5 Bloedparameters	p. 33
3.4.3.6 Leeftijd	p. 33
3.4.4 Multivariabele Cox Regressie analyse van categorische en continue predictoren	p. 33
3.4.4.1 Het vast worden van mest	p. 33
3.4.4.1.1 Diagnose	p. 34
3.4.4.1.2 Transfaunatie	p. 34
3.4.4.1.3 Het toedienen van antibiotica	p. 34
3.4.4.1.4 Het gebruik van corticoiden	p. 35
3.4.4.1.5 Leeftijd	p. 35
3.4.4.2 Het optreden van sterfte	p. 35
3.4.4.2.1 Diagnose	p. 35
3.4.4.2.2 Transfaunatie	p. 35
3.4.4.2.3 Het toedienen van antibiotica	p. 36
3.4.4.2.4 Leeftijd	p. 36
3.4.4.2.5 Totaal eiwit gehalte	p. 36
4. Algemene conclusie	p. 36
5. Referenties	p. 38

SAMENVATTING

Transfaunatie kan gebruikt worden om de microbiële flora te manipuleren als (bijkomende) behandeling van paarden met diarree. Deze techniek wordt al langer toegepast, maar over het nut van het gebruik bij paarden is bijzonder weinig gekend. In de humane geneeskunde is de efficiëntie van faecale microbiële transplantatie daarentegen wel bewezen, dit hoofdzakelijk bij recidiverende *Clostridium difficile* infecties.

De algemene doelstelling van deze studie is het nagaan of transfaunatie bij het volwassen paard effectief is op de genezing van het dier bij bepaalde types diarree. Specifieke doelstellingen zijn het effect van transfaunatie en andere predictoren op (de tijd tot) het terug vast worden van de mest en op (de tijd tot) het optreden van sterfte nagaan bij paarden aangeboden met diarree. De database van Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent werd hiervoor doorzocht voor gevallen van diarree gezien door de vakgroep Inwendige Ziekten tussen 1 januari 2008 tot en met 30 juni 2015. De studiepopulatie bevat 162 patiënten. Hiervan werden verschillende gegevens verzameld. Vervolgens werd een retrospectieve cohortstudie uitgevoerd om bovengenoemde doelstellingen te analyseren.

Voor deze studie werden verschillende categorische en continue predictoren verzameld. Via een univariabele Cox Regressie analyse werd op significantie (P -waarde $<0,05$) getest. Negatieve predictoren voor het vast worden van mest zijn het ras (koudbloed minder kans dan warmbloed; P -waarde $=0,02$), de diagnose (parasitair minder kans dan onbekende oorzaak; P -waarde $<0,001$), het toedienen van transfaunatie (P -waarde $<0,001$), het toedienen van corticoïden (thuis en/of op de kliniek (P -waarde $<0,001$), enkel op de kliniek (P -waarde $<0,01$), enkel thuis (P -waarde $=0,02$)), het gebruik van antibiotica enkel op de kliniek (P -waarde $<0,001$), en een hoog leukocyten gehalte (P -waarde $=0,02$). Negatieve predictoren voor het optreden van sterfte zijn het gebruik van antibiotica enkel op de kliniek (P -waarde $<0,001$), een totaal eiwit gehalte lager dan 60 g/L (P -waarde $=0,02$), en een oudere leeftijd (grotere kans per maand ouder; P -waarde $=0,02$). Ook een multivariabel Cox Regressie model werd gebouwd. Negatieve predictoren geassocieerd met de tijd tot het vast worden van mest (142 observaties) zijn de diagnose (parasitair gemiddeld langer dan onbekende oorzaak; HR 0,36; 95% CI 0,20-0,66; P -waarde $<0,001$), het toedienen van transfaunatie (HR 0,43; 95% CI 0,28-0,66; P -waarde $<0,001$), het toedienen van antibiotica op de kliniek (HR 0,39; 95% CI 0,25-0,57; P -waarde $<0,001$), het toedienen van corticoïden thuis en/of op de kliniek (HR 0,48; 95% CI 0,31-0,74; P -waarde $<0,01$) en de leeftijd (HR 0,995; 95% CI 0,992-0,998; P -waarde $<0,01$). Negatieve predictoren geassocieerd met de tijd tot het optreden van sterfte (162 observaties) zijn de leeftijd (HR 1,006; 95% CI 1,001-1,010; P -waarde $<0,01$), antibiotica toegediend op de kliniek (HR 3,6; 95% CI 1,3-10,7; P -waarde $=0,02$) en het totaal eiwit gehalte (HR 3,0; 95% CI 1,3-6,9; P -waarde $<0,01$). In deze studie werd enkel het korte termijn overlevingspercentage van paarden (= tot moment van ontslag uit de kliniek) opgevolgd. Lange termijn opvolging werd niet uitgevoerd.

Betreffende de algemene doelstelling van de thesis, namelijk het nagaan of transfaunatie bij het volwassen paard een effect heeft op de genezing van het dier bij diarree in het algemeen of bij bepaalde types diarree, kan gesteld worden dat het toedienen van transfaunatie in deze studie negatief geassocieerd was met herstel. Een mogelijke verklaring voor dit eerder verrassende resultaat ligt waarschijnlijk in de gebruikte dataset: transfaunatie werd niet ad random toegediend aan de patiënten met diarree, maar waarschijnlijk meer aan patiënten die niet of minder vlug reageerden op een conservatieve therapie. Verder onderzoek (klinische veldstudie) is echter nodig om de doeltreffendheid van transfaunatie specifiek na te gaan.

Paard - Diarree - Behandeling - Transfaunatie - Doeltreffendheid

INLEIDING

Transfaunatie of het toedienen van een enteraal of faecaal extract is reeds lang bekend en wordt gebruikt om de gezondheid en het microbiële evenwicht van de darm te bevorderen. Sedert vele jaren wordt transfaunatie in de veterinaire geneeskunde toegepast. De eerste humane transplantatie van faeces, ook faecale microbiële transplantatie (FMT) genoemd, dateert van 1958 en werd aangewend voor de behandeling van pseudomembraneuze colitis. Sindsdien is de populariteit van FMT toegenomen, mede omwille van het gemak van toediening en de veiligheid voor de patiënt. Momenteel wordt FMT bij de mens hoofdzakelijk toegepast voor de behandeling van een *Clostridium difficile* infectie. Deze bacterie kan resistent zijn tegen vrijwel alle antibiotica en is zeer moeilijk te behandelen (Owens et al., 2013; Aronidias & Brandt, 2014). In de veterinaire geneeskunde wordt transfaunatie bij verschillende diersoorten gebruikt. Bij paarden is diarree de belangrijkste indicatie. Er zijn echter weinig studies die het effect van transfaunatie bewijzen.

De opzet van de uitgevoerde studie is het effect van transfaunatie bij volwassen paarden nagaan, dit zowel algemeen in de behandeling van diarree als specifiek voor bepaalde types diarree. Darmlletsels worden meestal veroorzaakt door parasieten (voornamelijk cyathostominae), door een bacteriële infectie of door irritatie ten gevolge van zand. Minder frequente oorzaken van diarree zijn het (langdurig) gebruik van antibiotica of niet-steroïdale ontstekingsremmers (NSAIDs), malabsorptie ter hoogte van de dunne darm, en Inflammatory Bowel Disease (IBD). Verder wordt er bij een groot aantal van de gevallen geen oorzaak gevonden, en wordt vaak de diagnose van een digestiestoornis of idiopathische colitis gegeven.

In deze masterproef wordt aan de hand van een retrospectieve cohortstudie de overlevingscurve van volwassen paarden aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde bestudeerd, en worden risicofactoren met het vast worden van mest (genezing) en met overleving geïdentificeerd. Het effect van al dan niet transfauneren van het paard is hierbij het primaire onderzoeksdoel. Het is echter bijzonder moeilijk na te gaan of transfaunatie al dan niet een effect heeft, aangezien er geen vooraf bepaalde controlepopulatie is. Bovendien bepaalde de betrokken dierenarts welk paard getransfauneerd werd zonder dat er duidelijke criteria afgesproken waren. Een methodologisch probleem voor deze studie is eveneens het gebruik van meerdere behandelingen, welke een bijkomende invloed hebben op de genezing van de patiënt. Tenslotte moet ook rekening gehouden worden met de variatie in algemene toestand en bloedparameters (hematocriet, leukocyten gehalte en totaal eiwit gehalte) tussen de patiënten. Patiënten in een slechte algemene toestand hebben uiteraard een lager slagingspercentage van de behandeling. Prospectieve studies zijn nodig om de doeltreffendheid van transfaunatie preciezer na te gaan. Een klinische veldstudie kan verdere inzichten leveren waarbij het transfauneren van een dier ad random wordt toegekend, zodat enkel het toeval beslist welke behandeling een dier krijgt. Op deze manier kan vertekening door selectie tegengegaan worden.

1. DIARREE BIJ HET VOLWASSEN PAARD

1.1 PATHOFYSIOLOGIE

Het spijsverteringstelsel van het paard is een complex en fragiel systeem dat makkelijk verstoord wordt. De darmen verteren en absorberen voedsel, nemen nutriënten en water op en verwijderen afval. De ontwikkeling van diarree is een symptoom dat wijst op een verstoring van de darmfunctie. De oorzaken en de daaraan verbonden gevolgen van diarree bij het volwassen paard variëren van mild tot levensbedreigend (Santos et al., 2011).

Het colon bevat grote hoeveelheden bacteriën en protozoa, die instaan voor de vertering van normaal onverteerbare koolhydraten aanwezig in hooi en andere planten. De microbiota zet deze koolhydraten (voornamelijk cellulose) om tot makkelijk absorbeerbare producten (vluchtige vetzuren) die door het paard gebruikt kunnen worden. De vertering en absorptie van nutriënten en water is afhankelijk van een normaal functionerende microbiota, een gezonde darmwand en functionerende bloedvaten (Santos et al., 2011).

1.2 OORZAAK

Diarree is een overmaat aan water in de faeces wat voorkomt wanneer het evenwicht van de microbiota verstoord wordt, de darmwand beschadigd is en/of de circulatie beschadigd is. Ernstige diarree gaat gepaard met een groot verlies aan water, en kan leiden tot een snel verlies van vocht in het circulair systeem. Dit leidt tot een verlaagde bloeddruk en verminderde bloedvloeï van de vitale organen (circulaire shock), wat snel tot de dood kan resulteren indien geen behandeling wordt ingesteld (Ecke et al., 1997).

Diarree kan acuut of chronisch zijn. Een acute diarree welke mild verloopt, wordt vaak veroorzaakt door stress. De meeste paarden maken terug normale mest van zodra de stress verdwenen is. Ernstige gevallen van acute diarree worden veroorzaakt door specifieke ziekten zoals clostridiose en salmonellose, en door het gebruik van antibiotica en/of het gebruik van niet-steroïdale ontstekingsremmers (NSAIDs). Chronische diarree wordt frequent veroorzaakt door een parasitaire infestatie of zandimpactie, en in zeldzame gevallen door een tumoraal proces of door Chronic Inflammatory Bowel Disease (CIBD). Acute gevallen kunnen ook chronisch van aard worden indien een ernstige ontsteking van het colon met beschadiging van de darmwand zich voordoet (Chapman, 2009).

1.2.1 Infectieuze oorzaken van diarree

1.2.1.1 Kleine strongyliden infestatie

De kleine strongyliden of cyathostominae worden oraal opgenomen in de weide als L3 larve. Deze larven penetreren de mucosa of submucosa van de darmwand van het colon en caecum met eventuele inkapseling. De immature wormen kunnen overgaan tot een rusttoestand of hypobiose. Deze geïnhibeerde larven komen later massaal vrij en ontwikkelen zich tot een L4 larve, welke naar het darmlumen migreert en hier volwassen wordt. Dit massaal vrijkomen van grote hoeveelheden

larven vindt plaats in de late winter en vroege lente, en wordt daarom wintercyathostominose genoemd. De voornaamste symptomen zijn diarree, snel en ernstig gewichtsverlies, koorts, koliek en zelfs sterfte als gevolg van een uitgebreide typhlocolitis. Slechts 40% van de geïnfecteerde dieren met een acute diarree ten gevolge van larvale cyathostominae overleven, zelfs indien deze behandeld worden met een geschikt anthelminticum en ondersteunende therapie krijgen. Adulten in het darmlumen kunnen in geval van een massale infectie ook schade berokkenen aan de darmwand, waardoor ulcera ontstaan. Deze vorm gaat gepaard met conditieverlies en eventueel chronische diarree in de zomer, en wordt zomercyathostominose genoemd. Jonge paarden zijn gevoeliger voor een infectie met cyathostominae, maar er is geen ontwikkeling van immuniteit waardoor paarden levenslang vatbaar blijven. Klinische tekenen van cyathostominose kunnen bijgevolg gedurende elk seizoen bij paarden van alle leeftijden voorkomen (Corning, 2009; Koch, 2009).

1.2.1.2 Bacteriële infectie

1.2.1.2.1 Salmonellosis

Salmonellosis verwijst naar een klinische ziekte resulterend uit een infectie met verschillende serovars van *Salmonella enterica spp. enterica*. *Salmonella* infecties kunnen bij paarden van alle leeftijden voorkomen en de ernst van de ziekte varieert van een milde asymptomatische kolonisatie tot een ernstige systemische ziekte. Klinisch gezonde paarden (dragers) kunnen voorbijgaand *Salmonella* spp. in de faeces uitscheiden en aldus een bron van infectie voor andere dieren vormen. De infectie start hoofdzakelijk in het gastro-intestinaal stelsel: *Salmonella* spp. kunnen de faryngeale, intestinale, en colonmucosa invaderen. Vervolgens kunnen de bacteriën zich verspreiden via de mucosa naar het lymfoïd weefsel en de bloedbaan. Geproduceerde toxines beschadigen gastheercellen, stimuleren vloeistof secretie in het gastro-intestinaal stelsel of veroorzaken een ernstige cardiovasculaire stoornis. De meeste paarden vertonen een acute, waterige diarree ten gevolge van een enterocolitis. Andere symptomen zijn koorts, lethargie en koliek. Het cardiovasculair systeem kan eveneens onderdrukt zijn door de dehydratie (Spier, 1993; Traub-Dargatz, 2009).

1.2.1.2.2 Clostridiose

Clostridium difficile en *Clostridium perfringens* zijn algemene oorzaken van enterocolitis bij paarden. De *Clostridium* spp. kunnen oraal opgenomen worden of zijn reeds in lage aantallen aanwezig in het gastro-intestinaal kanaal. Risicofactoren voor een verstoring van de normale gastro-intestinale flora zijn behandeling met antibiotica (vb. trimethoprim/sulfamethoxazole), stress, en gastro-intestinale of andere ziektes. Deze verstoring kan leiden tot een vermenigvuldiging van *Clostridium* bacteriën, waarbij deze toxines produceren. De toxines beschadigen darmwandcellen, wat resulteert in enterocolitis. Clostridiose kan klinisch niet onderscheiden worden van salmonellosis. Een *Clostridium* infectie kan variëren van subklinisch tot een ernstige enterocolitis of systemische ziekte met acute sterfte. Diarree (al dan niet met bloedbijmenging), milde tot ernstige koliek, koorts of plotse sterfte kunnen waargenomen worden (Båverud et al., 1997; Arroyo & Weese, 2009).

1.2.1.2.3 *Lawsonia intracellularis* infectie

Een darminfectie met *Lawsonia intracellularis* geeft aanleiding tot een proliferatieve enteropathie, wat resulteert in gewichtsverlies, lethargie, ventraal oedeem, koorts en eventueel diarree en koliek. *Lawsonia intracellularis* tast hoofdzakelijk veulens van 3-12 maand aan, maar in zeldzame gevallen kunnen ook volwassen paarden geïnficeerd zijn. *Lawsonia intracellularis* wordt vermoedelijk oraal opgenomen en invadeert vervolgens de enterocyten. Deze geïnficeerde cellen delen overmatig wat in een hyperplasie van de darmwand resulteert. De verdikking van de darmwand veroorzaakt een verminderde absorptiecapaciteit met eiwitverlies ter hoogte van de darm tot gevolg. Hierdoor ontstaat een hypoproteïnemie en ventraal oedeem. De infectie geeft tevens aanleiding tot een verminderde enzymatische activiteit waardoor koolhydraten niet goed verteerd worden. Ten gevolge van de daarop volgende overmaat aan koolhydraten in de dikke darm treedt een osmotische diarree op (Vyncke et al., 2012; Frazer, 2014).

