

Onderzoek naar bescherming van 'core' vaccins bij honden met de Vaccicheck® titertest

Bachelor in de agro- en biotechnologie
Afstudeerrichting dierenzorg
Bachelorproef



Studenten: Danschotter Larissa en Devroe Lore
Academiejaar 2017-2018
Begeleidende lector: Wim Buddaert
Stagementors: Janna Wittebroodt en Suze Bogaerts

Dierenartscentrum Animo
Damse Vaart-Zuid 75
8310 Sint-Kruis (Brugge)
www.animodap.be

Vets for Pets
Albert I laan 107
8620 Nieuwpoort
www.vetsforpets.be

Woord vooraf

Het afgelopen jaar werd er veel tijd en kennis geïnvesteerd in het opbouwen en schrijven van deze bachelorproef. Omdat dit iets is wat wij niet alleen konden, willen wij graag verschillende mensen bedanken.

Larissa liep stage in DAC Animo: *“Ik wil graag DAC Animo bedanken voor de leerrijke stage en voor hun hulp bij het verzamelen van bloedstalen in functie van mijn bachelorproef. Ik heb tijdens mijn stage zeer veel bijgeleerd en ik ben dankbaar dat ik de kans gekregen heb om mijn kennis en praktische ervaring te verruimen.”*

Lore kreeg gedurende 30 dagen de kans om stage te lopen bij dierenartsenpraktijk Vets for Pets: *“Dit was een heel leerrijke stageplek en ik heb er enorm van genoten. Dierenartsen Guy en Suze namen steeds de tijd om alles op een duidelijke manier uit te leggen en ze zorgden ervoor dat ik me meteen op mijn gemak en thuis voelde. Ik zou hen hier dan ook graag voor bedanken.”*

Geen titertesten zonder bloedstalen. Zonder de hulp van dr Elise Buyse, dr Anne-Catherine Jaspar (dierenartsenpraktijk Anoa), dr Sabine Schoofs (dierenartsenpraktijk Clos Fleuri), dr Jessica Cardon (dierenartsenpraktijk Clos Fleuri), dr Guy Colson & Suze Bogaerts (dierenartsenpraktijk Vets for Pets) en dr Janna Wittebroodt, dr Astrid Verstraeten, dr Ina Van Betsbrugge, dr Julie Depuydt, dr Veerle Durnez van DAC Animo zou het maken van deze bachelorproef onmogelijk geweest zijn en wij zijn hen hier enorm dankbaar voor. Natuurlijk ook een grote dankjewel aan de baasjes van de geteste honden om hieraan mee te werken.

Vervolgens willen wij ook meneer Hans van Brussel (NML Health) bedanken voor het schenken van de Vaccicheck® testen en meneer Merijn Vanhee voor alle informatie omtrent ELISA-testen, om ons in contact te brengen met NML Health en voor de antwoorden op onze vele vragen. Ook mevrouw Michèle Desmet zijn we zeer dankbaar voor de hulp omtrent het statistisch verwerken van onze resultaten.

Tenslotte willen wij ook onze stagebegeleider meneer Wim Buddaert bedanken voor het nalezen en verbeteren van ons eindwerk.

**Danschotter Larissa
Devroe Lore
28 mei 2018**

GEINTEGREERD EINDWERK

Titel

Onderzoek naar bescherming van 'core' vaccins bij honden met de Vaccicheck® titertest

Abstract

Er is nog steeds veel onduidelijkheid over hoe frequent een hond dient gevaccineerd te worden. 'Core' vaccins zijn vaccins die in principe aan alle honden over de hele wereld moeten toegediend worden. Het gaat hier meer specifiek over vaccins die beschermen tegen infecties met canine distemper virus (CDV), canine adenovirus (CAV; virus dat hepatitis veroorzaakt) en varianten van het canine parvovirus type 2 (CPV-2). 'Non-core' vaccins zijn vaccins die lokaal van belang zijn zoals diegene die beschermen tegen kennelhoest en rattenziekte.

Totnogtoe wordt na de primovaccinatie een jaarlijkse herhaling aangeraden van 'core-' en 'non-core vaccins'. In januari 2016 publiceerde de Vaccination Guideline Group van World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) een geüpdatete richtlijn betreffende het vaccineren van honden en katten met de 'core' vaccins. Hierin werd opgenomen dat pups op een leeftijd van 8-9 weken het eerste vaccin toegediend dienen te krijgen, gevolgd door een herhalingsvaccin 3-4 weken later. Het derde vaccin wordt geplaatst op een leeftijd van ongeveer 16 weken. Na dit basisvaccin dient een boostervaccin gegeven te worden op 6-12 maanden oud. Volwassen dieren dienen driejaarlijks ingeënt te worden. Onderzoek heeft namelijk aangetoond dat de Duration Of Immunity (DOI) van 'core-vaccinaties' tegen virussen zeer lang tot zelfs levenslang blijft bestaan (Schultz *et al.*,2009).

Met dit eindwerk willen we enerzijds de positieve effecten van het titeren in de verf zetten en anderzijds onderzoeken of het wel veilig is om honden slechts driejaarlijks te vaccineren. Dit wordt getest met behulp van Vaccicheck®, een serologische titertest met een hoge specificiteit, sensitiviteit en nauwkeurigheid die zowel de antilichamen test die dieren verkrijgen uit vaccinaties als deze die uit de biest gehaald worden (maternale antilichamen). Dit met slechts 1 druppel bloed waardoor dieren dus niet langdurig gefixeerd moeten worden bij bloedname.

Met behulp van een semi-kwantitatieve schaal kunnen de resultaten geïnterpreteerd worden. Men kan zo testen aan de hand van het aantal antilichamen of het aangewezen is zijn om dieren (opnieuw) te vaccineren.

Trefwoorden

- Canine Adenovirus
- Canine Distemper Virus
- Canine Parvovirus
- Vaccicheck®
- Titertest

Inhoudsopgave

GEINTEGREERD EINDWERK	3
Titel	3
Onderzoek naar bescherming van ‘core’ vaccins bij honden met de Vaccicheck®	
titertest	3
Abstract	3
Trefwoorden	3
Inhoudsopgave	4
1 Doelstelling	6
2 Inleiding/literatuurstudie	7
2.1 ‘core’ vaccins en ‘non-core’ vaccins	7
2.1.1 Onderscheid twee soorten vaccins.....	7
2.1.2 Aandoeningen waartegen “core vaccins” beschermen	8
2.2 Vaccineren	17
2.2.1 Werking van het immuunsysteem.....	17
2.2.2 Antilichamen of antigenen?	23
2.2.3 Werking van een vaccin	23
2.2.4 Verschillende types van vaccins.....	24
2.2.5 Soorten commerciële ‘core’ vaccins	26
2.2.6 WSAVA-richtlijnen ‘core’ vaccins.....	28
2.2.7 Nadelen vaccineren hond.....	31
2.3 Detectie van antilichamen en antigenen	33
2.3.1 ELISA voor detectie antigenen	33
2.3.2 ELISA voor detectie van antilichamen	34
2.4 Titeren.....	35
2.4.1 Gebruik titertest volgens WSAVA	35
2.4.2 Soorten in-house titertesten	36
2.5 Bloed.....	41
2.5.1 Richtlijnen bloedname en bewaren bloedmonsters	41
2.5.2 Plaats van bloedname	43
2.5.3 Functies bloed.....	43
2.5.4 Samenstelling bloed	44
2.5.5 Serum of plasma?	46
2.5.6 Soorten onderzoeken	46
2.5.7 Het gebruik van bloed in functie van de Vaccicheck	50
3 Materiaal en methode	51
3.1 Verzamelen van serum- en plasmastalen.....	51
3.2 Onderzoek serumstalen met behulp van Vaccicheck®.....	51
3.2.1 Werking Vaccicheck®	51
3.2.2 Uitvoeren Vaccicheck®	51
3.2.3 Inventarisatie bloedstalen.....	56
4 Resultaten	58
4.1 Algemene gegevens.....	60
4.2 Verdeling immuunstatus honden	62
4.3 Immuunstatus dieren in functie van verschillende factoren.....	63
4.3.1 Immuunstatus in functie van geslacht.....	63
4.3.2 Immuunstatus in functie van leeftijd.....	64
4.3.3 Immuunstatus in functie van gewicht.....	65
4.3.4 Immuunstatus in functie van gebruikte vaccin	66
4.3.5 Immuunstatus in functie van tijd sinds laatste vaccin.....	67
4.3.6 Immuunstatus in functie van ras.....	68
5 Discussie en algemeen besluit	70
5.1 Adviezen geteste honden	70
5.2 Besluit honden laagste score: seronegatief	72

5.3	Besluit licht seropositieve honden	73
5.4	Besluit seropositieve honden.....	74
5.5	Besluit hoog seropositieve honden.....	76
5.6	Besluit immuunstatus in functie van geslacht	77
5.7	Besluit immuunstatus in functie van leeftijd	77
5.8	Besluit immuunstatus in functie van gewicht	78
5.9	Besluit immuunstatus in functie van gebruikte vaccin	78
5.10	Besluit immuunstatus in functie van tijd sinds laatste vaccin	79
5.11	Besluit immuunstatus in functie van ras.....	79
5.12	Enkele hypothesen.....	81
5.12.1	Resultaten chi-kwadraat test	81
5.13	Vergelijking bestaande studie.....	82
5.14	Eigen mening	87
5.15	Algemeen besluit.....	87
6	Bio-ethische reflectie	89
7	Publiceerbaar artikel	91
8	Bijlagen	I
8.1.1	Gewicht van de hond en resultaat	I
8.1.2	Soort vaccin en resultaat.....	I
8.1.3	Ras en resultaat	II
	Lijst met gebruikte afkortingen	III
	Lijst met figuren	IV
	Lijst met tabellen	V
	Lijst met grafieken.....	VI
	Bronvermelding.....	VII

