

Het eerste geval van **Equine Parvovirus-Hepatitis** geassocieerde ziekte van Theiler in **Nederland**

Een dertienjarig springpaard vertoonde een acuut klinisch beeld van sloomheid, niet eten en neurologische verschijnselen. De neurologische problemen verergerden in korte tijd zodanig dat het paard moest worden geëuthanaseerd. Na overleg met dierenartsen van de Helpdesk Paard is het paard ingestuurd voor sectie, gesubsidieerd in het kader van monitoring. Met behulp van pathologisch onderzoek en aanvullende diagnostiek werd de diagnose equine parvovirus-hepatitis geassocieerde ziekte van Theiler, ook wel bekend als equine serum hepatitis gesteld.

In dit artikel worden klinische symptomen, oorzaak, diagnostiek en achtergrond van deze ziekte beschreven. Voor zover de auteurs bekend, is dit het eerste geval van equine parvovirus hepatitis dat bij een paard in Nederland is beschreven.

CASUSBESCHRIJVING

De dierenarts werd op vrijdagmiddag voor een visite geroepen bij een dertienjarige merrie, omdat zij sinds één dag klachten vertoonde. Het paard was niet fit, wilde niet eten en mestte

weinig. Een week daarvoor had het paard nog hele goede prestaties geleverd op een meerdaagse internationale springwedstrijd. De dag voordat de klachten begonnen, had het paard van een dierenarts van een andere praktijk een gewrichtsbehandeling gehad met IRAP (Interleukine-1 Receptor Antagonist Proteïne). Bij het klinisch onderzoek tijdens de visite was het paard erg sloom, had donkerroze slijmvliezen met gele vlekken, een pols van 60 slagen per minuut en een temperatuur van 37,2 graden Celsius. Er werd bloed onderzocht op de kliniek. De meest opvallende afwijkingen waren de verhoogde leverwaardes (AST >1083 IU/L, GGT 83 IU/L en totaal bilirubine 362 µmol/L*). Het paard is vervolgens in de kliniek opgenomen voor nader onderzoek en infuustherapie. De eerste dag werden de volgende bevindingen gedaan: bij rectaal onderzoek viel op dat er harde droge inhoud in colon en rectum aanwezig was. Bij echografisch onderzoek was een kleine hoeveelheid vrij buikvocht zichtbaar, de lever kon niet in beeld worden gebracht. Het paard leek moeite te hebben om te plassen, daarom werd ze gekatheteriseerd, waarbij 8 liter urine afliep. Het paard was op dit moment niet atactisch en had een normale staarttonus.

Thuis had het paard meloxicam (Metacam®), sucralfaat en omeprazol (Gastroguard®) toegediend gekregen, op de kliniek werd naast infuus ook ampicilline (Ampi-Dry 5000®) gentamycine (Genta-ject 10%®), dexadreson (Alfadex®) en metoclopramide gegeven. Tijdens het verblijf op de kliniek zijn de leverwaardes gecontroleerd, die bleken bij herhaling hoog. Daarnaast waren de hematocriet- en lactaatwaardes erg hoog en ondanks intensieve infuustherapie en toediening van plasma lukte het niet de hematocrietwaarde te normaliseren. Het paard vertoonde klinisch in toenemende mate neurologische symptomen, in eerste instantie ataxie, moeilijk plassen en dringen met het hoofd tegen de muur. Later werd het paard steeds apathischer en viel het ook soms om, maar kon dan nog wel opstaan. Begin van de derde dag na opname kon het paard niet meer overeind komen en waren de neurologische verschijnselen zo ernstig dat besloten werd, in overleg met de eigenaar, het paard te euthanaseren. Vlak voor de euthanasie is een serumbloedmonster genomen en opgestuurd naar de Gezondheidsdienst (Royal GD) in Deventer voor een nauwkeurige analyse van de leverparameters. Hieruit kwamen de volgende waardes:

Parameter	Gemeten waarde	Referentiewaarde (GD)
AST	1392 IU/L	189 - 430 IU/L
GGT	55 IU/L	8 - 27 IU/L
LDH	4085 IU/L	550 - 1700 IU/L
Bilirubine totaal	282 µmol/L	< 41 µmol/L
GLDH	44,3 IU/L	3,0 - 11,0 IU/L
Galzuren	83 µmol/L	< 15 µmol/L
Albumine	28,6 g/L	29,0 - 39,0 g/L