1.2.2 Niet infectieuze oorzaken van diarree

1.2.2.1 Malabsorptie ter hoogte van de dunne darm

Bij een malabsorptie ter hoogte van de dunne darm wordt de overdracht van nutriënten van het intestinale lumen naar de bloedbaan verhinderd. In zeldzame gevallen kan het colon aangetast zijn. Een voorbijgaande malabsorptie kan optreden bij een enteritis veroorzaakt door virale of bacteriële (*Lawsonia intracellularis*) agentia. Een chronische malabsorptie wordt veroorzaakt door parasieten (*Strongylus spp.*), Inflammatory Bowel Disease, amyloidose en neoplasie. Malabsorptie wordt veroorzaakt door verlies aan intestinaal absorptie-oppervlak ten gevolge van villus atrofie. Snel gewichtsverlies, vertraagde groei en diarree komen voor bij een voorbijgaande malabsorptie. Deze problemen verdwijnen wanneer de infectie en het immuunsysteem hersteld zijn en de darmen hun normale structuur en functie terug krijgen. Symptomen van een chronische malabsorptie zijn vermageren, diarree en hypoproteïnemie. Deze symptomen blijven aanhouden, maar de progressie en ernst kan variëren (Kenney, 2009).

1.2.2.2 NSAID-geïnduceerde colitis

NSAID-geïnduceerde colitis of rechter dorsale colitis is een ulceratieve ontsteking ter hoogte van het rechter dorsaal colon welke geassocieerd wordt met het toedienen van niet-steroïdale ontstekingsremmers. De aandoening treft hoofdzakelijk paarden welke gedehydrateerd of toxemisch zijn. De toxiciteit van NSAIDs is afhankelijk van de cyclooxygenase (COX) selectiviteit van het gebruikte product, de dosering en de duur van de behandeling. NSAIDs inhiberen de COX enzymen, waarvan er 2 gekende isovormen zijn: COX-1 medieert prostaglandine E2 celbescherming in het gastro-intestinaal kanaal; COX-2 is de isovorm welke verantwoordelijk is voor de productie van prostaglandines geassocieerd met een ontsteking. Geneesmiddelen zoals fenylbutazone, welke proportioneel meer inhibitie van COX-1 dan van COX-2 veroorzaken, kunnen een vermindering in celbeschermende effecten veroorzaken. Dit resulteert in een hypoxische of ischemische schade aan de mucosa. Het gastro-intestinaal stelsel en de nieren zijn het vaakst aangetast. NSAID-veroorzaakte letsels in het gastro-intestinaal stelsel kunnen overal voorkomen, maar het rechter dorsale colon blijkt het meest gevoelig. De acute vorm van rechter dorsale colitis kan resulteren in een profuse diarree,

ernstige koliek, dehydratatie, endotoxische shock en zelfs sterfte. De chronische vorm varieert van milde tot ernstige intermitterende koliek, ventraal oedeem en gewichtsverlies met of zonder diarree (Galvin et al., 2004; Davis, 2015).

1.2.2.3 Antibiotica geïnduceerde diarree

De meest voorkomende bijwerking geassocieerd met het gebruik van antibiotica is antibiotica geïnduceerde diarree. Antibiotica wijzigen de normale microbiële flora, waardoor andere bacteriën de darmwand kunnen koloniseren. Hierdoor kunnen opportunistische of pathogene species van de normale flora of micro-organismen van de omgeving vermeerderen en zich vestigen in de darm, wat kan leiden tot toxineproductie en ontsteking van de darmmucosa. Bovendien treden er veranderingen in de normale metabole functies van de microflora op, wat resulteert in de verstoring van het koolhydraat-, vluchtige vetzuren-, en galzuurmetabolisme. Dit leidt tot een verhoogde gastro-intestinale watersecretie en verminderde waterabsorptie waardoor een osmotische diarree optreedt. De verstoring van de flora gebeurt enkele dagen na de toediening van antibiotica (Oliver & Stämpfli, 2006; Stratford & McGorum, 2014).

1.2.2.4 Chronische zandimpactie

Sedimentatie van opgenomen zand in het colon en caecum leidt tot impactie en mucosale irritatie. Paarden nemen zand op tijdens het grazen op schrale weides. Sommige paarden, voornamelijk veulens, ontwikkelen pica en eten bewust zand. Het opgenomen zand sedimenteert en kan zich opstapelen ter hoogte van het colon. Dit kan leiden tot een impactie, met een partiële of volledige obstructie tot gevolg. Fijn zand heeft de neiging om zich in het ventraal colon op te stapelen, terwijl grof zand zich eerder in het dorsaal en het transversaal colon opstapelt. Abdominale pijn (koliek) wordt veroorzaakt door uitzetting van de darm ter hoogte van de impactie, ophoping van voedsel en gas proximaal van de obstructie, en door reflexmatige intestinale spasmes gestimuleerd door de uitzetting. Chronische irritatie van de darmwand en vermindering van het absorberend oppervlak leidt tot een verstoring van de normale waterabsorptie in het colon en leidt tot diarree (Wilson & le Jeune, 2009).

1.2.2.5 Inflammatory Bowel Disease

De term 'Inflammatory Bowel Disease' (IBD) is een verzamelnaam voor verschillende chronische ontstekingen van het maag-darmstelsel: de ziekte wordt gekenmerkt door een infiltratie van ontstekingscellen (lymfocyten, plasmacellen, macrofagen en eosinofielen) in de darmwand. De oorzaak is grotendeels onbekend, maar waarschijnlijk ligt een afwijkende reactie van het immuunsysteem op bepaalde antigenen (voedsel, parasieten, bacteriën, virussen) aan de basis. Er wordt een onderscheid gemaakt tussen granulomateuze enteritis, idiopathische eosinofiele enterocolitis, multisystemische eosinofiele epitheliotrope aandoening en lymfocytair-plasmacytair enteritis. Deze darmontstekingen resulteren in een malabsorptie en eiwitverlies ter hoogte van de darm. Voorkomende symptomen zijn chronisch of intermitterend platte mest, chronisch vermageren en recidiverende koliek (Schumacher et al., 2000).

1.2.2.6 Idiopathische colitis

Een ontsteking van het caecum (typhlitis), het colon (colitis) of beide (typhlocolitis) kunnen optreden en wordt algemeen 'colitis' genoemd. Wanneer de colonwand geïrriteerd is, verliest het zijn functie en aldus de mogelijkheid om water op te nemen vanuit het darmlumen. Bij paarden leidt dit vaak tot een plots en massaal vochtverlies met een ernstige elektrolytenverstoring. Dit kan in enkele uren tot de dood leiden. Colitis kan door meerdere problemen veroorzaakt zijn, doch in slechts 20% van de gevallen wordt er een definitieve diagnose bekomen. De meest voorkomende oorzaken van typhlocolitis zijn snelle voedselwijzigingen en overgroei van ongewenste micro-organismen (vnl. *Salmonella* spp. en *Clostridium* spp.). Colitis wordt voornamelijk veroorzaakt door zandopname en toxiciteit door niet-steroïdale ontstekingsremmers en typhlitis door een parasitaire infestatie met kleine strongyliden. Indien geen oorzaak wordt vastgesteld, wordt er van idiopathische colitis of colitis-X gesproken. Vaak begint de aandoening zeer acuut met een profuse waterige diarree, gevolgd door een ernstige dehydratatie en hypovolemische shock (Oliver & Stämpfli, 2009; McConnico, 2014).

1.3 DIAGNOSE

Diagnose van de oorzaak van diarree gebeurt door een nauwkeurige anamnese, klinisch onderzoek en aanvullende onderzoeken. Rectaal onderzoek is een aanvullend onderzoek dat meer duidelijkheid kan brengen: door palpatie van de abdominale organen kan een liggingsverandering en/of impactie vastgesteld worden. Ook echografisch onderzoek van het abdomen is een waardevolle techniek, dit om de dikte van de darmwand (oedeem), de contractiliteit (hypo- of hypercontractiel) en de echogeniciteit te beoordelen (Fearly & Hassel, 2006).

Bij vermoeden van een infectieuze oorzaak wordt een mestonderzoek uitgevoerd. Met de McMaster methode op een meststaal kunnen wormeieren van de grote en de kleine strongyliden aangetoond worden. Door een telling van het aantal wormeieren (EPG = aantal eieren per gram mest) kan de infectiegraad bepaald worden. De aanwezigheid van cyathostominae larven (LPG = aantal larven per gram mest) in de mest wijst op wintercyathostominose (Stratford et al., 2011). Wanneer het paard verdacht is van een bacteriële oorzaak van diarree, kan bacteriologie op een meststaal uitgevoerd worden. Voor *Salmonella* spp. dient dit te gebeuren op meerdere meststalen omwille van de intermitterende uitscheiding. Bij *Clostridium* infecties is de specificiteit van een bacteriologisch mestonderzoek laag, waardoor vaak gebruik wordt gemaakt van andere diagnostische testen. *Clostridium difficile* kan aangetoond worden door het opsporen van zijn geproduceerde toxines (toxine A of B) via PCR, ELISA of celcultuur cytotoxine assay op een meststaal. Het gen dat instaat voor toxineproductie door *Clostridium perfringens* kan aangetoond worden via multiplex PCR (Wierup & DiPietro, 1981; Arroyo & Weese, 2009). *Lawsonia intracellularis* wordt gediagnosticeerd door PCR onderzoek op mest in combinatie met de bepaling van antistoffen op een serumstaal (Frazer, 2014).

Bij niet infectieuze oorzaken is vooral de anamnese richtinggevend. Indien uit de anamnese blijkt dat het paard vatbaar is voor zandenteropathie kan de diagnose eenvoudig gesteld worden door mest te nemen met een rectale handschoen, en vervolgens de mest op te lossen in water. Na een aantal uur

zal het zand naar de bodem zakken. Indien deze techniek de diagnose niet bevestigt, kan een abdominale echografie en/of radiografie uitgevoerd worden (Wilson & le Jeune, 2009). Indien het paard behandeld werd met NSAIDs aan een hoge dosis of gedurende een langere tijd, is dit een indicatie voor NSAID-geïnduceerde colitis. Definitieve diagnose is vaak pas mogelijk bij visualisatie van de letsels bij laparotomie (Davis, 2015). Als uit de medische geschiedenis blijkt dat het paard behandeld werd met antibiotica, moet aan een antibiotica geïnduceerde diarree gedacht worden (Stratford & McGorum, 2014). Een malabsorptie ter hoogte van de dunne darm wordt gezien bij diarree in combinatie met snel gewichtsverlies. Malabsorptie kan gediagnosticeerd worden door een orale glucose tolerantietest (OGTT) (Kenney, 2009). De vermoedelijke diagnose van een Inflammatory Bowel Disease kan gesteld worden door uitsluiting van andere aandoeningen in combinatie met abdominale echografie, de definitieve diagnose wordt uitgevoerd door het nemen van een darmbiopsie (Schumacher et al., 2000).

Laboratoriumtesten op bloed zijn ook belangrijk om de graad van systemische ziekte te beoordelen. De hematocriet en het totaal eiwit gehalte zijn vaak initieel hoog en wijzen op de ernst van dehydratatie. Een totaal eiwit gehalte dat binnen of onder de grens ligt bij klinisch gedehydrateerde paarden met een hoge hematocriet, wijst op een algemeen eiwitverlies. Paarden in een latere fase van acute colitis kunnen een hoge fibrinogeenconcentratie hebben en neutrofiële leukocytose, wat op een algemene ontstekingsrespons wijst (McConnico, 2014).

1.4 BEHANDELING

De behandeling hangt af van de oorzaak. Stress geïnduceerde diarree vereist geen behandeling. Colitis moet onmiddellijk behandeld worden en vereist vaak hospitalisatie. In eerste instantie worden vloeistof en elektrolyten toegediend. Wanneer de patiënt gestabiliseerd is, kunnen bijkomende behandelingen nodig zijn. Ondersteunende en curatieve therapie berust op het corrigeren van de zuur-base balans, behandelen van de hypoproteïnemie (plasma), controle van de ontsteking en analgesie (ontstekingsremmers), controle van endotoxines (polymyxine B sulfaat), mucosale bescherming en herstel van de flora (probiotica, transfaunatie, dieetwijziging), en het gebruik van antimicrobiële middelen (antibiotica, anthelmintica). Een ernstige colitis heeft een hoge kans op complicaties zoals laminitis, thromboflebitis en ernstig gewichtsverlies, hiervoor kan preventief behandeld worden. De prognose is slecht bij paarden welke ernstige, systemische symptomen vertonen of afwijkende bloedwaarden hebben (Fearly & Hassel, 2006; Oliver & Stämpfli, 2006; McConnico, 2014).

2. HET GEBRUIK VAN GEZONDHEIDSBEVORDERENDE MIDDELEN

2.1 DE INTESTINALE FLORA VAN HET PAARD

In het colon en caecum van het paard wordt het voedsel gefermenteerd en verteerd door de intestinale microbiota. Deze microbiota, bestaande uit bacteriën, protozoa en schimmels, heeft een enorme impact op de gezondheid en het prestatievermogen van het dier. De microbiota van het gastro-intestinaal stelsel van elk paard is uniek, en de flora varieert zelfs naargelang het darmsegment

(Fraga et al., 2011; Costa et al., 2015). Bij gezonde dieren domineren echter bepaalde bacteriesoorten. In 46 tot 70% van de gevallen domineren de *Firmicutes*. Ook *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, en *Spirochaetes* komen regelmatig voor. Indien een gastro-intestinale ziekte opduikt, zal de microbiële flora verschuiven. Dit laatste wordt ook wel een dysbiose genoemd. Gezonde paarden hebben een grotere hoeveelheid van *Actinobacteria* en *Spirochaetes*, terwijl paarden met diarree een grotere hoeveelheid *Fusobacteria* en *Bacteroidetes* hebben. Verschuivingen in de microbiota worden bij paarden hoofdzakelijk geassocieerd met acute colitis, laminitis en grass sickness (Costa et al., 2012; Schoster et al., 2014).

Behandelingsmethoden zoals prebiotica, probiotica en transfaunatie worden gebruikt om de microbiële flora te manipuleren. Het doel is om ziekte te verminderen en te elimineren (Schoster et al., 2014).

2.2 PREBIOTICA

Prebiotica zijn voedselbestanddelen die selectief de groei en/of activiteit van één of een beperkt aantal gunstige bacteriën in de dikke darm bevorderen, en daardoor de gezondheid van de gastheer positief beïnvloeden. De meest gebruikte prebiotica zijn koolhydraten: de gunstige bacteriën gebruiken deze koolhydraten voor hun eigen groei en vermenigvuldiging en kunnen zo de microbiële flora reguleren (Roberfroid, 2000). Psylliumzaad is een frequent gebruikt prebioticum in de paardengeneeskunde, hoofdzakelijk ter preventie of bij de behandeling van zandenteropathie (Landes et al., 2008).

2.3 PROBIOTICA

Probiotica zijn levende micro-organismen welke oraal als supplement toegediend worden en een gezondheidsbevorderende werking hebben door het microbiële evenwicht in de darm te verbeteren. Hun positief effect kan verkregen worden door de productie van antimicrobiële componenten welke intestinale pathogenen elimineren, door stimulatie van de algemene immuniteit of door het vermijden van kolonisatie van pathogenen ter hoogte van het gastro-intestinaal kanaal (Bermudez-Brito et al., 2012). In Europa zijn er vier commerciële producten toegelaten voor het gebruik bij paarden. Biosprint®, Levucell® SC en Yea Sacc® bevatten *Saccharomyces cerevisiae*, wat de vertering van vezels bevordert. ColiCure® bevat *Escherichia coli*, wat de faecale consistentie en geur bevordert. Ondanks de wijdverspreide beschikbaarheid en het gebruik, is een wetenschappelijk onderbouwd bewijs van het effect van deze commerciële producten bij paarden beperkt. *In vitro* zijn de effecten wel bewezen, maar *in vivo* is het moeilijker te bewijzen. Een verbeterde kennis van de activiteit van de darmflora en functionele interacties tussen de darmmicrobiota en gastheercellen zijn fundamenteel voor toekomstig onderzoek naar probiotica (Médina et al., 2002; Chaucheyras-Durand & Durand, 2010; Schoster et al., 2014).