1 Doelstelling

Momenteel geven de richtlijnen van WSAVA aan dat de hond slechts driejaarlijks gevaccineerd moet worden ter bescherming tegen hepatitis, parvovirose en distemper; de zogenaamde 'core-vaccins'. Toch zijn er honden die in deze tussenperiode van 3 jaar nog geïnfecteerd kunnen worden én honden die na 3 jaar nog steeds hoog seropositief zijn en waarvoor hervaccinatie dus eigenlijk onnodig is. Vaak wordt er niet bij stilgestaan bij het feit dat vaccineren wel degelijk voor (ernstige) bijwerkingen kan zorgen en dan zeker bij honden die allergisch zijn voor een component van deze vaccins. Bij eigenaars van honden is er nog een grote onwetendheid over wat vaccineren nu juist inhoudt en ze weten vaak niet dat er sneltesten op de markt zijn om de immunestatus van de hond te bepalen. Er zijn ook nog heel wat dierenartsen die ietwat wantrouwig staan tegenover titerbepalingen.

Het bekend maken van het bestaan van sneltesten zoals de Vaccicheck® is belangrijk om enerzijds eigenaars te informeren en anderzijds dierenartsen aan te sporen om er gebruik van te maken. Dierenartsen stellen voor om de hond jaarlijks of driejaarlijks te vaccineren zonder te testen of dit wel echt nodig is. Aangezien er geweten is dat vaccineren wel degelijk voor bijwerkingen kan zorgen is het zeker nuttig om te wachten tot dit echt nodig is. Wanneer meer dierenartsen een sneltest gebruiken, zullen deze in de toekomst goedkoper worden. Op deze manier kan het titeren voor de eigenaars ook financieel interessant worden.

Met dit eindwerk willen we enerzijds de positieve effecten van het titeren in de verf zetten en anderzijds onderzoeken of het wel veilig is om honden slechts driejaarlijks te vaccineren. Daarbij willen we ook de onderlinge verschillen op basis van ras, geslacht, leeftijd, soort vaccin,... onder de loep nemen en stilstaan bij de beperkingen en negatieve punten van het gebruik van sneltesten.

2 Inleiding/literatuurstudie

2.1 'core' vaccins en 'non-core' vaccins

2.1.1 Onderscheid twee soorten vaccins

De eerste groep vaccins zijn de 'core' vaccins. Dit zijn de vaccins die onafhankelijk van de omstandigheden en de geografische locatie aan de hond toegediend worden. De 'core' vaccins worden om de drie jaar toegediend indien het dier alle vaccins correct toegediend kreeg als puppy. Er moet dus sprake zijn van een volledige basisvaccinatie.

Volgens de huidige richtlijnen behoren parvo (canine parvovirus), hondenziekte (canine distempervirus) en hepatitis (canine adenovirus) tot de 'core' vaccins.

De tweede groep vaccins zijn de 'non-core' vaccins. Dit zijn vaccins die toegediend worden afhankelijk van de activiteiten van de hond en de risico's waaraan het dier blootgesteld wordt. De 'non-core' vaccins dienen jaarlijks toegediend te worden. Volgens de huidige richtlijnen behoren kennelhoest (*Bordetella bronchiseptica* en/of parainfluenza) en de ziekte van Weil of leptospirose tot deze vaccinaties. In Nederland behoort de ziekte van Weil wel tot de 'core' vaccins en niet tot de 'non-core' vaccins aangezien er steeds meer melding gemaakt wordt van dieren die besmet zijn.

Core	Non-core	Not recommended
Canine distemper virus	Canine parainfluenza virus	Canine enteric coronavirus
Canine adenovirus	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	
Canine parvovirus type 2	<i>Leptospira</i>	
Rabies virus (in countries endemic for the disease)	<i>Borrelia</i>	

Figuur 1: Core en non-core vaccins

2.1.2 Aandoeningen waartegen “core vaccins” beschermen

2.1.2.1 Distemper

Etiologie

Het canine distemper virus (CDV) wordt veroorzaakt door een RNA morbillivirus dat tot de Paramyxoviridae familie gerekend wordt. Op genetisch vlak wordt ze onder meer gelinkt aan het mazelenvirus en aan het virus dat runderpest bij herkauwers veroorzaakt. Het CDV is gevoelig aan de meeste desinfectantia en aan oplosmiddelen voor vetten zoals ether aangezien het virus een lipoproteïenmembraan bevat dat vetminnend of lipofiel is.

Het virus kan verspreid worden door direct contact met secreten van besmette individuen zoals faeces, speeksel en urine, maar in de meeste gevallen worden honden geïnfecteerd door inademing van viruspartikels in aërosolvorm. Besmette honden kunnen het virus soms maandenlang uitscheiden.

Uitroeiing van distemper is onmogelijk omdat het virus voorkomt in populaties van wilde dieren zoals vossen, fretten, dassen, mangoesten,... en van hieruit de hondenpopulatie kan infecteren.

Pathogenese

Aan het begin van de infectie komen de viruspartikels terecht in de macrofagen van de bovenste luchtwegen (neus, neusbijholten, mondholte, keelholte, strottenhoofd) en in de longen. Deze macrofagen vervoeren het virus naar het lymfoïde weefsel waar de vermenigvuldiging plaats vindt. Later bereikt het dan de lymfoïde organen van het volledige lichaam (waaronder de milt, maag en darmen).

Ongeveer vijf dagen na de infectie vindt de viremische fase plaats (viruspartikels komen terecht in het bloed). Tijdens deze fase kan het dier klinische verschijnselen zoals koorts, depressie en anorexie vertonen. Nog eens negen dagen later wordt het CDV waargenomen in het zenuwweefsel en in het epitheel van de patiënt. De klinische reacties hierop zijn afhankelijk van de immunrespons en leeftijd van het dier.

Bij honden met een zwakke immuniteit verspreidt het virus zich naar de huid, het epitheel van organen en uiteindelijk ook naar het centrale zenuwstelsel. Deze dieren lijden aan respiratoire, gastro-intestinale en neurologische ziektes waaraan het dier uiteindelijk kan overlijden.

De viremische fase kan bij honden met een matig immuunsysteem leiden tot milde of subklinische infecties. In dit geval blijft het virus aanwezig in de longen, de huid of het centrale zenuwstelsel. Honden kunnen volledig herstellen maar in sommige gevallen zijn er toch dieren die zenuwstoornissen ontwikkelen. Deze patiënten blijven het virus persisterend uitscheiden.

De laatste groep zijn de honden waarbij het immuunstelsel volledig op punt staat. Deze dieren kunnen het virus volledig neutraliseren en ruimen het binnen de veertien dagen op binnenin het lichaam. Hierdoor wordt het virus bij deze honden niet uitgescheiden via secreties.

Symptomen

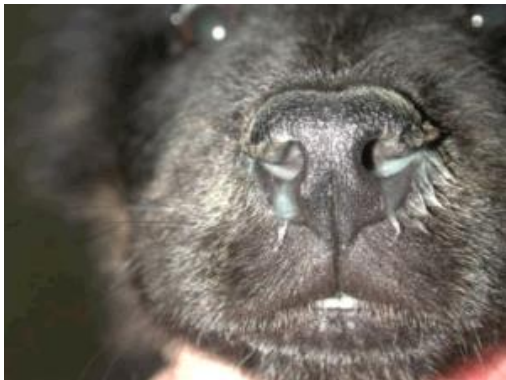
De hoogste mortaliteitscijfers (soms >50%) worden teruggevonden bij puppy's, meestal als gevolg van anorexie, pneumonie en encephalitis.

De beginfase (drie tot zes dagen na de infectie) kan gekenmerkt worden door kortstondige koorts en er kan ook anorexie optreden. Indien men op dit moment het volledige bloedbeeld bekijkt, kan leukopenie waargenomen worden en dan voornamelijk een tekort in het aantal lymfocyten. Klinische verschijnselen worden in deze fase meestal niet waargenomen.



Figuur 2: Dermatitis

Al snel treedt er een tweede koortsperiode op die vergezeld kan worden door sereuze neus- en mucopurulente oogafscheiding, lethargie en anorexia. Hierop kunnen gastro-intestinale problemen zoals braken, diarree en bloedbraken (hematemesis) volgen alsook respiratoire problemen zoals conjunctivitis, hoesten en dyspnee. In sommige gevallen treden er secundaire bacteriële infecties op zoals bronchopneumonie, dermatitis en pustels op de huid.



Figuur 4: Neusvloei



Figuur 3: Oogvloei

Het klinisch beeld wordt vaak door zenuwsymptomen gecompliceerd. Enkele voorbeelden hiervan zijn aanvallen, ataxie (verstoring coördinatie), hypermetrie (overdreven reacties) en para- (zwakte van de onderste ledematen) en tetraparese (zwakte van de vier ledematen).