POST-MORTAAL ONDERZOEK

Macroscopie

Het paard verkeerde in een normale voedingstoestand. Het macroscopisch sectiebeeld werd gekenmerkt door een matige icterus en uitgebreide petechiën in de subcutis, in het mesenterium (foto 1), op het hart en in de longen. Er was sprake van geringe hydrops ascites en een geringe hydrothorax. De milt was licht vergroot en gekenmerkt door iets bolle randen. Het maagdarmkanaal was op sommige plaatsen leeg en op andere plaatsen juist overvuld met onder andere bloederige inhoud. De lever was opvallend klein en vooral in dorsoventrale richting sterk afgeplat en slap van consistentie. De lever had een egale donkerbruine kleur en er was geen zonale tekening zichtbaar (foto 2).

HISTOPATHOLOGIE

Er is uitgebreid microscopisch onderzoek

verricht, waarbij de microscopische bevindingen in de lever en de hersenen het meest opvallend waren. De sterke afname van het volume van de lever was microscopisch geassocieerd met uitgebreide panlobulaire lytische necrose van het parenchym. Voor zover nog levercellen werden aangetroffen vertoonden deze ernstige hydropische degeneratie (foto 3). Als gevolg van de massieve lytische necrose was er sprake van een onregelmatige afstand tussen centrale venen en de portale driehoeken en een collaps van het reticuline skelet van het leverweefsel (foto 4).

Er was matige canaliculaire cholestase zichtbaar.

In de grote hersenen en in de hersenstam was sprake van verspreid perivascular oedeem, in de neuropil was matig spongieus oedeem waarneembaar. Lokaal waren corticale puntbloedingen in de grote hersenen aanwezig. De veranderingen in de hersenen pasten bij hepato-encefalopathie.

AANVULLEND ONDERZOEK

In het leverweefsel is bij Royal GD door middel van ICP-MS het gehalte aan zware metalen en mineralen in mg/kg droge stof bepaald van arseen, cadmium, cobalt, chroom, koper, ijzer, mangaan, molybdeen, nikkel, lood, selenium, vanadium en zink. Er werden geen gehalten buiten de referentiewaardes aangetoond. Daarnaast waren PCR-onderzoek op EHV-1 (rhinopneumonie) en serologisch onderzoek op WNV (westnijlvirus) beide negatief.

Naar aanleiding van het beeld uit het pathologisch onderzoek is zowel leverweefsel als serum bloed van het paard onderzocht door middel van PCR-onderzoek op equine parvovirus-hepatitis (EqPV-H) bij het Institut für Virologie, Stiftung Tierärztliche Hochschule, Hannover. Beide monsters waren sterk positief met een Ct-waarde van respectievelijk 20,5 in het leverweefsel en een Ct van 23 in het serum van het paard. Onderzoek op equine hepacivirus (EqHV PCR) bij hetzelfde laboratorium verliep negatief.



Foto 1. Macroscopisch beeld van een deel van het darmkanaal. Het mesenterium vertoont geelverkleuring en puntbloedingen.

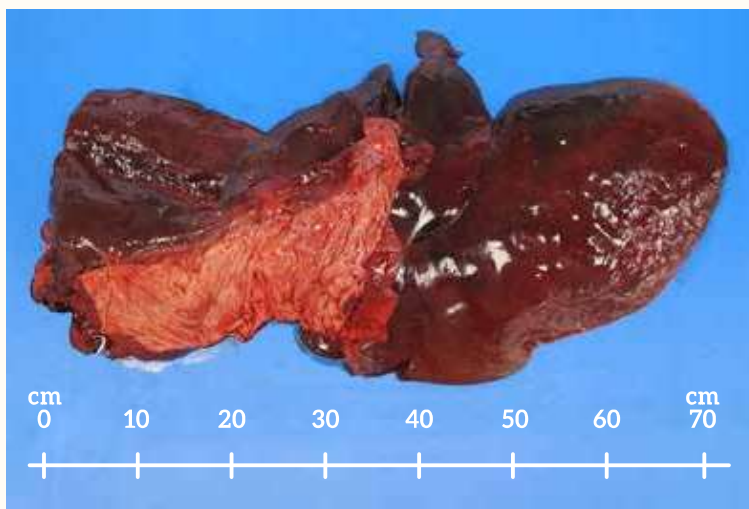


Foto 2. Macroscopisch beeld van de lever. De lever was te klein en vooral in dorso-ventrale richting afgeplat en had een slappe consistentie. N.B. Het witgekleurde weefsel links op de lever is een deel van het middenrif.