2.4 TRANSFAUNATIE

2.4.1 Definitie

Transfaunatie is de overdracht van faecaal materiaal van een gezond individu naar een ontvanger. Dit faecaal materiaal bevat bacteriën en natuurlijke producten die de groei en vermeerdering van bepaalde bacteriën kunnen beïnvloeden. Er kan aldus een aanpassing en herstel van de microflora bekomen worden. Andere benamingen in de humane geneeskunde zijn faecale microbiële transplantatie (FMT), faecale bacteriotherapie, faecale transfusie, faecaal transplantaat, faecaal enema en humane probiotische infusie (HPI). Het idee van transfaunatie is gebaseerd op coprofagie (consumptie van faeces), wat bij verschillende diersoorten voorkomt. Hierdoor treedt er een versnelde ontwikkeling van het gastro-intestinaal kanaal op, is er een verbeterde resistentie tegen kolonisatie door pathogenen en is er een verbeterde vertering van voedingsstoffen (Borody et al., 2013; Brandt & Aroniadis, 2013). In de veterinaire geneeskunde wordt transfaunatie frequent toegepast bij herkauwers en paarden. Transfaunatie van de pens wordt aangewend bij spijsverteringsproblemen, maar kan ook ondersteunend toegepast worden na chirurgie ter hoogte van de lebmaag (Rager et al., 2004; DePeters & George, 2014). De voornaamste indicatie bij paarden is diarree. Diarree gaat gepaard met een dysbiose (wijziging van de microbiële flora) waarbij pathogene micro-organismen de overhand krijgen. Door te transfauneren kan terugkeer van de normale gastro-intestinale flora bekomen worden (Naylor & Dunkel, 2009). Er zijn slechts enkele anectodische bewijzen dat transfaunatie een effect heeft bij paarden (McGovern, 2013). In de humane geneeskunde is op dit ogenblik de efficiëntie van faecale microbiële transplantatie enkel bewezen bij recidiverende *Clostridium difficile* infecties (Gough et al., 2011; Cammarota et al., 2014). Bij andere ziektes zoals colitis, constipatie, Irritable Bowel Syndrome en bepaalde neurologische aandoeningen bevindt het zich nog in een experimenteel stadium en mag dan enkel gebruikt worden in het kader van wetenschappelijk onderzoek (Vrieze et al., 2013).

2.4.2 Actiemechanisme

De hypothese achter transfaunatie is nog niet volledig gekend, maar steunt waarschijnlijk op het mechanisme van bacteriële interferentie. Bij transfaunatie worden onschadelijke bacteriën gebruikt die in competitie met pathogene micro-organismen gaan. De geïntroduceerde flora in het gastro-intestinaal stelsel produceert antimicrobiële agentia, concurreert voor nutriënten met pathogenen, verhindert of inactieveert bacteriële toxines en produceert bacteriocines en korte-keten vetzuren welke groei van bepaalde pathogene micro-organismen remmen, waardoor deze verdrongen worden (Brook, 1999; Kamada et al., 2013). Zo werd van *Bacillus thuringiensis* aangetoond dat ze bacteriocines specifiek voor *Clostridium difficile* produceert (Rea et al., 2011). Als de toegediende flora aanslaat, heeft ze een duurzaam effect op het gastro-intestinaal stelsel en werkt ze preventief tegen bepaalde infecties (Grehan et al., 2010).

2.4.3 Proces van transfaunatie

2.4.3.1 Donorselectie

Het is van groot belang om donoren van faecaal materiaal nauwkeurig te screenen en te selecteren. Pathogenen en/of antigenen kunnen eveneens overgedragen worden en aldus ziekte veroorzaken bij de patiënt. Donorselectie is complex in de humane geneeskunde, waar mogelijke donoren bevraagd worden op tal van onderwerpen waaronder reisgeschiedenis, seksueel gedrag, eerdere operaties, bloedtransfusies en andere factoren die het risico op overdracht van ziekten doen toenemen. Er wordt tevens informatie bekomen over de familiegeschiedenis van auto-immune en metabole aandoeningen alsook over tumoren. Eens een donor geselecteerd is, wordt bloed en faeces onderzocht op pathogenen en/of antigenen (Brandt & Aroniadis, 2013; Smits et al., 2013; Petrof & Khoruts, 2014). Bij paarden en andere huisdieren is de selectie van potentiële donoren veel minder uitgebreid. De donordieren op de Universiteit Gent worden nauwkeurig ontwormd en moeten in goede gezondheid verkeren. Ze mogen geen voorafgaande antibiotica behandeling gehad hebben en moeten vrij zijn van ziekten (oa. *Salmonella*). Het dieet van het dier speelt eveneens een rol, aangezien deze een grote invloed heeft op de microbiële flora van het gastro-intestinaal stelsel (Daly et al., 2012).

2.4.3.2 Preparatie van het transfaunatiemateriaal

Op de Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent staan proefpaarden die goedgekeurd zijn als donor. Vlak voor het uitvoeren van de transfaunatie worden verse faeces rectaal van de donor verzameld. Vervolgens wordt 500 gram faeces opgelost in drie tot vier liter lichaamswarm water (37-38°C). De faeces worden hierbij gezeefd opdat grote voedselpartikels verwijderd worden. Er wordt aldus een transfaunatievloeistof bekomen. Bijkomend wordt soms Biosponge® toegevoegd, wat de maagdarmfunctie ondersteunt in geval van diarree. Biosponge® (DTO-smectite) is een natuurlijk gehydrateerd aluminiummagnesium silicaat welke substanties zoals endotoxines en exotoxines capteert (Feary & Hassel, 2006). In de literatuur wordt vermeld dat caecum inhoud van recent gestorven paarden eveneens gebruikt kan worden voor de bereiding van een transfaunatievloeistof. Hierbij is het van groot belang dat het gestorven dier in goede gezondheid verkeerde en niet aan een infectieuze en/of gastro-intestinale ziekte leed. De transfaunatievloeistof zou ook ingevroren kunnen worden bij -20°C voor lange termijn opslag, maar de effectiviteit hiervan werd nog niet bestudeerd (Feary & Hassel, 2006).



Figuur 1: A) Verse faeces worden rectaal van een donor verzameld. B) De faeces (500 gram) worden opgelost en gezeefd in drie liter lichaamswarm water. C) De bereide transfaunatievloeistof.

2.4.3.3 Toedieningsroutes

Bij paarden gebeurt de toediening van een transfaunatievloeistof via een neusslokdarmsonde, dit zo snel mogelijk na de bereiding. Hoe langer er gewacht wordt, hoe meer protozoa afsterven wegens een daling van de temperatuur. Dit leidt tot een vermindering van de fermentatie eigenschappen van de transfaunatievloeistof (DePeters & George, 2014). Onderzoek is echter nodig op de optimale wijze van toediening te bepalen. Via een neusslokdarmsonde moet de transfaunatievloeistof echter via verschillende barrières (maagzuur ter hoogte van de maag, enzymen ter hoogte van de de dunne darm) welke de doeltreffendheid van de vloeistof kunnen verminderen (Feary & Hassel, 2006). Bij humane patiënten kan dit door middel van een enema, een orogastrische tube, gastroduodenoscopie, colonoscopie of oraal in de vorm van een capsule welke gevriesdroogd materiaal bevat (Brandt & Aroniadis, 2013; Owens et al., 2013; Smits et al., 2013).

2.4.3.4 Kwaliteitseisen

In de veterinaire geneeskunde zijn er voorlopig nog geen strak omliggende kwaliteitseisen. De transfaunatie kan door een dierenarts uitgevoerd worden op het bedrijf zelf. Meer onderzoek is nodig om het proces te standaardiseren, zodat een optimale bereiding, opslag en wijze van toediening gegarandeerd wordt. In de humane geneeskunde dient de bereiding van de suspensie te gebeuren in gestandaardiseerde, gecontroleerde en gevalideerde omstandigheden. De donatie en de transplantatie moeten in een ziekenhuis plaatsvinden. Alle personen die betrokken zijn, moeten over de nodige vakbekwaamheid beschikken en hiervoor de nodige opleiding krijgen. De centralisatie van faecaal materiaal in banken biedt grote voordelen inzake veiligheid (met inbegrip van traceerbaarheid) en kwaliteit (Brandt & Aroniadis, 2013).

3. ONDERZOEK

3.1 DOELSTELLING VAN DE MASTERPROEF

De algemene doelstelling van deze masterproef is het nagaan of transfaunatie bij het volwassen paard een effect heeft op de genezing van het dier bij bepaalde types diarree. Specifiek geformuleerde doelstellingen zijn:

1. Het effect van transfaunatie en andere predictoren op de tijd tot terug vast worden van de mest bestuderen bij paarden aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde.
2. Het effect van transfaunatie en andere predictoren op de tijd tot het optreden van sterfte bestuderen bij paarden aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde.

3.2 MATERIAAL EN METHODEN

3.2.1 **Studieontwerp en selectiecriteria**

Een retrospectieve cohortstudie is uitgevoerd met tot doel het bepalen van de overlevingscurve van volwassen paarden aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde, en het identificeren van risicofactoren met het vast worden van mest (genezing) en met overleving. De database van Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent werd hiervoor doorzocht voor gevallen van diarree

gezien door de vakgroep Inwendige Ziekten tussen 1 januari 2008 tot en met 30 juni 2015. Alle patiënten aangeboden met diarree werden initieel verzameld. De originele database bevat 376 patiënten. Veulens jonger dan 6 maand werden niet in de studie betrokken, aangezien veulendarree een apart gegeven is. Indien het paard op dag van aankomst op de kliniek geëuthanaseerd werd of spontaan gestorven is, werd deze uit de studie gehaald. Het is niet relevant deze paarden in de studie op te nemen omdat er bij deze dieren geen behandeling op de Faculteit werd ingesteld. Paarden die met een andere primaire klacht (bv. koliek) op de Faculteit aangeboden werden en in tussentijd diarree ontwikkelden, zijn niet in deze studie opgenomen. Ook paarden met diarree die onderzocht werden maar niet op de Faculteit verbleven voor verdere behandeling, zijn eveneens uit de studie geweerd. De uiteindelijke database bestaat uit 162 paarden welke als hoofdsymptoom diarree hebben. Volgende informatie werd verkregen vanuit het archief: signalement (leeftijd, geslacht, ras, gewicht), anamnese (duur van de diarree, reeds ingestelde behandeling thuis), bevindingen op algemeen onderzoek, bloedwaarden (hematocriet, leukocyten gehalte, totaal eiwit gehalte), diagnose (uitslag bacteriologisch en parasitologisch onderzoek), ingestelde behandeling op de Faculteit Diergeneeskunde, duur van transfaunatie, afloop (genezing, geen genezing, spontane sterfte, euthanasie), en duur van hospitalisatie.

3.2.2 Statistische analyse

Vaste mest wordt gedefinieerd als de eerste mest die terug vaster van consistentie wordt, na een episode van diarree. Tijd tot vaste mest wordt gedefinieerd als het aantal dagen verstreken tussen aankomst en het bekomen van vaste mest op de Faculteit Diergeneeskunde. Sterfte betekent dat paarden aangeboden met diarree tijdens hun aanwezigheid op de Faculteit geëuthanaseerd werden of gestorven zijn. Tijd tot sterfte wordt gedefinieerd als het aantal dagen verstreken tussen aankomst en tot sterfte tijdens hun aanwezigheid op de Faculteit. Het produceren van vaste mest en het optreden van sterfte werden na het verlaten van de Faculteit niet bestudeerd.

In een eerste stap werd een univariabele associatie tussen predictoren en uitkomst variabelen (vaste mest 0/1, sterfte 0/1) bepaald door middel van de Chi-Square test en lineaire regressie voor categorische en continue predictoren.

Om de relatie tussen de verschillende predictoren en het respectievelijk bekomen van vaste mest en het optreden van sterfte aan te tonen, werden Kaplan-Meier curves gemaakt en werd een univariabele analyse met Log-Rank test uitgevoerd. De tijd tot respectievelijk vaste mest en sterfte werd gebruikt als de tijdsvariabele. De gebeurtenis werd in het eerste model gedefinieerd als het bekomen van vaste mest en in het tweede model als het optreden van sterfte. Rechtse censoring werd uitgevoerd op de dag dat de dieren uit de kliniek zijn ontslagen. Op basis van de stalfiches en de patiëntenfiches werden 22 predictoren verzameld, nl. geslacht (hengst, merrie, ruïn), ras (warmbloed, koudbloed, volbloed, pony), leeftijd (per maand), gewicht (per kilogram), duur van de diarree thuis (per dag), diagnose (onbekend, parasitair, andere), bloedparameters (hematocriet, leukocyten gehalte, totaal eiwit gehalte), behandelingen thuis (toediening van antibiotica en/of corticoïden), behandelingen

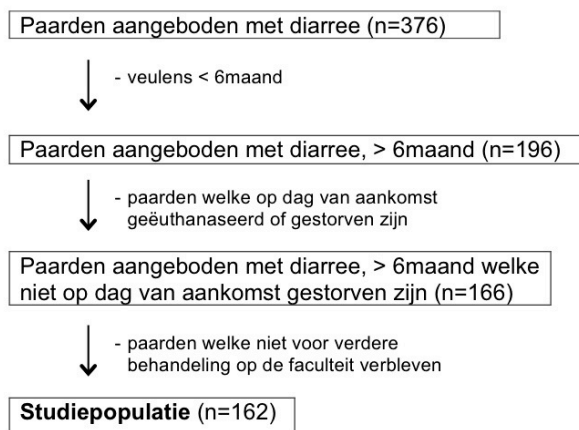
kliniek (transfaunatie, toedienen van antibiotica, corticoïden, Biosponge®, Yeasacc®, clioquinone, en/of psylliumzaad), productie van vaste mest (0/1), optreden van sterfte (0/1) en duur van hospitalisatie (per dag). Een multivariabel Cox Regressie model werd gebouwd (backward elimination) met alle predictoren die in de univariabele analyse een *P*-waarde kleiner dan 0,20 hadden. De Hazard Ratio (HR) en 95% Confidentie Interval (95% CI) werden berekend. In de multivariabele modellen werd significantie op *P*-waarde <0,05 gezet en een *P*-waarde <0,10 werd beschouwd als een trend. Interacties tussen significante hoofdfactoren werden getest (Chi-Square test). Bij continue predictoren werd een optimale afkapwaarde bepaald aan de hand van de *Receiver Operating Characteristic curve* (ROC-curve).

3.3 RESULTATEN

3.3.1 Descriptieve analyse

3.3.1.1 De studiepopulatie

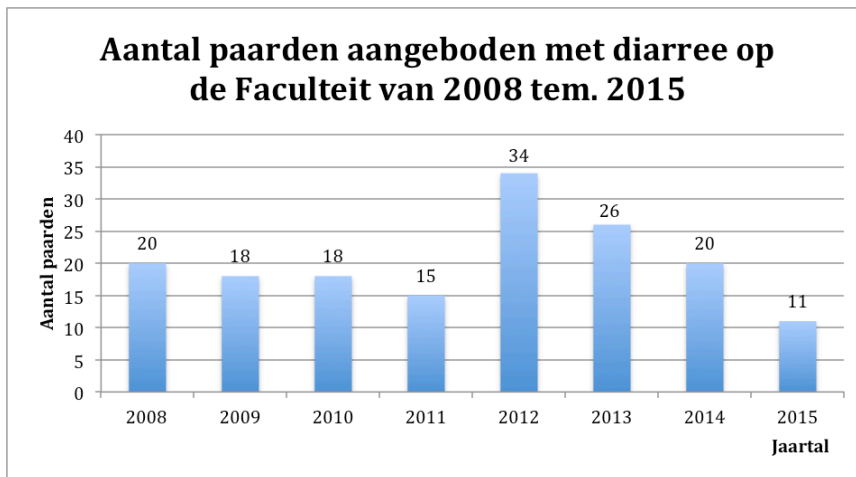
De inclusiecriteria voor deze studie zijn reeds beschreven (zie 3.2.1 Studieontwerp en selectiecriteria). In figuur 2 volgt een overzicht van de samenstelling van de dataset.



Figuur 2: Samenstelling van de dataset

3.3.1.2 Aantal aangeboden paarden

Het aantal aangeboden paarden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde varieert naargelang het jaartal. Van 2008 tot en met 2011 liep het aantal aangeboden paarden ongeveer gelijk. In 2012 steeg dit aantal naar 34 paarden. Vanaf 2013 zakte het aantal terug. In 2015 waren er tot eind juni 11 paarden toegekomen.



Grafiek 1: Aantal paarden aangeboden op de Faculteit Diergeneeskunde van 1 januari 2008 tot en met 30 juni 2015. De waardes boven de kolommen geven het aantal paarden weer.