Figuur 6: Paraparese



Figuur 5: Hypermetrie

Honden die de acute fase hebben doorstaan kunnen hyperkeratose aan de voetkussens en neusspiegel krijgen en ook hypoplasie van het email van de tanden. Bij drachtige dieren kan abortus optreden.



Figuur 9: hyperkeratose van de voetkussens



Figuur 8: hypoplasie van het email

Diagnose

Een eerste manier is hematologisch onderzoek. Tijdens dit bloedonderzoek kan nagegaan worden of er sprake is van lymfopenie, wat echter niet altijd wil zeggen dat het dier de ziekte van Carré wel degelijk heeft.

Het canine distemper virus kan op verschillende manieren gediagnosticeerd worden. Bij levende dieren kunnen huidafkrabsels, secreten (vaginaal, tracheaal of uit de conjunctiva), bloed of beenmerg gebruikt worden voor directe of indirecte immunofluorescentie. Bij de directe methode worden de antilichamen onmiddellijk gelinkt aan de target in de cel. Hierdoor gebeurt dit onderzoek heel snel maar is de test minder gevoelig aangezien er minder antilichamen gebonden worden aan het antigeen in vergelijking met de indirecte methode.

Het is mogelijk dat serologisch onderzoek een foutief beeld geeft, want de aanwezigheid van veel antistoffen kan ook wijzen op vaccinatie of een vroegere infectie.

Vaak wordt beeldvorming gebruikt om een diagnose te stellen. Respiratoire symptomen kunnen met behulp van RX-toestellen aangetoond worden op thoraxfoto's en met MRI kan encefalitis aangetoond worden. Andere manieren zijn virusisolatie uit vol bloed, serum of cerebrospinaal bloed en polymerase chain reaction (PCR).

Post mortem kan bevestigd worden dat het dier distemper heeft door het aantonen van antilichamen in de amandelen, in het urinaire stelsel, in het respiratoire stelsel en in het centrale zenuwweefsel met behulp van immunofluorescentie.

Behandeling

Behandeling van distemper is symptomatisch en ondersteunend, een specifiek geneesmiddel is op heden nog niet voorhanden. De behandeling heeft tot doel de secundaire bacteriële infecties te beperken, om de vochthuishouding van het lichaam te ondersteunen en om neurologische aandoeningen te voorkomen. Als behandeling kunnen Breedspectrum antibiotica, elektrolytenoplossingen, antipyretica, analgetica en middelen tegen convulsies (zoals diazepam) gebruikt worden. Het is aangewezen om met behulp van een antibiogram, waarbij de bacterie uitgezet wordt op een voedingsbodem, na te gaan welke kiemen aanwezig zijn. Zo kan men overgaan tot smalspectrum antibiotica om resistentie tegen te gaan want er wordt nagegaan aan welke soort antibioticum het dier (on)gevoelig is. Als de patiënten neurologische symptomen vertonen maar de aandoening niet systemisch is, kunnen glucocorticosteroïden toegediend worden om zenuwsymptomen te controleren. Zijn deze echter niet onder controle te houden en breiden ze uit, dan is euthanasie aan te raden.

Preventie

Preventie kan simpelweg gebeuren door vaccinatie. Hoeveel keer en wanneer dit moet gebeuren zal verder in deze literatuurstudie nog aan bod komen. (zie 2.2.6.2 Actuele richtlijnen gezelschapshonden)

Dit virus komt af en toe nog voor aangezien pups soms geïnficeerd raken met een wild CDV-type voordat de immunisatie op punt staat. Andere oorzaken zijn het hanteren van een foutief vaccinatieprotocol of door het niet-vaccineren bij honden in dierenasiels en dierenwinkels.

Bij fokkers of op andere plaatsen waar veel honden samenkomen, is het belangrijk om hygiëne hoog in het vaandel te dragen. Het gebruik van desinfectantia op basis van quaternaire ammoniumverbindingen is een zeer goede manier om kennels te vrijwaren van het canine distemper virus.

2.1.2.2 Hepatitis

Etiologie

Hepatitis wordt veroorzaakt door het canine adenovirus type 1 (CAV-1). Het virus is resistent tegen alcoholen, zuren, formaline en warmte. Het virus kan buiten de gastheer bij kamertemperatuur enkele weken tot maanden overleven. Natriumhypochloriet (NaClO) en halogenen (fluor, chloor, broom, jood en astaat) zijn effectieve desinfectantia.

Verspreiding

De ziekte wordt bijna niet meer vastgesteld in België dankzij het goede vaccinatiebeleid. Het is wel nog steeds terug te vinden in ontwikkelingslanden waar slechts een klein gedeelte van de honden gevaccineerd wordt. Het virus wordt ook nog steeds verspreid door wilde carnivoren zoals vossen, waarbij geïnfecteerde dieren vaak encephalitis vertonen.

CAV-1 wordt uitgescheiden via alle secreties en excreties. Een besmetting kan zowel via direct als indirect contact gebeuren, al is besmetting per os frequenter voorkomend dan besmetting via de lucht. De grootse infectiewegen zijn besmetting via speeksel, urine, faeces en geïnfecteerde honden. Honden die genezen zijn kunnen nog 6 maand na de infectie het virus uitscheiden via hun urine.

Pathogenese

De primaire infectie en vermeerdering gebeurt ter hoogte van de tonsillen en de regionale lymfeklieren. Hierna ontstaat er een viremie. Deze zorgt voor een vermeerdering van het virus ter hoogte van de organen. Het virus bezit een tropisme voor het endotheel van de bloedvaten. Daarnaast kunnen ook de lever, nieren, milt en longen geïnfecteerd worden.

Symptomen

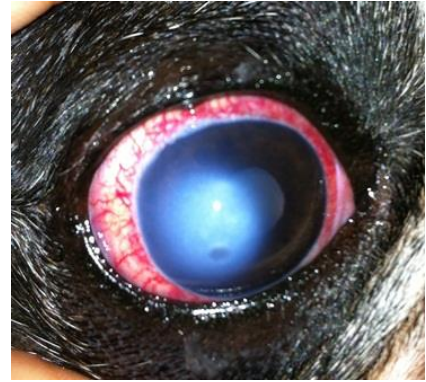
De incubatieperiode van hepatitis veroorzaakt door het canine adenovirus type 1 bedraagt 4 tot 9 dagen. Hepatitis heeft een mortaliteit van 10% tot 30% en is het dodelijkst bij dieren die jonger zijn dan 1 jaar.

Tijdens de eerste fase heeft het dier hoge koorts (41°C) gedurende 1 tot 6 dagen en kan leukopenie voorkomen.

Typische symptomen van hepatitis zijn: apathie, anorexie, polydipsie, conjunctivitis, sereuze uitvloeit ter hoogte van de ogen en neus, buikpijn, braken en soms proteïnurie. Daarnaast kan het dier ook tekenen vertonen van hyperemie, petechiën in de mond, en vergrootte tonsillen. Door de koorts kan er tachycardie optreden en ook oedeem ter hoogte van het hoofd, de nek en de romp.

Naast de pijnlijk vergrootte lever is ook de stollingstijd van het bloed verbonden met de ernst van de ziekte. Icterus op de mucosa, huid en sclera van het oog kan in sommige gevallen voorkomen. Als laatste kan er necrose van de hepatische cellen optreden.

Dieren die herstellen, eten zeer goed, maar winnen traag aan gewicht. Ook kunnen er tijdens de herstelperiode oogveranderingen voorkomen zoals corneatroebeling. In de meeste gevallen is dit unilateraal maar uitzonderlijk ook bilateraal. De corneadystrofie is van voorbijgaande aard.



Figuur 10: Corneadystrofie

Diagnose

Door het plots opkomen van de ziekte en de typische bloedingen kan hepatitis vermoed worden. Soms is het echter moeilijk te onderscheiden van parvovirose waardoor verdere testen belangrijk zijn.

De aandoening kan vastgesteld worden door middel van bloed- en urineonderzoek waarin het virus teruggevonden kan worden. Daarnaast kan ook gebruikt gemaakt worden van ELISA, serologische testen en PCR testen. Met PCR kan een onderscheid gemaakt worden tussen CAV-1 en CAV-2.

Post mortem kan de lever onderzocht worden op duidelijke veranderingen door middel van virus isolatie, immunofluorescentie PCR of fluorescentie.

Behandeling

Een echte behandeling tegen CAV-geïnduceerde hepatitis bestaat niet. Vooral symptomatische en ondersteunende therapie is van toepassing. De therapie is belangrijk om een secundaire bacteriële infectie te voorkomen en de vloeistofbalans in orde te houden. Bij zeer zieke dieren kan een bloedtransfusie nodig zijn.

Preventie

Preventie bestaat uit het vaccineren van de hond tegen virussen die hepatitis veroorzaken.

2.1.2.3 Parvovirose

Etiologie

Parvovirose bij de hond wordt veroorzaakt door virussen die behoren tot de familie van de parvoviridae. Er zijn 2 soorten canine parvovirussen: type 1 (CPV-1) en type 2 (CPV-2), waarvan CPV-2 de veroorzaker is van hemorrhagische enteritis en myocarditis bij de hond. CPV-1 wordt gezien bij pups van 1-3 weken en veroorzaakt diarree, ademhalingsproblemen en anorexie.