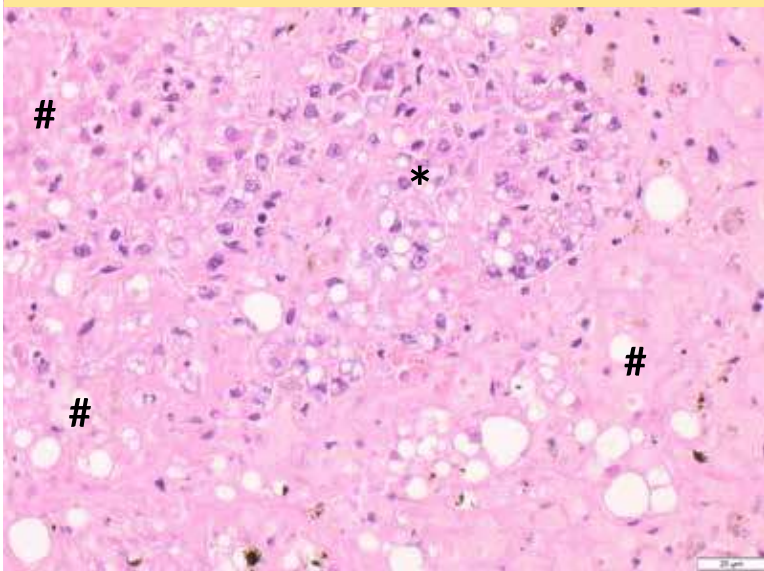


Foto 3. Microscopisch beeld van het leverweefsel (HE-kleuring). Lokaal zijn enkele herkenbare hepatocyten aanwezig (*), die sterke vacuolisatie vertonen (hydropische degeneratie). In de gebieden gemarkeerd met # is vervloeiing van het parenchym aanwezig als gevolg van lytische necrose. De afstandsbalk rechtsonder vertegenwoordigt 20 µm.

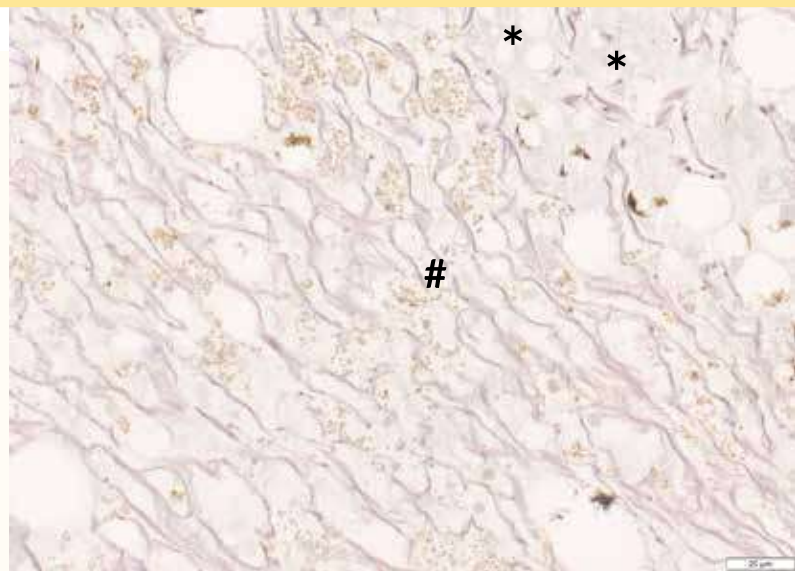


Foto 4. Microscopisch beeld van het leverweefsel (Gordon and Sweet's reticuline kleuring). In het gebied rechtsboven is de afstand tussen de grijs gekleurde reticuline vezels groter (*) dan in andere gebieden (#). Bij * zijn tussen de reticuline vezels nog hepatocyten aanwezig, elders (#) liggen de reticuline vezels dicht bij elkaar als gevolg van de collaps van het reticuline skelet door de lytische necrose. De afstandsbalk rechtsonder vertegenwoordigt 20 µm.