3.3.1.3 Signalement

In de studie werden 162 paarden opgenomen, aangeboden met diarree als hoofdklacht. De gemiddelde leeftijd van de aangetaste dieren is 8 jaar, 0 maand en 15 dagen (range 0 jaar, 6 maand, 1 dag – 26 jaar, 6 maand, 8 dagen). De leeftijd werd in deze studie weergegeven in maanden. Er zijn 33 hengsten, 48 ruinen en 81 merries. De rassen vertegenwoordigd in deze studie zijn Belgisch Warmbloed Paard (n=28), Shetlandpony (n=14), Warmbloed (n=12), Belgisch Trekpaard (n=11), Selle Français (n=10), Fries (n=7), Zangersheide (n=6), Miniatuurpaard (n=6), Haflinger (n=5), Franse Draver (n=5), Tinker (n=5), Arabische Volbloed (n=5), Koninklijk Warmbloed Paard Nederland (n=3), Engelse Volbloed (n=3), Anglo-arabier (n=2), Fjordenpaard (n=2), Quarter Horse (n=2), American Paint Horse (n=2), Duits sportpaard (n=2), Oldenburger (n=1), Welsh Pony (n=1), Trait du Nord (n=1), Dartmoor Pony (n=1), kruising van paardenrassen (n=3), andere pony's (n=11) en 14 paarden waarvan het ras niet vermeld werd. Deze rassen werden onderverdeeld in 4 categorieën, nl. warmbloed (n= 74; Belgisch Warmbloed Paard, Warmbloed, Selle Français, Zangersheide, Franse Draver, Koninklijk Warmbloed Paard Nederland, Quarter Horse, American Paint Horse, Duits sportpaard, Oldenburger, kruising van paardenrassen), koudbloed (n=31; Belgisch Trekpaard, Fries, Haflinger, Tinker, Fjordenpaard, Trait du Nord), volbloed (n=10; Arabische Volbloed, Engelse Volbloed, Anglo-arabier) en pony (n=34; Shetlandpony, Miniatuurpaard, Welsh Pony, Dartmoor Pony, andere pony's).

3.3.1.4 Anamnese

Uit de anamnese werd de duur van diarree bekomen: dit is de tijd vanaf de eerste dag waarop het paard diarree heeft tot de dag voor vertrek naar de Faculteit. Gemiddeld bedraagt deze 9,2 dagen (range 0-153 dagen). Bij dit gemiddelde werden paarden met een intermitterende diarree gedurende maanden (n=22) niet verrekend, aangezien er geen exacte duur van diarree gekend is. In deze studie werd de duur van diarree opgedeeld in acute (≤ 7 dagen) diarree (n=94) en in chronische (> 7 dagen) diarree (n=52). Van 16 paarden was de duur van diarree niet gekend.

Aan de hand van de anamnese werd de reeds ingestelde behandeling door een dierenarts thuis nagevraagd. Hier werd gekeken of er antibiotica en/of corticoïden toegediend werd.

3.3.1.5 Bloedwaarden

Er werd tevens rekening gehouden met de bloedparameters (hematocriet, leukocyten gehalte en totaal eiwit gehalte). Van de 162 paarden aangeboden op de Faculteit Diergeneeskunde werd bij 151 paarden bloed genomen en de hematocriet bepaald. Verder bloedonderzoek werd in de meeste gevallen uitgevoerd, waarbij het leukocyten gehalte (n=123) en het totaal eiwit gehalte (n=125) bepaald werd.

3.3.1.6 Voorkomende oorzaken van diarree op de Faculteit Diergeneeskunde

Een infectieuze aandoening werd vastgesteld bij 50 paarden, waarvan 40 paarden (24,69%) door parasieten en 10 paarden door enteropathogene bacteriën (6,17%) geïnfecteerd waren. Bij deze laatste werd bij 6 paarden *Clostridium* spp. geïsoleerd, bij 3 paarden *Lawsonia intracellularis* en bij één paard *Salmonella* spp.. De parasitaire oorsprong lag bij 38 paarden bij een cyathostominae infestatie en 2 paarden waren besmet met andere strongyliden (soort strongylide niet gekend). Malabsorptie ter hoogte van de dunne darm werd bij 7 paarden (4,32%) vastgesteld. Minder frequente oorzaken zoals een zandimpactie (n=2), Inflammatory Bowel Disease (IBD) (n=1) en uremie (n=1) werden bij 4 paarden (2,47%) vastgesteld. Bij 101 van de 162 paarden (62,35%) werd echter geen oorzaak gevonden (idiopathische colitis). Deze groep paarden wordt in de studie vernoemd als 'onbekend'.



Grafiek 2: Oorzaak van diarree bij paarden aangeboden met diarree als primaire klacht.

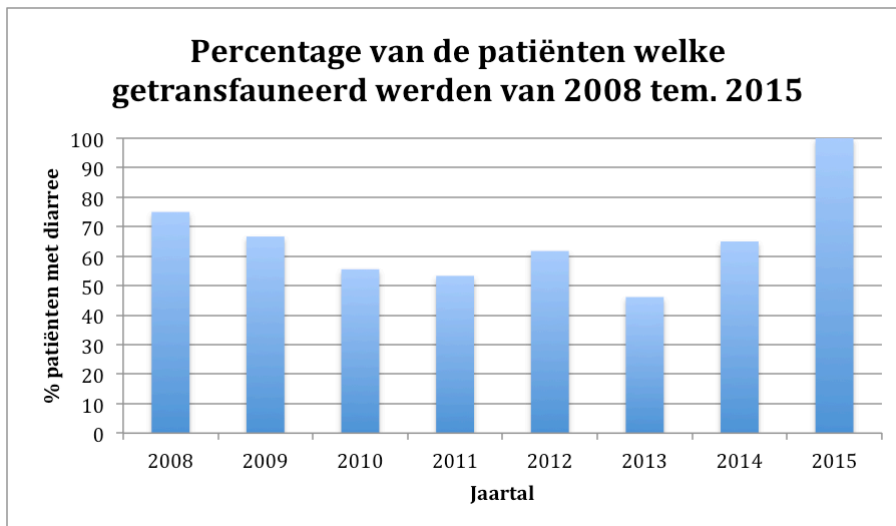
3.3.1.7 Ingestelde behandeling op de Faculteit Diergeneeskunde

Diarree is een symptoom van een onderliggende aandoening en bijgevolg is de behandeling afhankelijk van de oorzaak. Zoals eerder vermeld is het gebruik van verschillende behandelingen een methodologisch probleem voor deze studie aangezien deze een bijkomende invloed hebben op de

genezing van de patiënt. Bovendien kan de diarree, afhankelijk van de oorzaak, na enkele dagen spontaan ophouden. De meest frequent toegepaste behandeling voor volwassen paarden aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde, bestond uit een combinatie van antimicrobiële middelen en ontstekingsremmers. In zeldzame gevallen werd geen verdere behandeling ingesteld. Ook niet medicamenteuze behandelingen zoals een voedingswijziging of het toedienen van een voedingssupplement (Ecuchol (*Ecuphar*)), olie, psylliumzaad, probiotica (Yea Sacc® (*Dodson & Horrell*)), transfaunatie, DTO-smectite (Bio-sponge®) of actieve kool werden bij bepaalde patiënten toegepast. Indien antibiotica werden verstrekt, was het combinatiepreparaat sulfadoxine/trimethoprim (Borgal® 24% (*Virbac*), Emdotrim 60% mix® (*Ecuphar*), Duphatroxim (*Zoetis*)) het meest geprefereerd. Andere toegediende middelen waren cefquinome sulfaat (Cobactan® 4,5% (*MSD A.H.*)), enrofloxacin (Floxadil® 50 mg/ml (*AST Farma*)), tetracycline (Doxycycline 75% Kela (*Kela Laboratoria*)), oxytetracycline (Engemycine® 10% LA (*MSD A.H.*)), gentamycine sulfaat (GENTA-keel 5% (*Kela Laboratoria*)) en benzylpenicilline natrium (Natrium-Penicilline G 5.000.000 IE (*Astellas Pharma*)), en metronidazole (Flagyl® 500 mg (*Sanofi*)). In geval van een parasitaire infectie werden de paarden ontwormd worden met fenbendazol (Panacur pasta® (*MSD A.H.*)) of moxidectine (Equest (*Zoetis*)). Ook jodiumchloroxyquinoline (Clioquinol (*magistrale bereiding*)) werd in bepaalde gevallen tegen amoeben diarree aangewend. Gebruikte ontstekingsremmers waren NSAIDs (flunixin meglumine (Finadyne® Paarden 5g (*MSD A.H.*)), Emdofluxin 50 sol inj 100ml® (*Ecuphar*)), fenybutazon (Fenybutazon 20% (*VMD*))) en glucocorticoiden (dexamethason (Vetodexin 0,2% (*VMD*)), prednisolon (Equisolon® (*Boehringer Ingelheim*))). Indien het paard kolieksymptomen vertoonde, werd een spasmolyticum zoals hyoscine en metamizol (Buscopan compositum® (*Boehringer Ingelheim*)) toegediend. Ter preventie van laminitis werd in laatstvernoemde gevallen heparine (Enoxaparin Sodium (Clexane® (*Sanofi*))) geïnjecteerd. In sommige gevallen kon het nodig zijn maagbeschermers zoals omeprazole (GastroGard® 37% orale pasta (*Merial*)) toe te dienen. Verder kon de behandeling bestaan uit het toedienen van plasma of een infuus. Bij erge pijn toestanden werd soms een opioïde pijnstillers zoals butorfanol (Dolorex® (*MSD A.H.*)) toegediend.

3.3.1.8 Transfaunatie

Indien transfaunatie als bijkomende behandeling werd toegepast, werd deze na gemiddeld 2,0 dagen na aankomst op de kliniek uitgevoerd (range 0-11 dagen). De gemiddelde transfaunatieduur bedraagt 3,3 dagen (range 1-7 dagen). Het percentage paarden welke als behandeling getransfauneerd werden op de Faculteit Diergeneeskunde, varieert naargelang het jaartal. In totaal werden 102 van de 162 paarden getransfauneerd. In 2008 werd 75% van de aangeboden patiënten met diarree getransfauneerd. In 2009 daalde dit percentage tot 66,67%, om in 2010 en 2011 verder te dalen tot respectievelijk 55,56% en 53,33%. Vanaf 2012 steeg het percentage terug naar 61,76%, om in 2013 weer sterk te dalen naar slechts 46,15%. In 2014 werd 65% van de aangeboden patiënten getransfauneerd, en in 2015 werd van begin januari tot en met eind juni 100% van de aangeboden patiënten met diarree getransfauneerd.



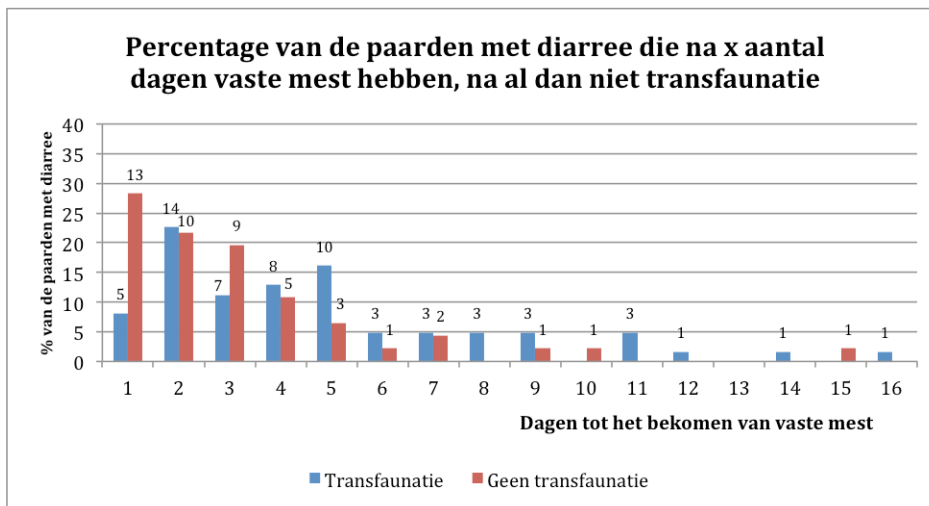
Grafiek 3: Percentage van de patiënten welke getransfauneerd werden over de jaartallen heen

3.3.1.9 Afloop

3.3.1.9.1 Vaste mest

Aanwezigheid van vaste mest is het visueel best waarneembare teken van de genezing van patiënten met diarree. Paarden welke voor diarree behandeld werden op de Faculteit Diergeneeskunde, hadden na gemiddeld 4,1 dagen vaste mest. De gemiddelde tijd tot het vast worden van mest varieert naargelang de oorzaak (volgende cijfers gebaseerd op het finaal multivariabel Cox Regressie model op basis van 142 observaties): bij paarden met een onbekende oorzaak duurde het gemiddeld 4,3 dagen (standaarddeviatie SD=3,8 dagen; mediaan M=3 dagen) vooraleer de mest vast was; bij paarden met een parasitaire oorzaak 7,8 dagen (SD=9,8; M=5); en voor de 'andere' oorzaken was de gemiddelde tijd tot het verkrijgen van vaste mest 4,2 dagen (SD=3,6; M=4). Het al dan niet transfauneren van paarden had ook een invloed: de gemiddelde tijd tot het vast worden van mest bedroeg bij getransfauneerde paarden 6,2 dagen (SD=6,9; M=4); bij niet-getransfauneerde paarden bedroeg dit 3,4 dagen (SD=3,4; M=3).

In grafiek 4 wordt het percentage van de paarden met diarree, welke na x aantal dagen vaste mest hebben, weergegeven. Dag 0 is dag van aankomst op de Faculteit. Op deze dag werd de algemene therapie (antimicrobiële middelen, ontstekingsremmers, infuus met vocht) gestart. In de grafiek wordt een onderscheid gemaakt tussen paarden welke getransfauneerd werden (n=62) en paarden welke niet getransfauneerd werden (n=46). Niet alle paarden (n=7) kenden een evolutie in consistentie van de mest. De ingestelde behandeling bracht hier dus geen resultaat: de mest bleef slap. Van deze paarden werden 5 paarden getransfauneerd en 2 paarden niet getransfauneerd.

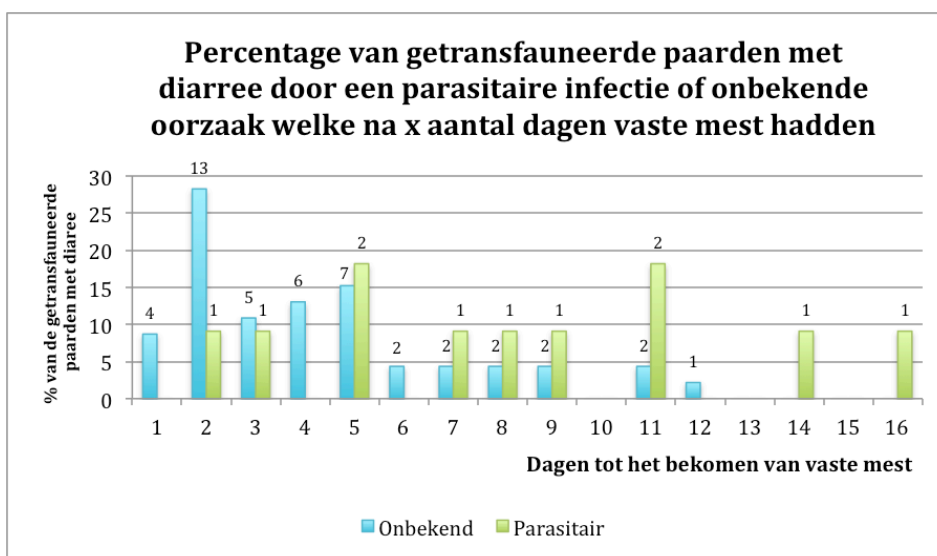


Grafiek 4: Het percentage van de paarden met diarree welke na x aantal dagen vaste mest hebben. De waardes boven de kolommen geven het aantal paarden weer.

3.3.1.9.1.1 *Getransfauneerde paarden*

Het aantal dagen waarna de getransfauneerde paarden vaste mest hadden, varieert naargelang de oorzaak. Getransfauneerde paarden met diarree veroorzaakt door parasieten (n=11) hadden in deze studie na gemiddeld 8,3 dagen (range 2-16 dagen) vaste mest. Paarden met ‘andere’ oorzaken (bacteriële infectie, malabsorptie ter hoogte van de dunne darm, zandimpactie, Inflammatory Bowel Disease; n=7) hadden na gemiddeld 3,6 dagen (range 1-6 dagen) vaste mest. Paarden waarvan de oorzaak niet gekend was (n=46), produceerden na gemiddeld 4,3 dagen (range 1-12 dagen) vaste mest.