CPV-2 is een zeer resistent virus dat minstens 1 jaar infectieus blijft in gecontamineerde kooien, kennels, handdoeken, gras, tapijten of in de bodem. Hierdoor is grondige desinfectie onontbeerlijk vooraleer nieuwe dieren hiermee in contact komen. Voor kooien doe je dit door Natriumhypochloriet te gebruiken. Je mengt hiervoor 1 deel van dit middel met 30 delen water. Het virus is ook gevoelig aan formol.

Verspreiding

Het virus is wereldwijd aanwezig bij gedomesticeerde honden en andere hondachtigen. De aandoening komt in grotere aantallen voor op plaatsen waar veel honden samenkomen, zoals asielen, dierenwinkels en fokkerijen. Honden kunnen op elke leeftijd getroffen worden door parvo, maar zwaardere infecties komen meestal voor bij pups tussen 6 weken en 4 maanden oud. Er is sprake van een zekere rasprevalentie (Indian Journal of Virology, 2010). Rottweilers, Pinchers, Engelse Springer Spaniëls en Duitse herders zouden hiervoor gevoeliger zijn. In tegenstelling tot kruisingen, Toy Poodles en Cocker Spaniëls, waarbij het virus minder zou voorkomen.

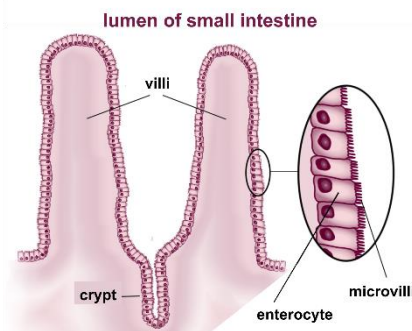
In België wordt het parvovirus soms nog aangetroffen bij pups en dan voornamelijk in het voor- en najaar. Dit wordt veroorzaakt door het niet vaccineren van pups, door immunosuppressie en door een hoge infectiedruk bij onverzorgde kennels, import en broedfok.

Dieren worden besmet via direct oraal contact met alle excreties en secreties van geïnfecteerde honden, maar het kan ook op een indirecte manier verspreid worden via haren, schoenen of kooien.

Pathogenese

Het virus komt het lichaam binnen via de mond als de pup zichzelf poetst of tijdens het eten. De incubatieperiode duurt drie tot zeven dagen. Pas na deze periode begint het dier uiterlijke tekenen te vertonen en is het echt ziek. In de lymfeknopen vindt de replicatie plaats en worden grote aantallen van het virus gevormd. De volgende drie tot vier dagen verspreidt het virus zich naar andere organen zoals het beenmerg en de intestinale cellen. In het beenmerg zorgt CPV voor de afbraak van jonge cellen die bijdragen aan het immuunsysteem van het dier waardoor deze verzwakt wordt. Hierdoor wordt bij zieke dieren vaak leukopenie aangetroffen wanneer men het bloedbeeld bekijkt.

In het gastro-intestinale stelsel wordt de meeste schade veroorzaakt. Dit stelsel omvat villi die de oppervlakte van het absorptievlak vergroten. Microvilli zorgen ervoor dat nutriënten en vocht opgenomen kunnen worden. De cellen van deze villi worden aangemaakt door de snel delende voet van de microvilli die de crypten van Lieberkühn genoemd worden. Het is in deze crypten dat het virus toeslaat. Doordat geen nieuwe cellen aangemaakt worden, zijn de villi en microvilli niet meer in staat om nutriënten en vocht te absorberen. Hierdoor krijgt het dier diarree die soms bloederig kan zijn doordat de barrière tussen de bloedstroom en de microbiële flora van het spijsverteringsstelsel, wegvalt. De bacteriën kunnen zorgen voor een invasie van het volledige lichaam. De diarree en het braken kunnen zorgen voor dehydratie die kan leiden tot shock en het kan uiteindelijk de dood tot gevolg hebben.



Figuur 11: Lumen dunne darm

Symptomen

Parvovirose veroorzaakt symptomen die in twee groepen kunnen opgedeeld worden: gastro-intestinale symptomen enerzijds en myocarditis anderzijds.

Bij alle leeftijden, maar in grote proporties bij pups, veroorzaakt het canine parvovirus diarree. Vroege tekenen van de aandoening zijn depressie, verminderde voederopname, braken, hoge koorts en ernstige diarree. De faeces kunnen verschillend zijn per dier. Sommige honden hebben waterige diarree, bij andere honden kan deze een gele kleur vertonen en nog anderen hebben bloederige diarree.

De tweede vorm is myocarditis, waar pups onder 3 maand gevoelig aan zijn. Jonge puppy's die ongeveer 4 weken oud zijn kunnen hier plots aan sterven. Ze hebben kouden extremiteiten, bleke mucosa, agonale ademhaling ('happen' naar adem) en terminale convulsies. Dit is de acute vorm van myocarditis. Bij de subacute vorm, die voorkomt bij puppy's van ongeveer 8 weken, vertonen de dieren tachypnee en bij beweging dyspnee. Het abdomen is vaak gezwollen ten gevolge van (bloederige) ascites en hepatomegalie. Er is sprake van tachycardie en aritmie. De meeste dieren gaan in cardiale shock doordat de hartspiercellen vernietigd worden waardoor ze overlijden. Sommige dieren kunnen de ziekte ook overwinnen, maar zij zullen ten gevolge van parvo myocardiële complicaties gedurende de volledige levensduur vertonen en vaak treden ook problemen op met het hart- en vaatstelsel.

Diagnose

De diagnose kan in eerste instantie gemaakt worden door de klinische tekenen die de dieren vertonen zoals depressie, braken, diarree, anorexie en koorts.

Verder bestaan er ook enkele sneltesten om het virus in de stoelgang aan te tonen zoals de SNAP® Parvo Test van IDEXX. In het bloed kan panleukopenie aangetoond worden. Serologie kan moeilijk zijn aangezien de vaccins kunnen interfereren met de test.

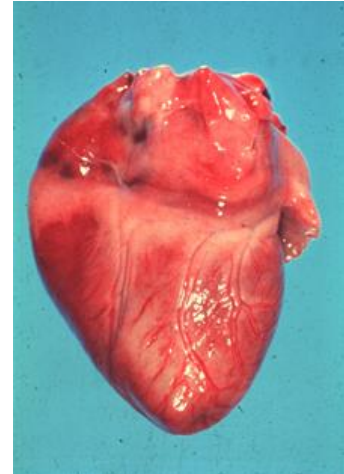
Er zijn ook heel wat meer gespecialiseerde testen zoals PCR, virusisolatie, elektronenmicroscopie en dergelijke om het virus aan te tonen.

Tijdens autopsie kunnen longoedeem, bleke haarden op de hartspier en een uitgezette dunne darm wijzen op parvovirose.

Behandeling

Belangrijk bij de behandeling van honden met parvo is om het vocht- en elektrolytengehalte zo snel mogelijk opnieuw op punt te krijgen. De dieren krijgen breed spectrum antibiotica toegediend en vaak wordt er ook systematisch behandeling met steroïden.

Dieren met zware diarree kunnen metabole acidose ontwikkelen, waardoor het belangrijk kan zijn om kalium te supplementeren. Dieren met chronisch braken dienen geen voedsel te krijgen tot de diarree en misselijkheid afgenomen zijn.



Figuur 12: Bleke haarden myocard

Preventie

Vaccinatie en hygiëne zijn het allerbelangrijkste bij de preventie van parvovirose.

2.2 Vaccineren

2.2.1 Werking van het immuunsysteem

2.2.1.1 Aspecifiek immuunsysteem

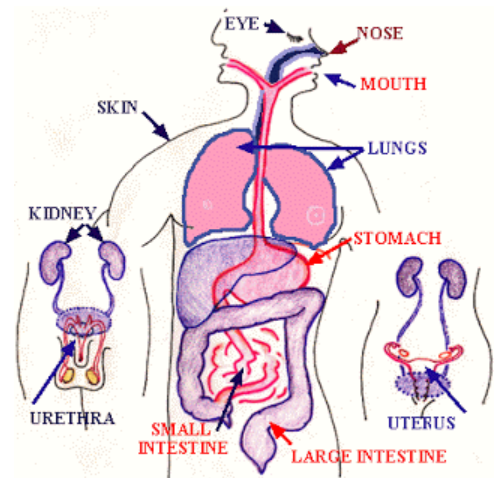
Het aspecifiek of aangeboren immuunsysteem omvat een geheel van witte bloedcellen en verschillende proteïnen die onmiddellijk, maar niet specifiek¹ reageren. Het heeft geen geheugen en zal dus niet optimaliseren. Toch is ook dit immuunsysteem essentieel voor de overleving van het dier.

Tot het aspecifiek immuunsysteem behoren de leukocyten, de factoren, de ecosystemen en barrières.

2.2.1.1.1 Eerste verdedigingslinie

Het eerste onderdeel van de ecosystemen en de barrières is de huid. Dit is een bijna ondoordringbare barrière voor pathogenen waardoor deze het lichaam niet kunnen binnendringen. De huid vormt niet enkel een mechanische, maar ook een chemische barrière. Zweet en olie zorgen voor een lagere zuurtegraad waardoor veel ziekteverwekkers niet kunnen groeien. Ook bevat zweet een enzyme, lysozyme genaamd, dat de celwand van bacteriën verteerd.