DISCUSSIE EN ACHTERGROND

Equine parvovirus-hepatitis (EqPV-H) en Equine hepacivirus (EqHV) gelden momenteel als de meest klinisch relevante agentia in het kader van virale hepatitis bij paarden. EqHV kan een subklinische hepatitis veroorzaken die zich soms ontwikkelt tot een chronische ziekte. EqPV-H wordt, behalve met subklinische of mild-klinische hepatitis, ook in verband gebracht met de ziekte van Theiler (TD = Theiler's disease). TD is een zeer ernstige aandoening gekenmerkt door een acute, ernstige hepatitis welke vaak fataal verloopt. In 2020 zijn voor het eerst EqPV-H geassocieerde gevallen van de ziekte van Theiler beschreven in Europa (Vengunst, EVJ 2020). Bij de meeste paarden verloopt een infectie met EqPV-H asymptomatisch of met subtiele klinische symptomen. In deze gevallen kan een milde hepatitis optreden welke gepaard gaat met verhoogde leverwaardes in het bloed.

Deze normaliseren over het algemeen binnen een tot vier weken. Een klein percentage (de huidige schatting is 2 %) van de met EqPV-H geïnfecteerde paarden ontwikkelt echter een acute,

heftige hepatitis met ernstige klinische symptomen passend bij TD. De hierbij het meest waargenomen symptomen zijn neurologische verschijnselen, icterus, sloomheid, anorexie en koliek. Het verloop van het klinisch ziektebeeld van TD is kort, het merendeel van de paarden (50-90%) verslechtert binnen een paar dagen zodanig dat ze sterven of moeten worden ge-euthanaseerd. Bij TD worden, naast verhoogde leverwaardes, soms ook een persistent hoog hematocriet (zoals ook in deze casus), metabole acidose en hypokalemie vastgesteld.

EqPV-H komt wereldwijd voor met viraemie-prevalenties variërend van 4 procent tot 20 procent en seroprevalenties van 15 procent tot 35 procent. Van bedrijf tot bedrijf blijkt de prevalentie echter sterk te variëren. Bij experimenteel geïnfecteerde paarden ontwikkelt zich een tot zes weken na inoculatie met EqPV-H een viraemie welke leidt tot een hepatitis (gebaseerd op verhoogde leverenzymen) ongeveer vijf tot acht weken na infectie. Vervolgens kan virusuitscheiding in orale, nasale en fecale monsters intermitterend aangetoond worden gedurende tenminste tien weken (Tomlinson, 2020).

TD wordt veelal geassocieerd met toediening van besmette biologische producten gemaakt van paardenbloed zoals serumproducten, botulisme/tetanus-antitoxine en allogene stamcellen. De toediening van zo'n biologisch product heeft dan meestal ongeveer vier tot tien weken voorafgaand aan de eerste klinische symptomen plaatsgevonden. Bij een recent onderzoek door Meister et. al. (Viruses, 2019) naar commerciële paardenserumpools, voor het vervaardigen van op serum gebaseerde producten voor medische- en onderzoeksdoeleinden, werd in elf van de achttien monsters EqPV-H-DNA aangetoond. Het materiaal waarin dit EqPV-H-DNA werd aangetoond was afkomstig uit diverse landen: USA, Canada, New Zeeland, Italië en Duitsland. EqPV-H wordt dus veel gevonden in paardenserumproducten, maar de prevalentie van TD is laag. Er is echter tot op heden geen studie bekend waarin paarden die zo'n product toegediend hebben gekregen, systematisch worden opgevolgd met behulp van bijvoorbeeld PCR-onderzoek en leverparameters op het optreden van subklinische of mild klinische hepatitis.

Inmiddels zijn meerdere TD casussen beschreven waarbij géén sprake was van het voorafgaand toedienen van producten van biologische oorsprong, en is gebleken dat de ziekte kan optreden als uitbraak op individuele bedrijven. Dit wijst erop dat alternatieve natuurlijke routes voor horizontale transmissie waarschijnlijk zijn. Tomlinson et al. (2019) beschreef bijvoorbeeld tien TD-gevallen die geen biologische paardenserumproducten toegediend hadden gekregen, waarbij in negen gevallen EqPV-H-DNA aan te tonen was in lever en/of bloedmonsters. Daarnaast bleek 54 procent van de 37 geteste contactpaarden EqPV-H-positief in een serumbloedmonster en was dit bij deze paarden significant geassocieerd met (subklinische) hepatitis (op basis van verhoogde leverwaardes). Gevallen van niet aan biologische producten gerelateerde TD worden vaker in het najaar gezien. Vanwege dit gegeven, de veronderstelde lange incubatietijd (4 tot 10 weken) en omdat EqPV-H kan worden overgedragen via bloedproducten, wordt aangenomen dat mechanische transmissie via vectoren (zoals bijvoorbeeld dazen) ook een manier van natuurlijke horizontale overdracht zou kunnen zijn. In een recente studie uit 2022 bleek overdracht van de infectie ook via uitscheiding van virus uit de neus mogelijk (Tomlinson, 2022). Aanvullend epidemiologisch onderzoek moet gaan uitwijzen welke transmissieroute het meest relevant is.