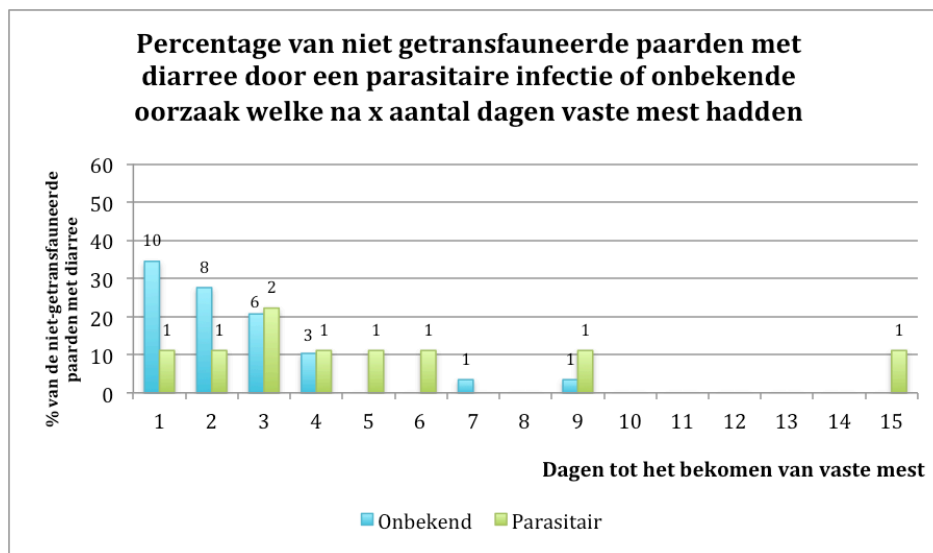
De productie van vaste mest wordt per oorzaak van diarree nagegaan en weergegeven in onderstaande grafiek. De patiënten met een ‘andere’ oorzaak zijn niet in de grafiek opgenomen, wegens het laag aantal patiënten met deze aandoeningen.



Grafiek 5: Percentage van getransfauneerde paarden aangeboden met diarree welke na x aantal dagen vaste mest hadden. De waardes boven de kolommen geven het aantal paarden weer.

3.3.1.9.1.2 Niet getransfauneerde paarden

Niet getransfauneerde paarden met diarree ten gevolge van een parasitaire oorzaak (n=9) ontwikkelden in deze studie na gemiddeld 5,4 dagen (range 1-15 dagen) vaste mest. Paarden met een 'andere' oorzaak (bacteriële infectie, malabsorptie ter hoogte van de dunne darm, uremie; n=8) hadden na gemiddeld 3,5 dagen (range 1-7 dagen) vaste mest. Indien de oorzaak onbekend was, produceerden de paarden (n=29) na gemiddeld 2,5 dagen (range 1-9 dagen) vaste mest. Onderstaande grafiek geeft het percentage van niet getransfauneerde paarden met diarree weer, welke na x aantal dagen vaste mest hadden en dit naargelang de oorzaak. De oorzaak 'andere' is niet in deze grafiek opgenomen, wegens het lage aantal patiënten met deze aandoening.



Grafiek 6: Percentage van niet getransfauneerde paarden aangeboden met diarree welke na x aantal dagen vaste mest hadden. De waardes boven de kolommen geven het aantal paarden weer.

3.3.1.9.2 Sterfte

3.3.1.9.2.1 Algemeen overlevingspercentage

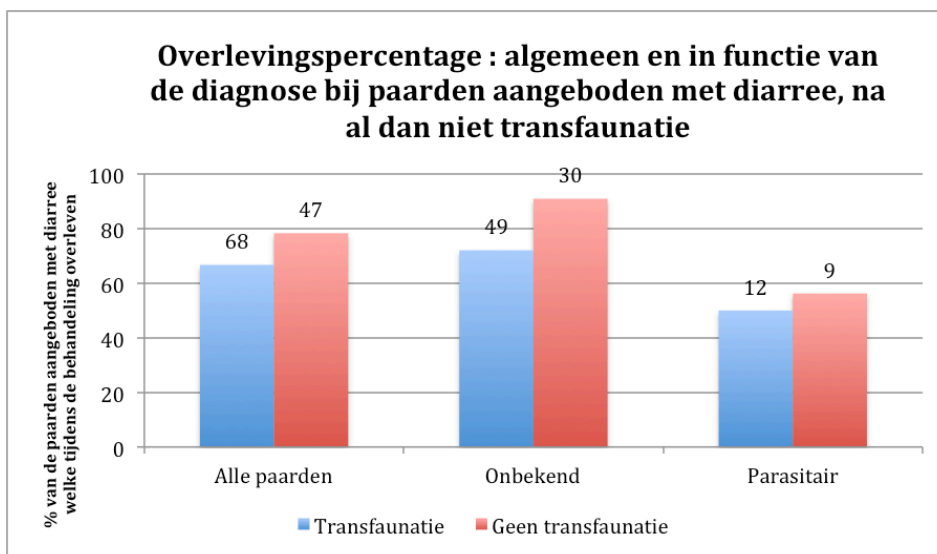
In dit onderzoek werd enkel het korte termijn overlevingspercentage van de paarden (= tot moment van ontslag uit de kliniek), aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde, opgevolgd. Lange termijn opvolging werd niet uitgevoerd. Van de 162 paarden overleefden 115 patiënten de behandeling in deze studie, waardoor het algemeen overlevingspercentage van alle paarden 70,99% bedraagt. Paarden welke de behandeling niet overleefden, werden meestal geëuthanaseerd. Slechts in de minderheid van de gevallen was het paard spontaan gestorven, vaak ten gevolge van shock. De dieren (n=47) overleden na gemiddeld 7,5 dagen na aankomst op de kliniek (range 1-58 dagen). Naargelang de oorzaak varieert dit tijdstip (volgende cijfers gebaseerd op het finaal multivariabel Cox Regressie model op basis van 162 observaties): de gemiddelde survivaalijd bij paarden met een onbekende oorzaak van diarree bedraagt 8,8 dagen (SD=6,8; M=7); bij dieren aangetast door een

parasitaire diarree bedraagt de gemiddelde survivaltijd 16,4 dagen (SD=16,3; M=9); bij paarden met diarree wegens 'andere' oorzaken bedraagt dit 6,4 dagen (SD=4,3; M=6). Redenen voor euthanasie zijn een slechte prognose, een plotse achteruitgang van het dier, geen verbetering ondanks langdurige en intensieve therapie, motivatie en financieel aspect van de eigenaar, bijwerking van de behandeling en complicaties zoals laminitis.

3.3.1.9.2 Overlevingspercentage: transfaunatie versus geen transfaunatie

In grafiek 7 wordt het overlevingspercentage van de paarden, aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde, weergegeven waarbij er een onderscheid gemaakt wordt tussen paarden die bijkomend behandeld werden door transfaunatie en paarden die niet getransfauneerd werden. Van alle getransfauneerde paarden betrokken in de studie (n=102), overleefde 66,7% (n=68). Het overlevingspercentage van paarden die niet getransfauneerd werden (n=60), bedraagt 78,3% (n=47). De gemiddelde survivaltijd bij paarden welke als behandeling getransfauneerd werden, bedraagt 11,1 dagen (SD=9,6; M=9; range 1-58 dagen). Paarden welke niet getransfauneerd werden, kennen een gemiddelde survivaltijd van 9,3 dagen (SD=11,7; M=5; range 1-20 dagen).

Verder wordt er een onderverdeling gemaakt naargelang de oorzaak. Getransfauneerde paarden met een parasitaire infectie (n=24) kennen een overlevingspercentage van 50,00% (n=12), terwijl niet getransfauneerde paarden (n=16) een overlevingspercentage van 56,25% (n=9) hebben. Het overlevingspercentage voor paarden, onderverdeeld in 'andere oorzaken', welke getransfauneerd werden (n=10), bedraagt 70,00% (n=7). Het overlevingspercentage van dieren die niet getransfauneerd werden (n=11), bedraagt 72,72% (n=8). Ook paarden waarvan de oorzaak van diarree niet gekend was, werden getransfauneerd. Van deze getransfauneerde paarden (n=68) overleefde 72,06% (n=49). Van de niet getransfauneerde paarden uit deze groep (n=33) overleefde 90,91% (n=30). In onderstaande grafiek worden deze percentages en het aantal paarden weergegeven. De oorzaak 'andere' is niet in de grafiek opgenomen wegens het laag aantal patiënten.



Grafiek 7: Overlevingspercentage van getransfauneerde en niet getransfauneerde paarden, algemeen en naargelang de oorzaak. De waardes boven de kolommen geven het aantal paarden weer.

3.3.1.10 Totale hospitalisatieduur

De totale hospitalisatieduur is de tijd tussen aankomst op de Faculteit en het verlaten van de kliniek. Deze parameter wordt gebruikt om de relatie tussen de verschillende predictoren en het bekomen van vaste mest aan te tonen tijdens de duur van hospitalisatie, dit aan de hand van Kaplan-Meier curves.

3.3.2 Survival analyse

3.3.2.1 Categorische variabelen

In onderstaande tabel worden de resultaten van de univariabele Cox Regressie analyse van categorische predictoren en uitkomst variabelen (vaste mest, sterfte) weergegeven.

Tabel 1: Descriptieve resultaten van de univariabele Cox Regressie analyse van categorische predictoren voor het vast worden van mest en het optreden van sterfte bij paarden gehospitaliseerd voor diarree.

PARAMETER	Categorie	Percentage vaste mest (aantal/totaal aantal)	P-waarde	Percentage sterfte (aantal/totaal aantal)	P-waarde
Geslacht	Hengst	66,7% (22/33)	Referentie	33,3% (11/33)	Referentie
	Merrie	67,9% (55/81)	0,87	27,2% (22/81)	0,93
	Ruin	66,7% (32/48)	0,88	29,2% (14/48)	0,88
Ras	Warmbloed	74,3% (55/74)	Referentie	23,0% (17/74)	Referentie
	Koudbloed	48,4% (15/31)	0,02	45,2% (14/31)	0,12
	Volbloed	90,0% (9/10)	0,25	10,0% (1/10)	0,28
	Pony	70,6% (24/34)	0,38	26,5% (9/34)	0,43
Diagnose	Onbekend	74,3% (75/101)	Referentie	21,8% (22/101)	Referentie
	Parasitair	47,5% (19/40)	<0,001	47,5% (19/40)	0,19
	Andere	71,4%	0,75	28,6%	0,32

		(15/21)		(6/21)	
Duur diarree	Acuut	71,3% (67/94)	0,74	27,7% (26/94)	0,84
	Chronisch	65,4% (34/52)		28,8% (15/52)	
Transfaunatie	Neen	76,7% (46/60)	<0,001	21,7% (13/60)	0,46
	Ja	61,8% (63/102)		33,3% (34/102)	
Biosponge®	Neen	67,2% (45/67)	0,25	28,4% (19/67)	0,71
	Ja	60,7% (17/28)		35,7% (10/28)	
Corticoïden totaal	Neen	79,2% (57/72)	<0,001	19,4% (14/72)	0,67
	Ja	58,7% (44/75)		36% (27/75)	
Corticoïden kliniek	Neen	73,2% (71/97)	<0,01	24,7% (24/97)	0,78
	Ja	59,4% (38/64)		34,4% (22/64)	
Corticoïden thuis	Neen	73,9% (88/119)	0,02	23,5% (28/119)	0,43
	Ja	45,8% (11/24)		45,8% (11/24)	
Antibiotica kliniek	Neen	90,6% (58/64)	<0,001	7,8% (5/64)	<0,001
	Ja	52,6% (51/97)		42,3% (41/97)	
Antibiotica thuis	Neen	75,3% (61/81)	0,18	23,5% (19/81)	0,56
	Ja	60,3% (44/73)		32,9% (24/73)	
Yeasacc®	Neen	64,2% (70/109)	0,83	32,1% (35/109)	0,15
	Ja	75,0% (39/52)		21,2% (11/52)	
Psyllium- zaad	Neen	69,7% (99/142)	0,27	26,8% (38/142)	0,36
	Ja	52,6%		42,1%	

		(10/19)		(8/19)	
Clioquinone	Neen	67,8%	0,09	28,7%	0,21
		(97/143)		(41/143)	
	Ja	66,7%		27,8%	
		(12/18)		(5/18)	
Totaal Eiwit	≥ 60 g/L	73,2%	0,14	19,5%	0,02
		(30/41)		(8/41)	
	< 60 g/L	58,3%		39,3%	
		(49/84)		(33/84)	

3.3.2.2 Continue variabelen

In onderstaande tabel worden de resultaten van de univariabele Cox Regressie analyse van continue predictoren en uitkomst variabelen (vaste mest, sterfte) weergegeven.

Tabel 2: Descriptieve resultaten van de univariabele Cox Regressie analyse van continue predictoren voor het vast worden van mest en het optreden van sterfte bij paarden gehospitaliseerd voor diarree.

PARAMETER	Geen vaste mest	Vaste mest	P-waarde	Geen sterfte	Sterfte	P-waarde
	Mediaan ± SD (min-max)	Mediaan ± SD (min-max)		Mediaan ± SD (min-max)	Mediaan ± SD (min-max)	
Gewicht (kg)	367,1 ± 153,8 (57-660)	382,3 ± 149,7 (61-688)	0,59	388,7 ± 149,7 (61-680)	353,5 ± 152,1 (57-660)	0,63
Leeftijd (maanden)	108,5 ± 89,2 (6,9-283,4)	82,9 ± 77,1 (6,0-307,4)	0,15	85,2 ± 77,3 (6,0-307,4)	106,3 ± 90,9 (6,9-283,4)	0,02
Hematocriet (%)	42,5 ± 9,5 (29-70)	42,1 ± 12,8 (20-79)	0,14	42,2 ± 12,6 (20-79)	42,5 ± 9,7 (29-70)	0,12
Leukocyten (/mm ³)	15,9 ± 9,3 (2,3-43,3)	12,1 ± 9,8 (1,4-53)	0,02	12,0 ± 9,6 (1,4-53)	16,4 ± 9,6 (2,3-43,3)	0,14
Totaal Eiwit (g/L)	48,6 ± 15,9 (17-75)	53,5 ± 13,8 (21-78)	0,14	53,7 ± 14,2 (21-78)	47,7 ± 15,2 (17-75)	0,02

3.3.2.3 Het bekomen van vaste mest

Een multivariabel Cox Regressie model werd gebouwd met alle predictoren die in de univariabele analyse een *P*-waarde kleiner dan 0,20 hadden. Dit model werd opgebouwd via backward elimination, waarbij niet significante variabelen gradueel uitgesloten werden. De parameter met de hoogste *P*-

waarde gaat er het eerst uit, met uitzondering van transfaunatie want dit is het primaire onderzoeksdoel. De overgebleven parameters kunnen het best de tijd tot het vast worden van mest voorspellen. Voor het bekomen van vaste mest zijn er 13 predictoren welke een *P*-waarde <0,20 hebben, namelijk ras, diagnose, transfaunatie, corticoïden totaal, corticoïden kliniek, corticoïden thuis, antibiotica kliniek, antibiotica thuis, clioquinone, leeftijd, hematocriet, leukocyten gehalte, en totaal eiwit gehalte. Er is getest op significante linking (Chi-Square test). Corticoïden totaal (toegediend thuis en/of op kliniek), corticoïden enkel toegediend op kliniek en corticoïden enkel toegediend thuis zijn significant met elkaar gelinkt dus de parameter met de laagste *P*-waarde wordt in het model opgenomen. Clioquinone is significant gelinkt met antibiotica op kliniek en corticoïden thuis, en wordt aldus uit het model gezet. Het ras is significant gelinkt met diagnose: 41,9% van de koudbloeden (13/31) heeft een parasitaire oorzaak van diarree, in tegenstelling tot 18,9% van de warmbloeden (14/74), 20,0% van de volbloeden (2/10) en 17,6% van de pony's (6/34). Het ras 'koudbloed' heeft dus een groter aantal parasitaire oorzaken van diarree en bijgevolg wordt de parameter ras uit dit model gezet.

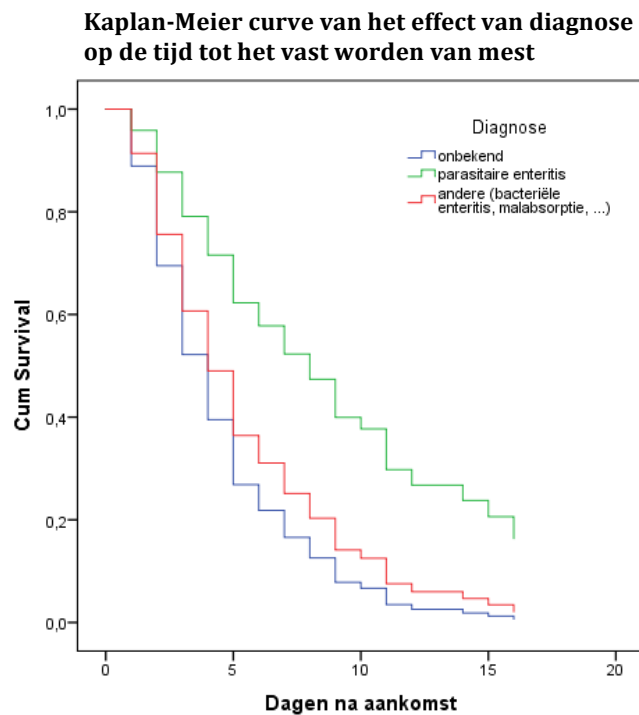
Tabel 3: Finaal multivariabel Cox Regressie model voor de relatie tussen verschillende predictoren en de tijd tot het vast worden van mest bij 142 paarden aangeboden met diarree.