Ook de mucosa van het urogenitale stelsel, spijsverterings- en ademhalingsstelsel horen tot deze barrières. Net zoals de huid zorgen zij voor mechanische en chemische bescherming van de gastheer. Een mooi voorbeeld hiervan kan teruggevonden worden in het ademhalingsstelsel. Cellen die de bronchi en bronchiolen van het ademhalingsstelsel omsingelen vooraleer zij de longen kunnen bereiken. Ook bevat het ademhalingsstelsel cilia die deze mucus richting de opening van slokdarm brengen. Hierdoor kan deze dan ingeslikt worden waardoor pathogenen zich richting de maag begeven waar ze verteerd worden door zuren en enzymes.



Figuur 13: Fysische barrières - mucosa

Toch kunnen MO de huid en de mucosa binnendringen bijvoorbeeld via wonden en het voedsel. Als dit gebeurt, schiet een tweede verdedigingslinie van het aspecifieke immuunstelsel in actie.

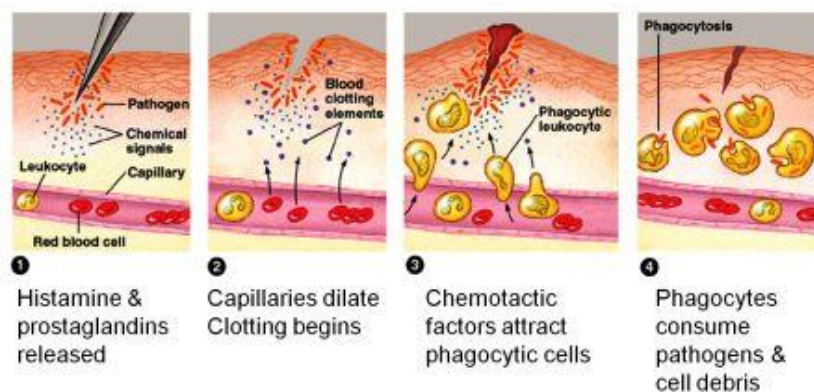
¹ Dit immuunstelsel focust zich niet op een bepaalde infectieuze agentia

2.2.1.1.2 Tweede verdedigingslinie

Als infectieuze agentia de eerste verdediging van het lichaam doordringen gebeuren en vier belangrijke zaken: er wordt een ontstekingsreactie en een temperatuurreactie op gang gebracht, speciale proteïnen zullen pathogenen afdoden of hinderen en witte bloedcellen zullen pathogenen afdoden of aanvallen.

1. Ontstekingsreactie

Bij lokale infecties of verwondingen zullen beschadigde cellen chemicaliën uitscheiden. Dit kan bijvoorbeeld histamine zijn. Deze stof zorgt ervoor dat lokale bloedvaten zullen dilateren zodat de bloedvloeit op die plek verhoogt. Hierdoor zullen er meer witte bloedcellen aangebracht worden die de pathogenen kunnen afdoden.



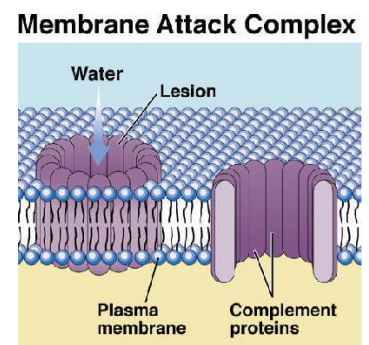
Figuur 14: Ontstekingsreactie

2. Temperatuurreactie

Als het lichaam begint te vechten tegen pathogenen, zal koorts optreden. Deze verhoogde lichaamstemperatuur is nuttig aangezien veel ziekteverwekkende bacteriën niet opgewassen zijn tegen hoge temperaturen. Hoge koorts kan echter wel levensbedreigend zijn omdat belangrijke cellulaire proteïnen zullen denatureren.

3. Speciale proteïnen

Verschillende proteïnen in het lichaam zorgen voor specifieke bescherming. Een beschermingsmechanisme, het complementsysteem, wordt geactiveerd bij binnentreden van bepaalde pathogenen. Bij deze activatie zullen de proteïnen een ringstructuur vormen die het Membran Aanval Complex genoemd wordt. Deze veroorzaakt een grote holte in de celmembran van geïnfecteerde cellen. Hierdoor zal de cel lekken en is celdood onvermijdelijk.



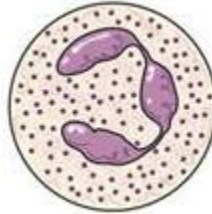
Figuur 15: Membran Aanval Complex

Een ander beschermingsmechanisme zijn de interferonen. Dit zijn proteïnen die uitgescheiden worden door cellen die geïnfecteerd zijn met virussen. Zij zorgen ervoor dat omliggende cellen enzymes produceren die virussen verhinderen om RNA en proteïnen aan te maken.

4. Leukocyten

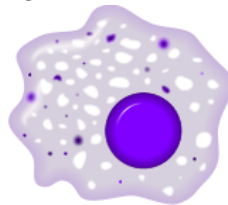
Witte bloedcellen, en meer specifiek de neutrofielen, macrofagen en natural killer cells, zijn het belangrijkste onderdeel van de tweede verdedigingslinie van het aspecifieke immuunstelsel. Deze cellen zijn als het ware de bewakers van de bloedstroom. Ze zijn aanwezig in de weefsels tot pathogenen het lichaam binnentreden en zullen deze dan bestrijden. Elke witte bloedcel heeft hiervoor een verschillende werking:

- **Neutrofielen:** Dit zijn witte bloedcellen die aan fagocytose doen. Dit betekent dat ze een micro-organisme of virus opnemen en daarna verteren met behulp van chemicaliën die het pathogeen doden. Neutrofielen kunnen ook binnendringen tussen de cellen van wand van haarvaten om de pathogenen op de plaats van de infectie te doden.



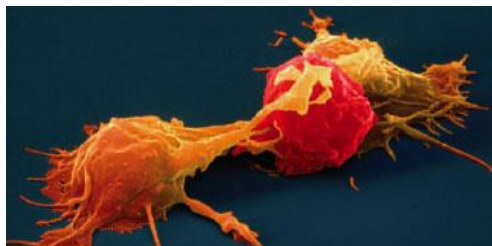
Figuur 16: Neutrofiel

- **Macrofagen:** Macrofagen verteren en doden pathogenen. Ook verwijderen ze dode cellen en ander celafval uit het lichaam. De meeste macrofagen verplaatsen zich via bloed, lymfe en interstitieel vocht. Ze zijn geconcentreerd in sommige specifieke organen zoals de milt en de longen.



Figuur 17: Macrofaag

- **Natural killer cellen:** Dit zijn grote witte bloedcellen die geïnfecteerde cellen aanvallen. Deze cellen doden ze door de celmembranen te doorprikken. Hierdoor zal water in de cel sijpelen waardoor de cel zwelt en uiteindelijk zal barsten. Natural killer cellen kunnen ook kankercellen opsporen en deze afbreken voordat een tumor zich kan ontwikkelen.



Figuur 18: Natural Killer cellen

2.2.1.2 Specifiek immuunsysteem

Het specifiek immuunsysteem is een verworven immuniteit en bezit een immunogeheugen. Wanneer het dier geïnfecteerd wordt door een bepaald micro-organisme wordt dit opgeslagen in het geheugen. Herbesmetting met dit micro-organisme zorgt voor directe werking van het immuunsysteem. Het heeft een specifieke werking via het sleutel-slot principe. Het gaat om individuele immuniteit die slechts een specifiek pathogeen zal proberen uitschakelen.

2.2.1.2.1 Cellen betrokken bij de immunrespons

Witte bloedcellen worden geproduceerd in beenmerg en circuleren in bloed en lymfe. 4 soorten nemen deel aan de immunrespons: macrofagen, cytotoxische T-cellen, B-cellen en helper T-cellen. Elk van deze soorten heeft een verschillende functie:

- Macrofagen verteren pathogenen en geïnfecteerde cellen
- Cytotoxische T-cellen vallen geïnfecteerde cellen aan en doden hen af
- B-cellen labelen indringers voor latere vernietiging door macrofagen
- Helper T-cellen activeren zowel de cytotoxische T-cellen als de B-cellen

Macrofagen kunnen alle pathogenen aanvallen, maar B-cellen en T-cellen reageren enkel op de pathogenen waarvoor zij genetisch geprogrammeerd zijn. Deze 4 witte bloedcellen werken samen om pathogenen uit het lichaam te verwijderen.

2.2.1.2.2 Pathogenen herkennen

Een geïnfecteerde lichaamscel zal antigenen van de indringer op zijn oppervlakte hebben. Deze bevatten proteïnen en andere delen van de virussen of pathogene cellen. Witte bloedcellen van het immuunsysteem zijn bedekt met receptoren die antwoorden op een infectie door te binden op specifieke antigenen op het oppervlakte van de micro-organismen.

De B-cellen kunnen de indringers onmiddellijk herkennen, maar T-lymfocyten hebben hier hulp voor nodig van zogenaamde 'antigeenpresenterende cellen'

2.2.1.2.3 De immunrespons

De humorale immuniteit zal werken via antilichamen in bloed en weefselvocht terwijl de cellulaire immuniteit zal werken aan de hand van B-lymfocyten en T-lymfocyten.

Humorale immuniteit

Als het specifieke immuunsysteem geactiveerd wordt door het aspecifieke immuunsysteem, zal de humorale immunrespons (ookwel de antilichaamgedieerde immunrespons) specifieke B-cellen aansporen om te ontwikkelen in plasmacellen. Deze plasmacellen secreteren dan grote hoeveelheden antilichamen die circuleren in de lymfe- en bloedstroom.