Dat overdracht van EqPV-H kan plaatsvinden door nasale uitscheiding, levert de vraag op welke maatregelen genomen kunnen worden om verdere verspreiding te beperken. Dit is een lastig vraagstuk. Er is namelijk sprake van een lange incubatietijd en daarnaast scheiden paarden tenminste tien weken na een acute infectie EqPV-H uit. Tevens kunnen paarden langdurig persistent geïnfecteerd zijn en de uitscheiding tijdens zo'n chronische infectie is nog niet onder-

zocht. Isolatie van geïnfecteerde paarden en het monitoren van contactpaarden in combinatie met eventuele herhaalde bemonstering op EqPV-H gedurende respectievelijk vele weken of maanden zou aan de orde zijn, hetgeen nauwelijks werkbaar is (Tomlinson 2022, Cavalleri 2022). Bij verdenking op infectie met EqPV-H kan men proberen door middel van PCR-onderzoek in serumbloed of leverweefsel het virus aan te tonen. Leverweefsel kan ante-mortem (biopt) of post-mortem worden verkregen. Een leverbiopt kan het beste onder echografische begeleiding genomen worden. In geval van fulminante hepatitis kan de levermassa namelijk significant afgenomen zijn (zoals ook in de hier beschreven casus het geval was), wat het nemen van een biopt bemoeilijkt. Histologie op leverweefsel kan behulpzaam zijn bij het uitsluiten dan wel aantonen van andere mogelijke oorzaken van leverproblemen zoals pyrrolizidine alkaloiden-intoxicatie of ijzerintoxicatie. Ook kan het helpen bij het nauwkeuriger vaststellen van de ernst van eventuele leverafwijkingen (leverfibrose, levercirrose) en zo meer informatie geven over de prognose. Hoe het paard beschreven in deze casus de EqPV-H infectie heeft opgelopen is onduidelijk. Een IRAP-behandeling wordt in principe met autoloog serum (van het paard zelf) uitgevoerd en zou dus, mits geen materiaal verwisseld is en schone apparatuur gebruikt is, niet de bron kunnen zijn. Daarnaast was het interval van behandelen tot het optreden van de klinische problemen kort. De incubatietijd van TD is normaal gesproken aanmerkelijk langer. Het is echter niet helemaal duidelijk of er geen eerdere behandelingen met paardenserum bevattende producten zijn uitgevoerd. Het paard ging regelmatig op (internationale) wedstrijd en gezien de optie

van horizontale transmissie kan de infectie op deze manier zijn opgepikt, maar dat blijft speculeren omdat er geen informatie en bloedmonsters beschikbaar zijn van contactpaarden.

CONCLUSIE EN KLINISCHE RELEVANTIE

In dit artikel beschrijven we het eerste gedocumenteerde geval van EqPV-H hepatitis (ziekte van Theiler) bij een paard in Nederland. Het paard vertoonde de klinische symptomen, veranderingen in de bloedwaardes en post-mortem bevindingen die passen bij het beeld van TD en zowel serumbloed als leverweefsel was bij PCR-onderzoek sterk positief op EqPV-H. EqPV-H moet in de differentiële diagnose worden meegenomen bij (sub)klinische hepatitis, ook als er geen historie is van het toedienen van een product van biologische oorsprong. Daarnaast moeten paardendierenartsen zich ervan bewust zijn dat toediening van biologische producten gemaakt van heteroloog paardenbloed een besmettingsrisico kan opleveren met mogelijk fatale gevolgen. Screenen op EqPV-H van dit soort producten (of donordieren voorafgaand aan afname van materiaal) is daarom sterk aan te raden.

EqPV-H is een recent ontdekt virus waar veel onderzoek naar wordt gedaan, waardoor klinische relevantie, epidemiologie en consequenties steeds duidelijker worden. Dit artikel weerspiegelt de kennis op het moment van schrijven, dierenartsen worden aangemoedigd overleg te plegen met een specialist over klinische gevallen van EqPV-H infecties.

LITERATUUR

Kijk voor de referenties horend bij dit artikel op de TvD-website.

* IDEXX Catalyst chemistry analyzer, reference values: AST 100-600U/L, GGT 0-87 U/L, bilirubine 0-60 micromol/L.