PARAMETER	Categorie	Aantal dieren (n)	Vaste mest (%)	Hazard ratio (HR)	95% CI	<i>P</i> -waarde
Diagnose	Onbekend	87	77,0	Referentie		
	Parasitair	35	54,3	0,36	0,20-0,66	<0,001
	Andere	20	75,0	0,77	0,43-1,34	0,34
Transfaunatie	Neen	56	78,6	Referentie		
	Ja	86	66,3	0,43	0,28-0,66	<0,001
Antibiotica kliniek	Neen	58	91,4	Referentie		
	Ja	84	57,1	0,39	0,25-0,57	<0,001
Corticoïden totaal	Neen	71	80,3	Referentie		
	Ja	71	62,0	0,48	0,31-0,74	<0,01
Leeftijd	Per eenheid (per maand)	142	-	0,995	0,992-0,998	<0,01

Om de relatie tussen de verschillende predictoren en het bekomen van vaste mest tijdens de duur van hospitalisatie aan te tonen, werden Kaplan-Meier curves gemaakt en werd een univariabele analyse met Log-Rank test uitgevoerd.

3.3.2.3.1 Diagnose

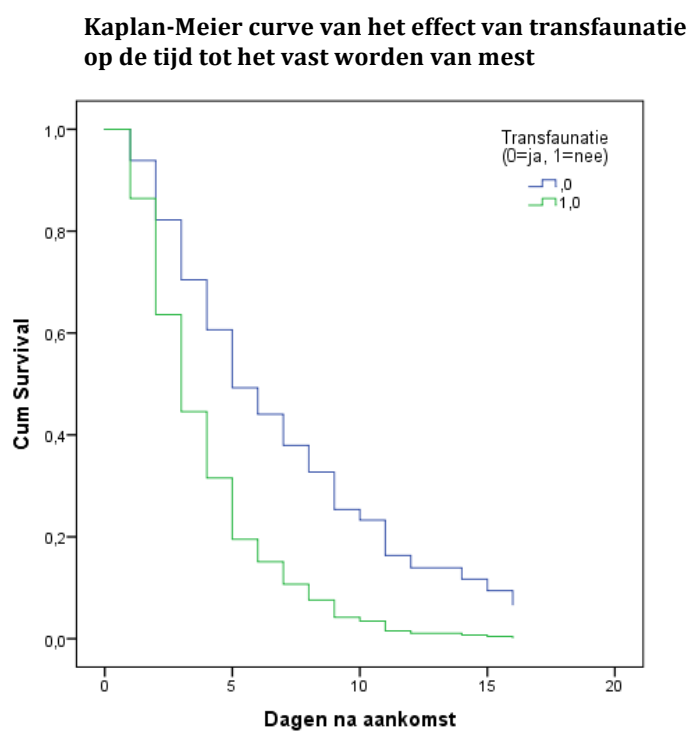
Onderstaande grafiek geeft de invloed van diagnose op de tijd tot het bekomen van vaste mest weer bij 142 paarden aangeboden met diarree.



Grafiek 8: Kaplan-Meier curve van het effect van diagnose op de tijd tot het bekomen van vaste mest bij 142 paarden aangeboden met diarree.

3.3.2.3.2 Transfaunatie

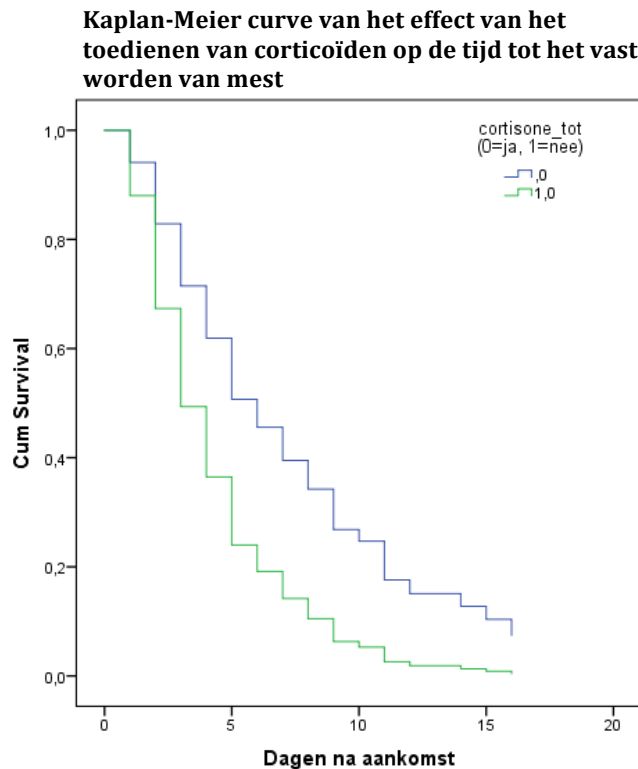
Onderstaande grafiek geeft de invloed van transfaunatie op de tijd tot het produceren van vaste mest weer bij 142 paarden aangeboden met diarree.



Grafiek 9: Kaplan-Meier curve van het effect van transfaunatie op de tijd tot het bekomen van vaste mest bij 142 paarden aangeboden met diarree.

3.3.2.3.3 Het toedienen van corticoïden

Grafiek 10 geeft de resultaten van het toedienen van corticoïden op de tijd tot het bekomen van vaste mest weer bij 142 paarden aangeboden met diarree.



Grafiek 10: Kaplan-Meier curve van het effect van het toedienen van corticoïden op de tijd tot het bekomen van vaste mest bij 142 paarden aangeboden met diarree.

3.3.2.4 Het optreden van sterfte

Een multivariabel Cox Regressie model werd gebouwd om de relatie tussen verschillende predictoren en de tijd tot sterfte na te gaan, dit gelijkaardig aan het model voor de tijd tot het vast worden van mest. Voor de tijd tot het optreden van sterfte zijn er 6 parameters welke een P -waarde $<0,20$ hebben, namelijk het toedienen van antibiotica op de kliniek, het toedienen van Yeasacc® op de kliniek, leeftijd, hematocriet, leukocyten gehalte en totaal eiwit gehalte. Transfaunatie (P -waarde = $0,46$) wordt eveneens in het model gezet, want dit is het primaire onderzoeksdoel. Geen van deze parameters is significant gelinkt (Chi-Square test).

Tabel 4: Finaal multivariabel Cox Regressie model voor de relatie tussen verschillende predictoren en de tijd tot sterfte bij 162 paarden aangeboden met diarree.

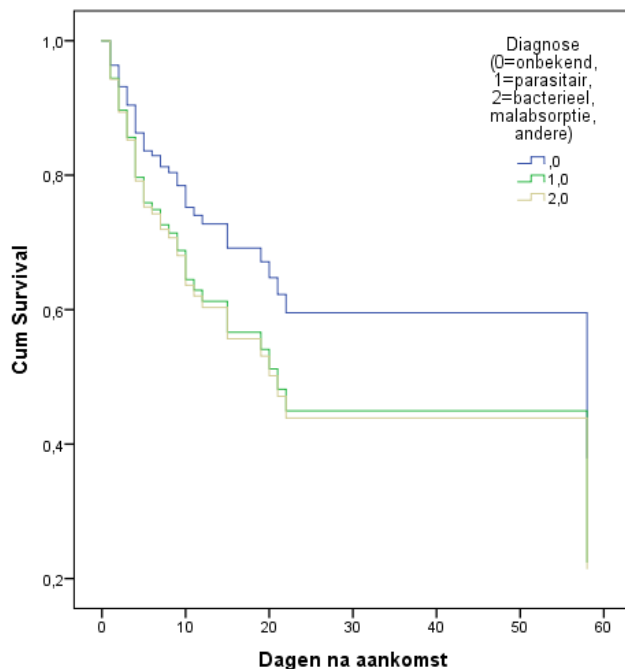
PARAMETER	Categorie	Aantal dieren (n)	Sterfte (%)	Hazard ratio (HR)	95% CI	P-waarde
Transfaunatie	Neen	60	21,7	Referentie		
	Ja	102	33,3	1,3	0,57-2,86	0,52
Leeftijd	Per maand	162	-	1,006	1,001-1,010	<0,01
Antibiotica kliniek	Neen	64	7,8	Referentie		
	Ja	97	42,3	3,6	1,3-10,7	0,02
Totaal Eiwit	≥ 60 g/L	41	19,5	Referentie		
	< 60 g/L	84	39,3	3,0	1,3-6,9	<0,01

Om de relatie tussen de verschillende predictoren en de tijd tot het optreden van sterfte aan te tonen, werden Kaplan-Meier curves gemaakt en werd een univariabele analyse met Log-Rank test uitgevoerd.

3.3.2.4.1. Diagnose

Onderstaande grafiek geeft de invloed van diagnose op de tijd tot sterfte weer bij 162 paarden aangeboden met diarree.

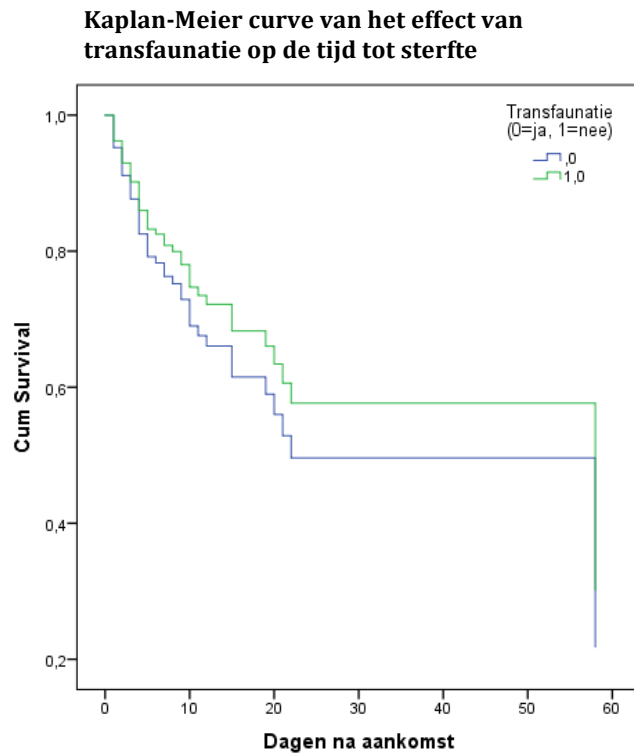
Kaplan-Meier curve van het effect van diagnose op de tijd tot het optreden van sterfte



Grafiek 11: Kaplan-Meier curve van het effect van de diagnose op de tijd tot sterfte bij 162 paarden aangeboden met diarree.

3.3.2.4.2 Transfaunatie

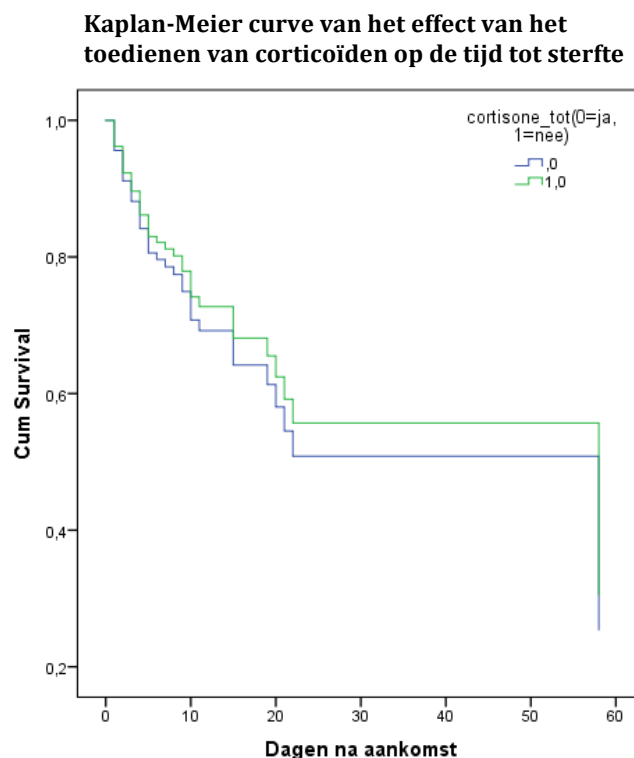
Onderstaande grafiek geeft de invloed van transfaunatie op de tijd tot sterfte weer bij 162 paarden aangeboden met diarree.



Grafiek 12: Kaplan-Meier curve van het effect van transfaunatie op de tijd tot sterfte bij 162 paarden aangeboden met diarree.

3.3.2.4.3 Het toedienen van corticoïden

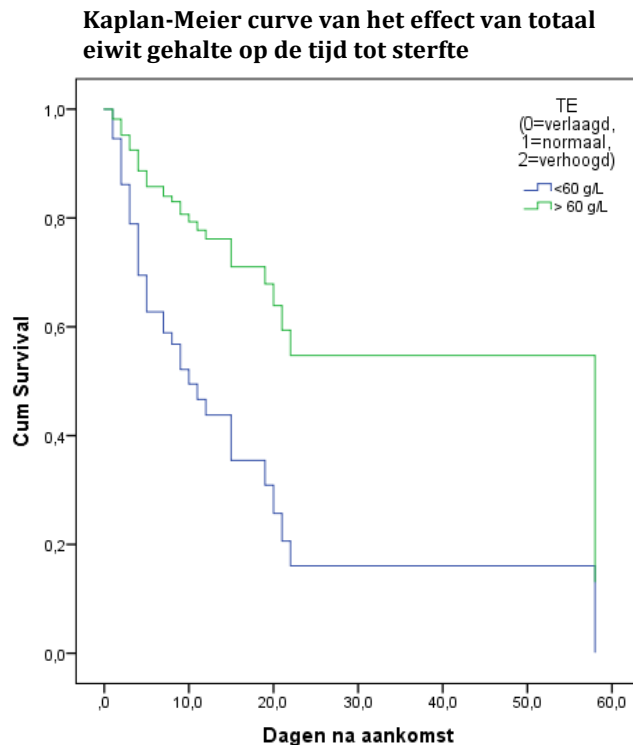
Grafiek 13 geeft de invloed van het toedienen van corticoïden op de tijd tot sterfte weer bij 162 paarden aangeboden met diarree.



Grafiek 13: Kaplan-Meier curve van het effect van het toedienen van corticoïden op de tijd tot sterfte bij 162 paarden aangeboden met diarree.

3.3.2.4.4 Het totaal eiwit gehalte

Onderstaande grafiek geeft de resultaten van het totaal eiwit gehalte op de tijd tot het optreden van sterfte weer bij 162 paarden aangeboden met diarree.



Grafiek 14: Kaplan-Meier curve van het effect van het totaal eiwit gehalte op de tijd tot sterfte bij 162 paarden aangeboden met diarree.

3.4 BESPREKING

De laatste jaren kennen gezondheidsbevorderende middelen een opkomst. Prebiotica, probiotica en transfaunatie worden aangewend om de microbiële flora te manipuleren. Over het nut van transfauneren bij paarden is echter weinig gekend. In de humane geneeskunde is er reeds meer onderzoek verricht: de efficiëntie van faecale microbiële transplantatie is bewezen bij recidiverende *Clostridium difficile* infecties (Gough et al., 2011). Studies naar het effect van transfaunatie zijn noodzakelijk, zodat transfaunatie in de toekomst gerichter kan gebruikt worden.

3.4.1 Doelstelling

De algemene doelstelling van deze retrospectieve studie is het onderzoeken of transfaunatie bij het volwassen paard een effect heeft op de genezing van het dier in het algemeen en meer specifiek bij bepaalde types diarree. Veulens jonger dan 6 maanden werden niet in deze studie betrokken, aangezien veulens andere oorzaken van diarree hebben dan volwassen paarden en de gastro-intestinale flora van een veulen sterk verandert in de eerste levensweken. Verder werd het effect van

transfaunatie en andere predictoren op (de tijd tot) het vast worden van de mest en op (de tijd tot) het optreden van sterfte nagegaan bij paarden aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde. Hiervoor werd een retrospectieve cohortstudie uitgevoerd op een studiepopulatie van 162 patiënten.

3.4.2 Het effect van transfaunatie bij verschillende types diarree

Om het effect van transfaunatie bij verschillende oorzaken van diarree te bestuderen, werd het vast worden van de mest (genezing) en het optreden van sterfte onderzocht naargelang de oorzaak én het al dan niet transfauneren. Verschillen werden waargenomen, maar de groepsgroottes zijn te klein om hierover uitspraken te doen. Paarden welke niet getransfauneerd werden, ontwikkelden echter bij alle oorzaken van diarree sneller vaste mest. Tevens was er bij deze paarden een hoger percentage dat uiteindelijk vaste mest produceerde.