Een meer algemenere term voor antilichamen zijn immunoglobulines. Er zijn 5 verschillende isotypes: IgG, IgM, IgA, IgE en IgD. De eerste drie worden betrokken in de verdediging tegen virussen. IgE is betrokken in allergische reacties en in de bescherming tegen parasieten. IgD speelt niet echt een rol in de immuniteit.

De eerste humorale immuunrespons is meestal zwak en voorbijgaand en in deze reactie heeft IgM een grote rol. De tweede humorale immuunrespons is sterker en van langere aard en hierbij is IgG belangrijk. Antilichamen vallen de pathogenen aan en ze kunnen verschillende functies hebben. Een functie is om te binden met antigenen en deze te markeren voor fagocyten zodat ze vernield kunnen worden.

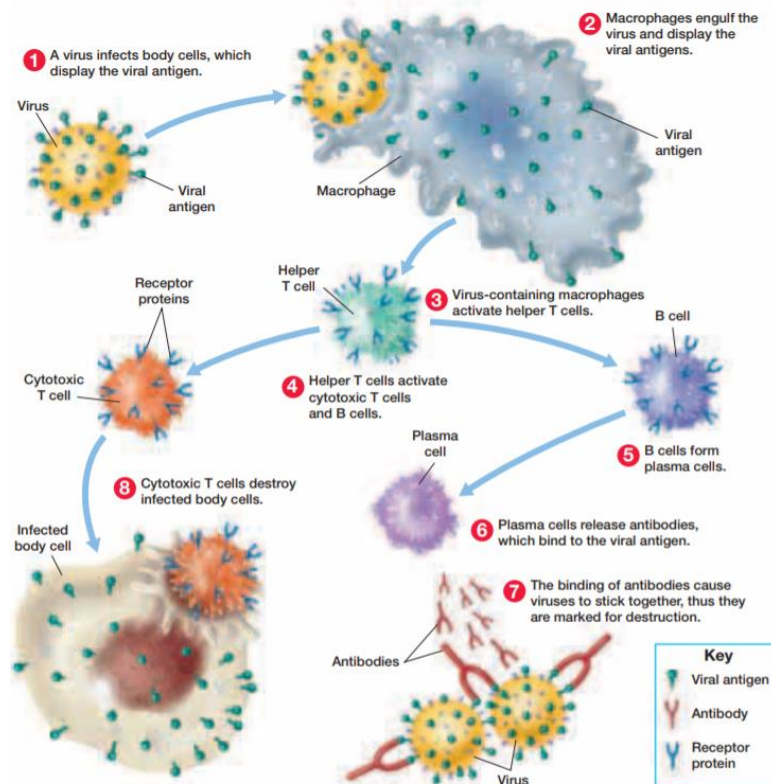
Cellulaire immuniteit

De cellulaire immuniteit wordt uitgevoerd door de B en T-lymfocyten.

Er zijn 3 verschillende T-lymfocyten: de T-doderscellen, de T-helperscellen en de T-supressorcellen. De T-lymfocyten worden geactiveerd door de antigen presenterende cellen. Hoofdzakelijk de macrofagen en dendritische cellen van het aspecifiek immuunsysteem leveren deze antigeen presenterende cellen. T-lymfocyten kunnen echter niet zoals de B-lymfocyten vreemde antigenen herkennen. B-lymfocyten hebben dus de activatie van de T-lymfocyten nodig om antilichamen af te kunnen geven en om plasmacel te worden.

Zowel B-lymfocyten als T-lymfocyten zorgen voor cellulaire immuniteit. Naast de B-geheugencellen worden er bij het eerste contact met het antigen ook T-geheugencellen gevormd.

- 1) Een virus infecteert een lichaamscel en vertoont de virale antigenen op zijn oppervlak.
- 2) Macrofagen omgeven het virus en vertonen de virale antigenen op hun oppervlak.
- 3) Receptoren op de helper T-cellen binden op de virale antigenen op het oppervlak van de macrofagen. De macrofagen geven een proteïne dat interleukine-1 genaamd wordt af.
- 4) Interleukine-1 activeert helper T-cellen, maar deze vallen de pathogenen niet onmiddellijk aan. Ze activeren cytotoxische T-cellen en B-cellen. Onder invloed van interleukine-1 zullen de helper T-cellen interleukine-2 afgeven. Interleukine-2 stimuleert verdere verdeling van helper T-cellen en cytotoxische T-cellen om de respons van het lichaam op de infectie te versterken.
- 5) Interleukine-2 activeert ook B-cellen. Deze delen en evolueren in plasma cellen. Dit zijn cellen die Y-vormige antilichamen in het bloed vrijlaten. Deze wordt geproduceerd door vrijstelling van een specifiek antigen en kan met dit antigen binden.
- 6) Plasmacellen delen herhaaldelijk en creëren grote aantallen antilichamen. De antilichamen binden op het viraal antigen en markeren het virus zodat deze afgebroken kan worden.
- 7) Het antigen-antilichaam complex is gekoppeld aan het virus waardoor deze gemakkelijk geïdentificeerd en vernietigd kan worden door macrofagen.
- 8) Geactiveerde cytotoxische T-cellen vernietigen geïnfecteerde cellen door de celmembraan te doorboren.



Figuur 19: Immunrespons

2.2.1.3 Genetische effecten

Volgens (Day M. , Horzinek, Schultz, & Squires, 2015) wordt de effectiviteit van het immuunsysteem bepaald door de genetica van het dier. Dieren erven verschillende genen die belangrijk zijn voor het immuunsysteem welke ervoor zorgen dat verschillende dieren of honden anders kunnen reageren op een bepaalde infectie of vaccinatie.

2.2.1.4 Maternale immuniteit

Pups die geboren worden, zijn afhankelijk van het colostrum om hun immuniteit op te bouwen. De antilichamen worden de eerste 24 uur opgenomen en voorzien de pup van een immunoprotectie gedurende de eerste weken tot het immuunsysteem zich heeft kunnen opbouwen.

De antilichamen die de pup ontvangt van de moeder via het colostrum verhinderen de pup anderzijds ook om zelf een immuunsysteem aan te maken. Het gehalte aan de maternale antilichamen daalt naarmate de pup ouder wordt, tot op een bepaald moment waarbij het dier zelf een immuunsysteem kan opbouwen.

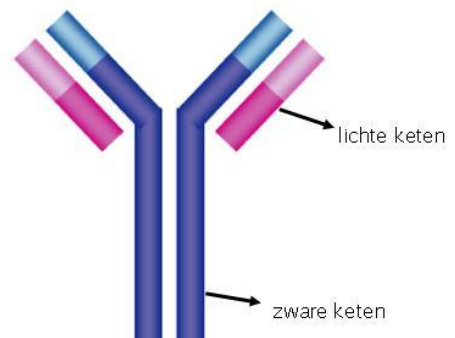
Tussen deze 2 periodes bevindt zich de 'immunity gap' dit is de periode waarin het gehalte aan maternale antilichamen net te laag is om het dier goed te beschermen maar ook te hoog om te vaccineren en zelf een immuunsysteem aan te maken.

2.2.2 Antilichamen of antigenen?

2.2.2.1 Bouw van een antilichaam

Antilichamen, antistoffen of immunoglobulines zijn eiwitten die een belangrijke functie hebben binnen de immuniteit en die aangemaakt worden door ons lichaam in de aanwezigheid van bepaalde antigenen.

Een antilichaam is symmetrisch opgebouwd en bestaat uit 2 verschillende ketens. Een zware keten en een lichte keten waarvan elke keten 2 keer voorkomt per antilichaam.



Figuur 20: voorstelling antilichaam

Daarnaast heeft een antilichaam ook een constant en een variabel gedeelte. Het variabele gedeelte bestaat uit de stikstof-uiteinden van de lichte en zware ketens. Het constant gedeelte van het antilichaam bevat minder variatie en zorgt voor binding tussen antilichaam en andere componenten binnen het immuunsysteem zoals fagocyten,...en zorgt daarnaast ook voor de bepaling van het isotype.

2.2.2.2 Antilichaam versus antigen

De binding tussen antilichaam en antigen gebeurt niet willekeurig. Elk antilichaam wordt geproduceerd door de B-cellen wanneer bepaalde antigenen aanwezig zijn in het lichaam. Antigenen worden door het lichaam herkend als lichaamsvreemde stoffen. Elk antilichaam heeft dus een eigen antigen waarmee het specifiek zal binden. De plaats op het antigen waar het antilichaam zal binden wordt de epitoom genoemd. Het antilichaam zal binden met het variabel gedeelte op de epitoom. Dit variabel gedeelte is uniek en verklaart waarom er een specifieke binding is tussen antigen en antilichaam.

2.2.3 Werking van een vaccin

Het doel van vaccinatie is om beschermende immuniteit op te wekken bij het dier door een immunerespons, zowel humorale als cellulaire immuniteit, uit te lokken.