3.4.3 Univariabele Cox Regressie analyse van categorische en continue predictoren

Om te onderzoeken welke parameters risicofactoren zijn voor het vast worden van mest en het optreden van sterfte, werd een univariabele Cox Regressie analyse uitgevoerd. Deze analyse meet niet alleen het verband van een groot aantal variabelen op het eindresultaat (vaste mest of sterfte), maar ook de interactie met al dan niet transfauneren. Verschillende categorische en continue predictoren werden verzameld voor deze studie. Via deze analyse werd op significantie (P -waarde $<0,05$) getest.

3.4.3.1 Ras

Het ras is een significante predictor voor het vast worden van mest: het model toonde aan dat het ras 'koudbloed' (P -waarde =0,02) significant verschilde voor het krijgen van vaste mest tegenover de referentie (warmbloed). Het ras 'volbloed' (P -waarde =0,25) en 'pony' (P -waarde =0,38) zijn niet significant verbonden met het krijgen van vaste mest tegenover de referentie. Dit houdt in dat koudbloeden minder kans hebben op het produceren van vaste mest tegenover warmbloeden, volbloeden en pony's. In deze studie produceerde 74,3% van de warmbloeden, 90,0% van de volbloeden, en 70,6% van de pony's vaste mest. Bij de koudbloeden ligt dit percentage beduidend lager: slechts 48,4% van de koudbloeden produceerde vaste mest. Het ras was daarnaast geen predictor in het voorspellen van sterfte.

3.4.3.2 Diagnose

De resultaten toonden aan dat de diagnose een invloed heeft op het produceren van vaste mest: een parasitaire oorzaak (P -waarde $<0,001$) is sterk significant verschillend tegenover de referentie (onbekende oorzaak). De diagnose 'andere' (P -waarde =0,75) verschilde niet significant tegenover de referentie (onbekend). Paarden aangetast door parasieten hebben dus minder kans tot het produceren van vaste mest: in deze studie produceerde slechts 47,5% van deze patiënten vaste mest, tegenover 74,3% van de patiënten met een onbekende oorzaak en 71,4% van de patiënten met 'andere' oorzaken. Via de Chi-Square test werd getest op significante linking: het ras is significant gelinkt met diagnose. Uit de kruistabel van deze parameters blijkt dat het ras 'koudbloed' een groter aantal parasitaire oorzaken van diarree heeft. Dit kan verklaren waarom het percentage voor het vast

worden van mest bij koudbloeden lager ligt. De kans op sterfte verschilde niet significant (parasitaire oorzaak P -waarde =0,19; andere oorzaak P -waarde =0,32) tegenover de referentie. Toch overleefde in deze studie slechts 52,5% van de patiënten met een parasitaire oorzaak, tegenover 78,2% van de patiënten met een onbekende oorzaak en 71,4% van de patiënten met een 'andere' oorzaak. Aangezien de overgrote meerderheid van paarden met een parasitaire oorzaak geïnfecteerd was met cyathostominae (38 van de 40 paarden), is dit laag genezings- en overlevingspercentage te verwachten. In de literatuur wordt vermeld dat slechts 40% van de geïnfecteerde dieren met diarree ten gevolge van larvale cyathostominae overleven, zelfs indien behandeld werd met een geschikt anthelminticum en ondersteunende therapie.

3.4.3.3 De duur van diarree

De duur van diarree (acuut, chronisch) alvorens aankomst op de Faculteit had geen significant verband met het vast worden van de mest (P -waarde =0,74) en met het optreden van sterfte (P -waarde =0,84). Acute diarree werd in deze studie gedefinieerd als een diarree die voor aankomst op de kliniek maximum 7 dagen aanwezig was. Chronische diarree werd gedefinieerd als een diarree die langer dan 7 dagen aanhield. In deze studie was de duur van diarree bij 16 patiënten niet gekend. Een acute diarree kwam voor bij 94 patiënten (64,4% van de aangeboden patiënten); een chronische diarree kwam voor bij 52 patiënten (35,6% van de aangeboden patiënten).

3.4.3.4 Behandeling

De behandeling transfaunatie is het primaire onderzoeksdoel van deze studie: 76,7% van de niet getransfauneerde paarden ontwikkelde vaste mest, terwijl 61,8% van de getransfauneerde paarden vaste mest ontwikkelde. Dit verschil is sterk significant (P -waarde <0,001): het transfauneren van paarden is een risicofactor voor het ontwikkelen van vaste mest. Ook andere ingestelde behandelingen zoals het gebruik van corticoïden (totaal (thuis en/of op kliniek; P -waarde <0,001), enkel op de kliniek (P -waarde <0,01), enkel thuis (P -waarde =0,02)), en het gebruik van antibiotica op de kliniek (P -waarde <0,001) verschilden significant voor het krijgen van vaste mest tegenover wanneer geen van deze behandelingen werd toegepast. Deze verschillen kunnen mogelijk verklaard worden doordat deze behandelingen toegepast worden bij meer ernstige gevallen van diarree, waardoor het slagingspercentage van genezing hoe dan ook lager ligt. De behandelingen Biosponge® (P -waarde =0,25), antibiotica toegediend thuis (P -waarde =0,18), Yeasacc® (P -waarde =0,83), psylliumzaad (P -waarde =0,27) en clioquinone (P -waarde =0,09) beïnvloeden het produceren van vaste mest niet. Van alle bestudeerde behandelingen is enkel het gebruik van antibiotica op de kliniek (P -waarde <0,001) significant verbonden met het optreden van sterfte. Van de paarden welke geen antibiotica toegediend kregen op de Faculteit, overleed 7,8%. Van de paarden welke wel antibiotica toegediend kregen op de Faculteit, overleed 42,3%. Een mogelijke hypothese voor dit significante verschil is dat het gebruik van antibiotica de gastro-intestinale flora verstoort, waardoor de kans op genezing en overleven bij patiënten met diarree kleiner wordt. Een andere hypothese is dat het toedienen van antibiotica op de Faculteit zich voordoet bij ernstigere gevallen van diarree, waarbij deze dieren vaak in een slechtere algemene toestand verkeren en minder kans op overleven hebben.

3.4.3.5 Bloedparameters

Ook de bloedparameters (hematocriet, leukocyten gehalte en totaal eiwit gehalte) werden geanalyseerd op het voorspellen van het vast worden van mest en het optreden van sterfte. Deze parameters maken een inschatting van de algemene toestand van de patiënt mogelijk alvorens de behandeling te starten. Hematocriet is een parameter om de ernst van dehydratatie te beoordelen. Toch was de hematocriet geen significante predictor voor het produceren van vaste mest (P -waarde =0,14), noch voor het optreden van sterfte (P -waarde =0,12). De ernst van dehydratatie speelde in deze studie geen aantoonbare rol in het voorspellen van genezing en het optreden van sterfte. Om de graad van ontsteking te evalueren, werd het leukocyten gehalte bepaald. Het leukocyten gehalte (P -waarde =0,02) verschilde significant voor het bekomen van vaste mest: hoe lager het initiële leukocyten gehalte, hoe meer kans op het vast worden van mest. Paarden met leukocytose hebben aldus minder kans op genezing. Voor het optreden van sterfte was het leukocyten gehalte (P -waarde =0,14) daarentegen niet significant bepalend. Tenslotte werd ook het effect van het totaal eiwit gehalte in het bloed geëvalueerd. De referentiewaarden voor volwassen paarden zijn 60 tot 80 g/L. Bij paarden met diarree kan een snel en ernstig eiwitverlies ter hoogte van de darm (proteïn losing enteropathy) voorkomen, wat aanleiding geeft tot een hypoproteïnemie. Dit verlaagd totaal eiwit gehalte in het bloed kan een algemene verzwakking en verminderde afweer tegenover infecties veroorzaken, wat fataal kan zijn voor het dier. In deze studie had het totaal eiwit gehalte geen significant verband met het vast worden van mest (P -waarde =0,14), maar wel met het optreden van sterfte (P -waarde =0,02). Indien het totaal eiwit gehalte lager dan 60 g/L is, is de kans op sterfte groter. In deze studie lag het sterftepercentage van dieren met een totaal eiwit gehalte groter of gelijk aan 60 g/L op 19,5%, terwijl 39,3% van de paarden met een totaal eiwit gehalte lager dan 60 g/L overleed. Een totaal eiwit gehalte hoger of gelijk aan 60 g/L lijkt een beschermende factor te zijn voor het optreden van sterfte bij paarden aangeboden met diarree, waarschijnlijk omdat een normaal eiwit gehalte gecorreleerd is met minder mucosabeschadiging ter hoogte van de darm.

3.4.3.6 Leeftijd

Leeftijd (P -waarde =0,15) is niet significant verbonden met het produceren van vaste mest. De leeftijd (P -waarde =0,02) is wel significant voor het optreden van sterfte: per maand ouder, is de kans op sterfte groter.

3.4.4 **Multivariabele Cox Regressie analyse van categorische en continue predictoren**

Tot slot werd met behulp van een multivariabel Cox Regressie model het effect van transfaunatie en andere predictoren op de tijd tot het vast worden van mest en op de tijd tot het optreden van sterfte onderzocht bij paarden aangeboden met diarree op de Faculteit Diergeneeskunde. Hierbij werden enkel predictoren met een P -waarde <0,20 bestudeerd.

3.4.4.1 Het vast worden van mest

Voor de tijd tot het vast worden van mest werden 142 patiënten geanalyseerd. Het finaal model bevat de predictoren diagnose, transfaunatie, antibiotica toegediend op de kliniek, corticoïden toegediend totaal (thuis en/of op de kliniek), en leeftijd.

3.4.4.1.1 Diagnose

Diagnose is een goede predictor voor de tijd tot het vast worden van de mest. Bij parasitaire oorzaken (P -waarde $<0,001$) van diarree was deze tijd sterk significant verschillend tegenover de referentie (onbekende oorzaak): paarden geïnfecteerd met parasieten ontwikkelden gemiddeld later vaste mest dan paarden met een onbekende oorzaak van diarree. De oorzaak 'andere' (P -waarde $=0,34$) verschilde niet significant tegenover de referentie. In deze studie produceerden paarden met een parasitaire oorzaak van diarree na gemiddeld 7,8 dagen vaste mest ($SD=9,8$; $M=5$), paarden met een onbekende oorzaak na gemiddeld 4,3 dagen ($SD=3,8$; $M=3$) en paarden met een 'andere' oorzaak na gemiddeld 4,2 dagen ($SD=3,6$; $M=4$). De Kaplan-Meier curve geeft dit verschil duidelijk weer: paarden met een parasitaire oorzaak van diarree ontwikkelden gemiddeld later vaste mest dan paarden met een onbekende en 'andere' oorzaak. De Hazard Ratio (HR) werd eveneens in het model bepaald en bedraagt 0,36: de kans op het produceren van vaste mest tijdens hospitalisatie ligt bij paarden met een parasitaire oorzaak van diarree 64% lager tegenover paarden met een onbekende oorzaak van diarree. In deze studie ontwikkelde 54,3% van de dieren met een parasitaire oorzaak, 77,0% van de dieren met een onbekende oorzaak en 75,0% van de dieren met een 'andere' oorzaak vaste mest. Deze verschillen staven de literatuur omtrent het lage genezingspercentage bij paarden met cyathostominae infecties.

3.4.4.1.2 Transfaunatie

De tijd tot het bekomen van vaste mest verschilde significant bij getransfauneerde paarden (P -waarde $<0,001$) tegenover paarden welke niet getransfauneerd werden. Het al dan niet transfauneren van paarden aangeboden met diarree heeft dus een invloed op de tijd tot het vast worden van mest: paarden welke op de Faculteit getransfauneerd werden, produceerden na gemiddeld 6,2 dagen ($SD=6,9$; $M=4$) vaste mest, terwijl paarden welke niet getransfauneerd werden na gemiddeld 3,4 dagen ($SD=3,4$; $M=3$) vaste mest produceerden. Tijdens de duur van hospitalisatie kregen patiënten welke niet getransfauneerd werden dus sneller vaste mest tegenover patiënten welke getransfauneerd werden. Het transfauneren van paarden werd echter gemiddeld 2,0 dagen (range 0-11 dagen) na aankomst op de Faculteit uitgevoerd, waardoor voor een deel geselecteerd werd naar paarden die niet direct een spontane gunstige evolutie vertoonden. Dit is een mogelijke verklaring waarom de paarden welke getransfauneerd werden gemiddeld later vaste mest ontwikkelden. Ook het percentage van patiënten dat uiteindelijk vaste mest produceerde, ligt hoger bij patiënten welke niet getransfauneerd werden: tijdens de hospitalisatie ontwikkelende 78,6% van de niet getransfauneerde dieren vaste mest, en slechts 66,3% van de getransfauneerde dieren. De Hazard Ratio bedraagt 0,43: de kans op het vast worden van mest tijdens hospitalisatie ligt bij getransfauneerde patiënten 57% lager dan bij niet getransfauneerde patiënten. Zoals eerder vermeld kunnen deze verschillen waarschijnlijk verklaard worden doordat het transfauneren van paarden minder frequent toegepast werd bij kortdurende of minder ernstige gevallen van diarree.

3.4.4.1.3 Het toedienen van antibiotica

Indien er antibiotica werd toegediend op de Faculteit, is de tijd tot het vast worden van de mest gemiddeld langer dan bij dieren waar er geen antibiotica werd toegediend. Ook verschilde de kans op

de productie van vaste mest bij gebruik van antibiotica op de Faculteit (P -waarde $<0,001$) significant dan indien geen antibiotica toegediend werd. Tijdens de hospitalisatie ontwikkelde 91,4% van de patiënten welke geen antibiotica kregen vaste mest, terwijl slechts 57,1% van de patiënten die wel onder antibiotica stonden vaste mest ontwikkelde. De Hazard Ratio bedraagt 0,39: de kans op vaste mest bij gebruik van antibiotica tijdens de hospitalisatie ligt 61% lager dan wanneer geen antibiotica wordt toegediend.

3.4.4.1.4 Het toedienen van corticoïden

Het toedienen van corticoïden (P -waarde $<0,01$) heeft een effect op de tijd tot het produceren van vaste mest en op de kans op het produceren van vaste mest. De kans op het vast worden van de mest ligt bij toediening van corticoïden 52% lager dan wanneer geen corticoïden worden toegediend (HR =0,48). In deze studie werd de mest bij 80,3% van de paarden, welke geen corticoïden kregen toegediend, vast. Het percentage paarden die corticoïden kregen toegediend en vaste mest produceerden, bedraagt 62,0%.

3.4.4.1.5 Leeftijd

Ook leeftijd (per eenheid hoger dan de eenheid, P -waarde $<0,01$) is een predictor voor de tijd tot het vast worden van de mest. De Hazard Ratio bedraagt 0,995: per maand dat het dier ouder wordt, daalt de kans om vaste mest te hebben met 0,5%.

3.4.4.2 Het optreden van sterfte

Er werd eveneens een finaal multivariabel Cox Regressie model gebouwd om de relatie tussen verschillende predictoren en de tijd tot sterfte te bestuderen, dit bij 162 paarden aangeboden met diarree. Volgende predictoren werden geanalyseerd: transfaunatie, toediening van antibiotica op de kliniek, leeftijd en het totaal eiwit gehalte.

3.4.4.2.1 Diagnose

Diagnose is geen predictor voor de tijd tot het optreden van sterfte. Toch varieert de duur tot het optreden van sterfte tussen de verschillende oorzaken van diarree: de gemiddelde tijd bedraagt bij paarden met een onbekende oorzaak van diarree 8,8 dagen (SD=6,8; M=7), bij dieren aangetast door parasieten 16,4 dagen (SD=16,3; M=9), en bij paarden met diarree wegens 'andere' oorzaken bedraagt dit 6,4 dagen (SD=4,3; M=6). Ondanks dit verschil is de rol van diagnose niet significant (P -waarde =0,34), vermoedelijk wegens te lage aantallen patiënten.

3.4.4.2.2 Transfaunatie

Ook het transfauneren van paarden (P -waarde =0,52) verschilde niet significant voor de tijd tot het optreden van sterfte. De gemiddelde survivaltijd bij paarden welke als behandeling getransfauneerd werden, bedraagt 11,1 dagen (SD=9,6; M=9; range 1-58). Paarden welke niet getransfauneerd werden, kennen een gemiddelde survivaltijd van 9,3 dagen (SD=11,7; M=5; range 1-20). Patiënten welke niet getransfauneerd werden, stierven bijgevolg sneller na aankomst op de Faculteit doch dit verschil is niet significant.

3.4.4.2.3 Het toedienen van antibiotica

Het toedienen van antibiotica op de Faculteit (P -waarde =0,02) heeft een significant verband met de tijd tot het optreden van sterfte. De Hazard Ratio bedraagt 3,6: indien een paard antibiotica toegediend kreeg tijdens de hospitalisatie, dan was de kans op sterfte 3,6 keer groter dan bij paarden welke geen antibiotica toegediend kregen. Waarschijnlijk gebeurt de toediening van antibiotica bij meer ernstige gevallen waardoor deze hoe dan ook een lager overlevingspercentage hebben. Een andere hypothese is dat het toedienen van antibiotica bij paarden met diarree een risicofactor is voor het optreden van sterfte wegens een floraverandering ter hoogte van de darm. In deze studie overleed 42,3% van de patiënten welke antibiotica toegediend kregen, terwijl slechts 7,8% van de patiënten, welke geen antibiotica kregen, overleed.

3.4.4.2.4 Leeftijd

Het finaal model toonde eveneens aan dat leeftijd per eenheid (per maand; P -waarde <0,01) significant verschilde voor de tijd tot het optreden van sterfte. De Hazard Ratio (HR) bedraagt 1,006: de kans op het optreden van sterfte ligt 0,6% hoger per maand dat het dier ouder wordt.

3.4.4.2.5 Totaal eiwit gehalte

Ook het totaal eiwit gehalte (P -waarde <0,01) is significant verbonden met de tijd tot het optreden van sterfte. Het totaal eiwit gehalte is bijgevolg een goede predictor: indien het totaal eiwit gehalte lager als 60 g/L is, dan overleven minder patiënten in vergelijking met wanneer het totaal eiwit gehalte hoger of gelijk aan 60 g/L is. In deze studie lag het sterftepercentage van dieren met een totaal eiwitgehalte hoger of gelijk aan 60 g/L op 19,5%, terwijl dit 39,3% bedraagt bij dieren met een totaal eiwitgehalte lager dan 60 g/L. De Hazard Ratio bedraagt 3,0: indien het totaal eiwit gehalte bij aankomst op de Faculteit lager dan 60 g/L is, dan is de kans op sterfte drie keer zo groot. Er is echter meer werk nodig om de specifieke afkapwaarde te bepalen, in dit onderzoek werd gebruik gemaakt van de referentiewaarde voor paarden (60 g/L). Het totaal eiwit gehalte werd ook als continue variabele bestudeerd: per daling van het totaal eiwit gehalte met 1 g/L, daalt de kans op overleven met 3% (HR 0,97; P -waarde =0,01). Dit kan verklaard worden door de algemene verzwakking die optreedt bij paarden met een hypoproteïnemie, wat tot de dood kan leiden indien het eiwit gehalte zich niet snel herstelt.

4. ALGEMENE CONCLUSIE

Over het effect van transfaunatie bij paarden met diarree is weinig gekend: in de literatuur zijn geen studies te vinden en het gebruik ervan wordt in handboeken en overzichtsartikels slechts sporadisch vermeld. Om dit effect beter in kaart te brengen, werd een retrospectieve cohort studie uitgevoerd op de database van Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent.

Het effect van transfaunatie op de genezing van een dier (vaste mest en sterfte) werd algemeen onderzocht. Over alle paarden heen in deze studie heeft transfaunatie een voorspellende waarde op

het vast worden van de mest: het transfauneren van patiënten heeft een significant negatief verband (P -waarde $<0,001$) met het vast worden van de mest. In deze studie produceerde 61,8% van de getransfauneerde patiënten vaste mest, terwijl 76,7% van de niet getransfauneerde patiënten vaste mest ontwikkelde. De tijd tot het vast worden van mest (multivariabel Cox Regressie model gebaseerd op 142 observaties) toonde eveneens een significant verschil (P -waarde $<0,001$) aan: de gemiddelde tijd tot het vast worden van mest bedraagt bij getransfauneerde paarden 6,2 dagen ($SD=6,9$; $M=4$), en bij niet getransfauneerde paarden 3,4 dagen ($SD=3,4$; $M=3$). Het optreden van sterfte (P -waarde $=0,46$) en de tijd tot sterfte (P -waarde $=0,52$) waren daarentegen niet significant verschillend tussen getransfauneerde en niet-getransfauneerde paarden. Om de doeltreffendheid van transfaunatie op verschillende types diarree te onderzoeken, werd het vast worden van de mest en het optreden van sterfte bestudeerd naargelang de oorzaak én het al dan niet transfauneren. Verschillen werden waargenomen, maar de groepsgroottes zijn te klein om hierover uitspraken te doen.

Ook andere predictoren werden voor het vast worden van mest en voor het optreden van sterfte nagegaan. Negatieve predictoren voor het vast worden van mest zijn het ras (koudbloed minder kans op vaste mest dan warmbloed), de diagnose (een parasitaire oorzaak van diarree minder kans dan een onbekende oorzaak), het toedienen van antibiotica, het toedienen van corticoïden, en een initieel hoger leukocyten gehalte. Risicofactoren voor het optreden van sterfte zijn het toedienen van antibiotica op de kliniek, een totaal eiwit gehalte lager dan 60 g/L en een oudere leeftijd.

De tijd tot het vast worden van mest en tot het optreden van sterfte werd eveneens bestudeerd. Negatieve predictoren voor de tijd tot het vast worden van de mest zijn diagnose (gemiddeld langer bij een parasitaire oorzaak dan bij een onbekende oorzaak), het toedienen van antibiotica op de kliniek, het toedienen van corticoïden en een oudere leeftijd. Deze predictoren doen de tijd tot het vast worden van de mest toenemen. Predictoren voor een kortere tijd tot het optreden van sterfte zijn het toedienen van antibiotica op de kliniek, een oudere leeftijd en een laag totaal eiwit gehalte.

De dataverzameling die in deze studie gebruikt werd, was gebaseerd op een populatie paarden waarvan de behandeling nooit gestuurd werd om achteraf analyses op te doen. Dit beperkt op een substantiële manier de conclusies die eruit kunnen getrokken worden. Specifiek voor de analyse van het effect van transfaunatie in deze studie is het grootste struikelblok het ontbreken van duidelijke criteria voor het inzetten van transfauneren. Naar alle waarschijnlijkheid werd transfaunatie minder ingesteld in gevallen van kortdurende of minder erge diarree, waardoor transfaunatie bij de statistische verwerking van de resultaten een eerder negatief effect op het herstel van de patiënten vertoont.

Om de al of niet aanwezige doeltreffendheid van transfaunatie verder te bestuderen, is een goed opgezette prospectieve klinische veldstudie nodig. Het transfauneren van een dier wordt dan ad random toegekend, zodat enkel toeval beslist welke behandeling een dier krijgt. Enkel op deze manier kan vertekening door selectie tegengegaan worden. Naast een betere studie naar het effect van

transfaunatie is eveneens verder onderzoek nodig naar de optimale bereiding, opslag en wijze van toediening aan paarden zodat het proces gestandaardiseerd kan worden voor eventueel gebruik in bijkomend studies.

5. REFERENTIES

- Aroniadis O.C., Brandt L.J. (2014). Intestinal Microbiota and the Efficacy of Fecal Microbiota Transplantation in Gastrointestinal Disease. *Gastroenterology & Hepatology* 10(4):230-237.
- Arroyo L.G., Weese J.S. (2009). *Clostridium Difficile* Enterocolitis. In : Lavoie J.P. & Hinchcliff K.W. (editors), *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult : Equine* (2de druk). Wiley-Blackwell, p 182-183.
- Båverud V., Gustafsson A., Franklin A., Lindholm A., Gunnarsson A. (1997). *Clostridium difficile* associated with acute colitis in mature horses treated with antibiotics. *Equine Veterinary Journal* 29(4):279-284.
- Bermudez-Brito M., Plaza-Díaz J., Muñoz-Quezada S., Gómez-Llorente C, Gil A. (2012). Probiotics Mechanisms of Action. *Annals of Nutrition & Metabolism* 61(1):160-174.
- Borody T.J., Paramsothy S., Agrawal G. (2013). Fecal Microbiota Transplantation: Indications, Methods, Evidence, and Future Directions. *Current Gastroenterology Reports* 15(8)337:1-7.
- Brandt L.J., Aroniadis O.C. (2013). An overview of fecal microbiota transplantation: techniques, indications, and outcomes. *Gastrointestinal Endoscopy* 78(2):240-249.
- Brook I. (1999). Bacterial Interference. *Critical Reviews in Microbiology* 25(3):155-172.
- Cammarota G., Ianiro G., Gasbarrini A. (2014). Fecal microbiota transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *Journal of Clinical Gastroenterology* 48(8):693-702.
- Chapman A.M. (2009). Acute Diarrhea in Hospitalized Horses. *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice* 25(2):363-380.
- Chaucheyras-Durand F. en Durand H. (2010). Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes* 1(1):3-9.
- Corning S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors* 2(Supplement 2):S1:1-6, doi: <http://dx.doi.org/10.1186%2F1756-3305-2-S2-S1>
- Costa M.C., Arroyo L.G., Allen-Vercoe E., Stämpfli H.R., Kim P.T., Sturgeon A., Weese J.S. (2012). Comparison of the Fecal Microbiota of Healthy Horses and Horses with Colitis by High Throughput Sequencing of the V3-V5 Region of the 16S rRNA Gene. *Public Library of Science One* 7(7):1-11.
- Costa M.C., Silva G., Ramos R.V., Staempfli H.R., Arroyo L.G., Kim P., Weese J.S. (2015). Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses. *Veterinary Journal* 205(1):74-80.

- Daly K., Proudman C.J., Duncan S.H., Flint H.J., Dyer J., Shirazi-Beechey S.P. (2012). Alterations in microbiota and fermentation products in equine large intestine in response to dietary variation and intestinal disease. *British Journal of Nutrition* 107(7):989-995.
- Davis J.L. (2015). Nonsteroidal anti-inflammatory drug associated right dorsal colitis in the horse. *Equine Veterinary Education*.
- DePeters E.J., George L.W. (2014). Rumen Transfaunation. *Immunology Letters* 162(2A):69-76.
- Ecke P., Hodgson D.R., Rose R.J. (1997). Review of Oral Rehydration Solutions for Horses with Diarrhoea. *Australian Veterinary Journal* 75(6):417-420.
- Feary D.J., Hassel D.M. (2006). Enteritis and Colitis in Horses. *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice* 22(1):437-479.
- Fraga M., Perelmuter K., Delucchi L., Zunuino P. (2011). Equine Native Microbiota as a Source of Beneficial Microbes. In : Leffhalm J.E. (editor), *Horses : Biology, Domestication, and Human Interactions*, p 111-119
- Frazer M.L. (2014). *Lawsonia intracellularis* Infection and Proliferative Enteropathy. In : Robinson N.E. (editor), *Current Therapy in Equine Medicine (7de druk)*. WB Saunders, London, p 345-348.
- Galvin N., Dillon H., McGovern F. (2004). Right dorsal colitis in the horse: minireview and reports on three cases in Ireland. *Irish Veterinary Journal* 57(8):467-473.
- Gough E., Shaikh H., Manges A.R. (2011). Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases* 53(10):994-1002.
- Grehan M.J., Borody T.J., Leis S.M. (2010). Durable alteration of the colonic microbiota by the administration of donor fecal flora. *Journal of Clinical Gastroenterology* 44(8):551-561.
- Kamada N., Chen G.Y., Inohara N., Núñez G. (2013). Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nature Immunology* 14(7):685-690.
- Kenney D.G. (2009). Malabsorption. In : Lavoie J.P. & Hinchcliff K.W. (editors), *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult : Equine (2de druk)*. Wiley-Blackwell, p 478-479.
- Koch T.G. (2009). Small Strongyle Infestation. In : Lavoie J.P. & Hinchcliff K.W. (editors), *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult : Equine (2de druk)*. Wiley-Blackwell, p 705-706.
- Landes A.D., Hassel D.M., Funk J.D., Hill A. (2008). Fecal Sand Clearance Is Enhanced with a Product Combining Probiotics, Prebiotics, and Psyllium in Clinically Normal Horses. *Journal of Equine Veterinary Science* 28(2):79-84.
- McConnico R.S. (2014). Acute Equine Colitis. In : Robinson N.E. (editor), *Current Therapy in Equine Medicine (7de druk)*. WB Saunders, London, p 297-301.
- McGovern K. (2013). Approach to the adult horse with chronic diarrhea. *Livestock* 18(5):189-194.
- Médina B., Girard I.D., Jacotot E., Julliand V. (2002). Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large

intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet. *Journal of Animal Science* 80(1):2600-2609.

- Naylor R.J., Dunkel B. (2009). The treatment of diarrhoea in the adult horse. *Equine veterinary Education* 21(9):494-504.
- Oliver O.E., Stämpfli H. (2006). Acute Diarrhea in the Adult Horse: Case Example and Review. *Veterinary Clinics of North America : Equine Practice* 22(1):73-84.
- Oliver O.E., Stämpfli H. (2009). Idiopathic Colitis. In : Lavoie J.P. & Hinchcliff K.W. (editors), *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult : Equine* (2de druk). Wiley-Blackwell, p 398-399.
- Owens C., Broussard E., Surawicz C. (2013). Fecal microbiota transplantation and donor standardization. *Trends in Microbiology* 21(9):443-445.
- Petrof E.O., Khoruts A. (2014). From Stool Transplants to Next-Generation Microbiota Therapeutics. *Gastroenterology* 146(6):1573-1582.
- Rager K.D., George L.W., House J.K., DePeters E.J. (2004). Evaluation of rumen transfaunation after surgical correction of left-sided displacement of the abomasum in cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 225(6):915-920.
- Rea M.C., Dobson A., O'Sullivan O., Crispie F., Fouhy F., Cotter P.D., Shanahan F., Kiely B., Hill C., Ross R.P. (2011). Effect of broad- and narrow-spectrum antimicrobials on *Clostridium difficile* and microbial diversity in a model of the distal colon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(1):4639-4644.
- Roberfroid (2000). Prebiotics and probiotics : are they functional foods? *The American Journal of Clinical Nutrition* volume 71(6):1682S-1687S.
- Santos A.S., Rodrigues M.A.M., Bessa R.J.B., Ferreira L.M., Martin-Rosset W. (2011). Understanding the equine cecum-colon ecosystem: current knowledge and future perspectives. *Animal* 5(1):48-56.
- Schoster A., Weese J.S., Guardabassi L. (2014). Probiotic Use in Horses - What is The Evidence For Their Clinical Efficacy? *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28(1):1640-1652.
- Smits L.P., Bouter K.E.C., De Vos W.M., Borody T.J., Nieuwdorp M. (2013). Therapeutic Potential of Fecal Microbiota Transplantation. *Gastroenterology* 145(5):946-953.
- Spier S.J. (1993). Salmonellosis. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 9(2):385-397.
- Stratford C.H., McGorum B.C., Pickles K.J., Matthews J.B. (2011). An update on cyathostomins: Anthelmintic resistance and diagnostic tools. *Equine Veterinary Journal* 43(Supplement s39):133-139.
- Stratford C.H., McGorum B.C. (2014). Antibiotic induced diarrhea. In : Robinson N.E. (editor), *Current Therapy in Equine Medicine* (7de druk). WB Saunders, London, p 302-303.
- Schumacher J., Edwards J.F., Cohen N.D. (2000). Chronic idiopathic inflammatory bowel diseases of the horse. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14(3):258-265.
- Traub-Dargatz J. (2009). Salmonellosis. In : Lavoie J.P. & Hinchcliff K.W. (editors), *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult : Equine* (2de druk). Wiley-Blackwell, p 680-681.

- Vrieze A., de Groot P.F., Kootte R.S., Knaapen M., van Nood E., Nieuwdorp M. (2013). Fecal transplant: A safe and sustainable clinical therapy for restoring intestinal microbial balance in human disease? *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 27(1):127-137.
- Vyncke K., Deprez P., Verryken K., Lefère L., Torfs S., van Loon G. (2012). Equine proliferatieve enteropathie veroorzaakt door *Lawsonia intracellularis*: geen zeldzame aandoening meer! *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 81(1):39-46.
- Wierup M., DiPietro J.A. (1981). Bacteriologic examination of equine fecal flora as a diagnostic tool for equine intestinal clostridiosis. *American Journal of Veterinary Research* 42(12):2167-2169.
- Wilson W.D., le Jeune S.S. (2009). Sand Impaction and Enteropathy. In : Lavoie J.P. & Hinchcliff K.W. (editors), *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult : Equine* (2de druk). Wiley-Blackwell, p 682-683.