Vaccins zorgen ervoor dat er immunisering optreedt door een infectie na te bootsen. Deze zal geen ziekte veroorzaken, maar zorgt er wel voor dat het immuunsysteem T-lymfocyten en antilichamen zal produceren. Soms kunnen honden na vaccinatie lichte symptomen vertonen zoals koorts. Deze reacties zijn normaal en tonen aan dat lichaam immuniteit aan het opbouwen is. Als deze infectie weggaat, blijven er in het lichaam 'geheugen' T-lymfocyten en B-lymfocyten die zullen onthouden hoe ze het pathogeen moeten bestrijden. Het duurt meestal een paar weken vooraleer het lichaam T- en B-lymfocyten aanmaakt. Daarom kan het zijn dat dieren die net gevaccineerd zijn, toch nog geïnfecteerd kunnen worden omdat het vaccin niet voldoende tijd had om bescherming in het lichaam op te bouwen.

2.2.4 Verschillende types van vaccins

Er zijn twee grote types van vaccins, namelijk infectieuze en niet-infectieuze vaccins.

Bij de eerste soort wordt het dier geïnfecteerd waardoor een immunoreactie uitgelokt wordt. Niet-infectieuze vaccins zijn hier niet toe in staat en ze kunnen zich ook niet vermenigvuldigen. Er moeten dus een groot aantal antigenen aanwezig zijn in het vaccin zelf om een immunerespons uit te lokken. Dit type bevat ook vaak een adjuvant, een stof die ervoor zorgt dat het immuunstelsel extra geprikkeld wordt.

Infectieuze vaccins hebben heel wat voordelen. Ze zijn super effectief omdat ze zowel de celgemedieerde als de humorale immuniteit stimuleren. Hierdoor zal de 'duration of immunity' heel wat hoger liggen dan bij niet-infectieuze vaccins en kan deze zelfs levenslang aanwezig blijven. Ook dient er slechts 1 dosis toegediend te worden om het dier te immuniseren als het aantal maternale antistoffen laag genoeg is. Ook bootst de infectie die dit soort vaccins veroorzaken een natuurlijke infectie erg goed na, zonder het dier ziek te maken.

Niet-infectieuze vaccins hebben meerdere toedieningen nodig om het dier te beschermen en ook de DOI ligt heel wat lager. Ook wordt er slechts gelimiteerde celgemedieerde immuniteit bereikt en nauwelijks of geen immuniteit ter hoogte van de mucosa. Nog een nadeel is dat niet-infectieuze meer bijwerkingen zouden kunnen veroorzaken.

2.2.4.1 Infectieuze vaccins

2.2.4.1.1 Geattenueerde levende vaccins

De meest gebruikte vaccins bij honden en katten zijn gemodificeerde levende virussen (MLV) vaccins die organismen omvatten die geattenuerd of geïnactiveerd werden zodanig dat hun virulentie afneemt. Dit kan gebeuren door deletie of insertie van een gen van de bacterie of het virus. De organismen in deze vaccins zijn wel levensvatbaar en intact. Ze zorgen voor een lichte infectie van het lichaam en vermenigvuldigen zich in het dier waardoor immuniteit bekomen wordt. Tijdens dit proces wordt nauwelijks tot geen weefselbeschadiging veroorzaakt en vertoont het dier geen klinische symptomen van infectieuze aandoeningen. Het voordeel van deze vorm is dat ze heel effectief zijn in het opwekken van immuniteit op de relevante plek als ze parenteraal toegediend worden. Ook veroorzaken ze zowel celgemedieerde als humorale immuniteit. Een nadeel is dat er in uiterst zeldzame omstandigheden een mutatie van deze geattenueerde organismen plaatsvindt waardoor zij in een virulente staat kunnen komen waardoor het dier de ziekte krijgt waartegen het gevaccineerd werd.

Deze vaccins zijn gemakkelijk te produceren voor bepaalde virussen aangezien ze slechts een klein aantal genen bevatten waardoor de eigenschappen van deze genen op een eenvoudige manier gecontroleerd kunnen worden. De virussen worden vaak geattenuerd door ze in een ongunstige omgeving onder te brengen. De virussen zullen heel wat energie moeten verbruiken om hierin te overleven, waardoor ze verzwakken. Voor bacteriën gaat dit al heel wat moeilijker. Zij hebben duizenden genen waardoor ze veel moeilijker te controleren zijn.

2.2.4.1.2 DNA Vaccins

Deze vorm van vaccineren zit nog volop in de experimentele fase en richt zich op de essentie: het genetische materiaal van de microbe. DNA-vaccins gebruiken de genen die coderen voor de allerbelangrijkste antigenen. Het DNA wordt rechtstreeks in het lichaam van de gastheer gebracht.

Onderzoek heeft aangetoond dat sommige cellen het DNA van het micro-organisme zullen opnemen als de genen die coderen voor de antigenen van de microbe, geïnjecteerd worden in het lichaam. Dit DNA zal dan instructies geven aan deze cellen om antigeenmoleculen aan te maken en deze aan hun oppervlak te brengen. Het lichaam zal dus zelf de antigenen produceren die nodig zijn om het immuunsysteem te stimuleren. Naakte DNA-vaccins bestaan uit DNA dat rechtstreeks in het lichaam toegediend wordt met een naald en een spuit.

2.2.4.1.3 Recombinante vector vaccins

Deze soort is zeer gelijk aan DNA-vaccins, maar er wordt gebruik gemaakt van geattenueerde virussen of bacteriën om microbieel DNA te introduceren in de lichaamscellen. Vector slaat op het feit dat virussen of bacteriën gebruikt worden als drager.

Genetisch materiaal wordt van schadelijke microben overgebracht naar de drager virussen of bacteriën die afgezwakt zijn. Via de drager wordt dit microbieel DNA overgebracht naar de cellen. Hierdoor wordt een natuurlijke infectie op een zeer goede manier nagebootst waardoor deze ook zeer efficiënt werkt.

2.2.4.2 Niet-infectieuze vaccins

2.2.4.2.1 Geïnactiveerde vaccins

Een andere vorm zijn vaccins op basis van dode organismen. Deze zijn volledig geïnactiveerd met behulp van chemicaliën, hitte en bestraling waardoor de kans dat deze de gastheer infecteert nihil is. Als ze door het dier via de urine of faeces uitgescheiden worden, kunnen andere dieren niet besmet worden. Het nadeel is echter wel dat ze slechts in beperkte mate immuniserend werken. Ze wekken geen grote immunoreactie op in het lichaam omdat ze niet in staat zijn zich te vermenigvuldigen en doordat ze redelijk snel geëlimineerd worden door het lichaam. Dit kan je tegenwerken door te werken met een immunologische adjuvant. Deze veroorzaken een lokaal ontstekingsproces waardoor meer cellen van het immuunsysteem in contact komen met antigenen voor een langere periode. Hierdoor wordt een betere immunrespons gestimuleerd. Het nadeel van deze adjuvanten is dat ze problemen zoals allergieën en zelfs tumorvorming kunnen veroorzaken. Anderzijds zijn deze vaccins wel makkelijker om te transporteren en te bewaren aangezien zij vaak niet in de koelkast bewaard moeten worden.

2.2.4.2.2 Subunit vaccins

Subunit vaccins bestaan slechts uit een klein deel van de microbe, namelijk het antigeen dat het best in staat is om het immuunsysteem te stimuleren. Hierdoor is de kans op bijwerkingen veel kleiner dan bij het gebruiken van het volledige micro-organisme. Deze vaccins kunnen tot 20 antigenen bevatten, maar het is geen simpel proces om de beste antigenen te vinden, maar eens dit gebeurd is kan een subunit vaccin gemakkelijk samengesteld worden. Dit doen ze door chemicaliën te gebruiken om de microbe te ontbinden en dan de antigenen te verzamelen of met behulp van recombinante DNA-technologie. Hierbij worden genen die coderen voor belangrijke antigenen ondergebracht in bakkersgist. In deze gist worden antigenen geproduceerd die wetenschappers verzamelen en purificeren zodat deze gebruikt kunnen worden in het vaccin. Deze techniek werd reeds gebruikt om een humaan vaccin tegen het hepatitis B-virus te ontwikkelen.

2.2.5 Soorten commerciële 'core' vaccins

Naam vaccin	Type vaccin
Canigen DHPPi/L	Levend geattenuerd <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CAP - Canine Parainfluenza Virus (CPI) Geïnactiveerde bacteriën <i>Leptospira interrogans</i>
Canigen DHPPi	Levend geattenuerd <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CPV - CPi
Canigen CHP	Levend geattenuerd <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CPV
Canigen puppy 2b	Geattenuerd CPV-2
Versican plus DHPPi/L4R	Levend geattenuerd <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CPV - CPi-2b Geïnactiveerde <ul style="list-style-type: none"> - <i>Leptospira interrogans</i> - <i>Leptospira kirschneri</i> - Rabiësvirus

Versican plus DHPPi/L4	<p>Levend geattenuerd</p> <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CPV - CPi-2b <p>Geïnactiveerde</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Leptospira interrogans</i> - <i>Leptospira kirschneri</i>
Versican plus DHPPi	<p>Levend geattenuerd</p> <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CPV - CPi-2b
Versican plus DHP	<p>Levend geattenuerd</p> <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CPV-2b
Eurican DAP	<p>Levend geattenuerd</p> <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CPV-2b
Eurican puppy	Levend geattenuerd CPV
Eurican Herpes 205	Levend geattenuerd Canine Herpesvirus (CHV)
Nobivac DHP	<p>Levend geattenuerd</p> <ul style="list-style-type: none"> - CDV - CAV-2 - CPV
Nobivac Parvo-C	Levend geattenuerd CPV
Vanguard DA2PI-CPV	<p>Levend geattenuerd</p> <ul style="list-style-type: none"> - CPV - CDV - CAV-2 - CPi-5
Parvodog	<p>Levend geattenuerd</p> <ul style="list-style-type: none"> - CPV

2.2.6 WSAVA-richtlijnen 'core' vaccins

2.2.6.1 World Small Animal Veterinary Association (WSAVA)

De World Small Animal Veterinary Association is een federatie die opgebouwd is uit 101 diergeneeskundige associaties over de hele wereld die zo'n 200.000 individuele dierenartsen, gespecialiseerd in kleine gezelschapsdieren, representeert. Hun hoofddoel is de kwaliteit en beschikbaarheid van diergeneeskunde en ook dierwelzijn op globaal niveau te verbeteren. Dit komt tot stand door uitwisseling van wetenschappelijke informatie tussen individuele dierenartsen en diergeneeskundige organisaties.

WSAVA heeft een groep opgericht die zich toespitst op het opbouwen van richtlijnen omtrent het vaccineren van huisdieren. Deze heet 'The WSAVA Vaccination Guidelines Group' (VGG). Deze werd ingericht in 2006 omdat er nood was aan globaal toepasbare richtlijnen. In de 12 jaar dat deze groep bestaat werden reeds 3 globale vaccinatie richtlijnen voor dierenartsen (in 2007, 2010 en 2015) en 2 richtlijnen voor eigenaars en fokkers van honden en katten (2010 en 2015) gepubliceerd.



Figuur 21: Logo VGG

2.2.6.2 Actuele richtlijnen gezelschapshonden

2.2.6.2.1 Vaccinatie richtlijnen pups en jonge honden

De meeste puppy's worden in de eerste weken van hun leven beschermd door maternale antistoffen die verkregen worden uit het colostrum. Deze passieve immuniteit zal op een leeftijd van 8 tot 12 weken dalen tot een niveau waarop deze antistoffen niet meer interfereren met de antistoffen die uit het vaccin verkregen worden.

De VGG raadt aan om het eerste vaccin toe te dienen op een leeftijd van 6-8 weken en deze iedere 2-4 weken te herhalen tot een leeftijd van 16 weken of ouder. Pups die geen colostrum toegediend kregen, mogen reeds gevaccineerd worden op 4-6 weken oud. Sommige levende vaccins mogen niet vroeger toegediend worden dan 4 weken aangezien deze de hond ziek kunnen maken. Een uitzondering hierop is het internasale vaccin dat beschermt tegen kennelhoest.

Na deze basisvaccins wordt een 'booster' vaccin toegediend dat vroeger ofwel op een leeftijd van 12 maanden ofwel 12 maanden na het laatste primaire vaccin toegediend werd. Het nut hiervan is om er voor te zorgen dat honden die niet gereageerd hebben op één van de primaire vaccins ook voldoende immuniteit bezitten. De VGG komt hierop terug omdat sommige puppy's dus volledig onbeschermd waren tot ze het 12 maanden vaccin toegediend kregen. Daarom wordt nu aangeraden om deze booster al toe te dienen op een leeftijd van 26 weken. Een pup die een 'core-vaccin' toegediend kreeg op 6 maanden hoeft dan geen nieuwe booster te krijgen op de leeftijd van 1 jaar. Een alternatief voor deze booster is om de pup op 6 maanden serologisch te testen met behulp van een titertest. Een seropositieve pup is voldoende beschermd door het basisvaccin en mag meteen overgaan naar het volwassen vaccinatieschema.

Puppy's die door hun levensstijl blootgesteld kunnen worden aan de *Leptospira* bacterie, dienen hiertegen gevaccineerd te worden. Deze vaccins mogen toegediend vanaf 8 weken. Hiervoor dienen 2 dosissen toegediend te worden met een tussentijd van 2 tot 4 weken en deze wordt opgevolgd door een booster op 1 jaar oud.

Honden die veel in contact komen met soortgenoten, die verblijven in kennels of andere plekken waar veel honden samenkomen worden best gevaccineerd tegen kennelhoest. Een belangrijke kanttekening hierbij is dat deze aandoening veroorzaakt kan worden door minstens 9 verschillende pathogenen, stress en omgeving. Het commerciële vaccin beschermt echter enkel tegen het Canine Parainfluenza Virus en/of antigenen veroorzaakt door *Bordetella bronchiseptica*. Honden zijn dus niet 100% beschermd tegen deze aandoening na vaccinatie! Dit vaccin worden toegediend op een leeftijd van 3-4 weken en wordt enkel herhaald op een leeftijd van 1 jaar.

Puppy's die reizen dienen gevaccineerd te worden tegen rabiës. Het eerste vaccin wordt op 12 weken gegeven en de booster op 12 maanden.

Weeks of age	Core vaccines	Non-core vaccines	Travelling pet
3 to 4		CPI/Bb intranasal	
8	DHP	<i>Leptospira</i>	
12	DHP	<i>Leptospira</i>	Rabies
16 or older	DHP		
26	DHP		
52	DHP if not given at 26 weeks	<i>Leptospira</i> CPI/Bb intranasal	Rabies

Tabel 1: Basisvaccinatie en booster pup

Een belangrijk punt om aan te halen bij het vaccineren is de vroege socialisatie van de hond. Het is uiteraard zeer belangrijk om puppy's te socialiseren, maar er moet ook rekening mee gehouden dat puppy's in die periode vaak erg gevoelig zijn voor de ziektes waartegen 'core' vaccins bescherming bieden. Dit komt doordat bij die leeftijd sprake is van een 'immunity gap'. Dit betekent dat puppy's niet meer voldoende maternale lichamen hebben om zich te beschermen, maar ze hebben er wel nog genoeg om het vermogen van levend geattenuerde vaccins om een endogene (interne) immuunreactie te induceren, te blokkeren. De WSAVA raadt aan om pups daarom te socialiseren met andere honden die gevaccineerd zijn in een omgeving die niet gecontamineerd zou zijn.

2.2.6.2 Vaccinatierichtlijnen volwassen honden

'Core' vaccins dienen niet meer dan driejaarlijks herhaald te worden. Onderzoek heeft echter al aangetoond dat deze producten de honden zelfs langer zouden beschermen (Mitchell *et al.*, 2012).

Er moet wel rekening mee gehouden worden dat deze regel enkel geldt voor honden die goed gereageerd hebben op vaccinatie met Modified Live virus (MLV) 'core' vaccins. Dit is niet het geval voor dode vaccins (behalve bij rabiës), 'non-core' vaccins en zeker niet bij vaccins op basis van bacteriële antigenen. Vaccinaties tegen *Leptospira*, Bordetella en Parainfluenza dienen jaarlijks herhaald te worden indien honden door hun levensomstandigheden hieraan gevoelig kunnen zijn.

Honden die een volledig basisvaccin toegediend kregen als pup, met een booster vaccin op 26 of 52 weken, maar die als volwassen hond niet regelmatig gevaccineerd worden hebben slechts 1 dosis nodig van het MLV 'core-vaccin' om de immuniteit te boosten. Bij honden die geadopteerd werden en waarvan de vaccingeshiedenis niet gekend is, dient ook slechts 1 booster toegediend om zodat de goed beschermd is. Ook dit is enkel van toepassing op 'core' vaccins. (Mouzin *et al.*, 2004; Mitchell *et al.*, 2012).

Het is bij wet vastgelegd dat het rabiës vaccin iedere 3 jaar toegediend hoeft te worden.

Years of age	Core vaccines	Non-core vaccines	Travelling dog
1	DHP unless this was given at 26 weeks in the puppy schedule	<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	Rabies
2		<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	
3		<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	
4	DHP or serology	<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	Rabies
5		<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	
6		<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	
7	DHP or serology	<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	Rabies
8		<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	
9		<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	
10	DHP or serology	<i>Leptospira</i> , CPi, Bb	Rabies

Tabel 2: Vaccinatieschema volwassen hond

2.2.6.3 Richtlijnen asielhonden

In asielen komen allerlei honden samen waarvan de vaccinatiegeschiedenis vaak onbekend is waardoor het risico op infectieuze ziektes groot is. Net zoals het onmogelijk is om een perfect vaccinatieschema op te stellen voor elke hond, is dit ook onmogelijk voor alle asielen. Toch is het mogelijk om de verspreiding van de ziektes te minimaliseren.

De VGG raadt aan dat pups met 'core' vaccins gevaccineerd dienen te worden vanaf 4-6 weken en dit iedere 2 weken te herhalen tot het dier 20 weken oud is (als het dier zich op die leeftijd nog in het asiel bevindt).

Table 2. WSAVA Guidelines on Canine Vaccination for the Shelter Environment			
Recommended Vaccines In Various Combinations (also refer to Table 1)	Initial Vaccine Series for Puppies	Initial Vaccine Series for Adults	Comments
CDV + CAV-2 + CPV-2 (MLV) with or without CPiV iCDV + CAV-2 + CPV-2 with or without CPiV Parenteral	Administer one dose prior to or immediately on admission, as early as 4 weeks of age. Repeat at 2 week intervals until 20 weeks of age if animal is still in the facility.	Administer one dose prior to or immediately on admission. Repeat in 2 weeks.	Ideally puppies should be vaccinated beginning at 6 weeks of age. In the face of an outbreak, vaccination as early as 4 weeks of age (for CDV and/or CPV-2) may be indicated. MDA, if present, can interfere with immunization, but nursing history is often not available.
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (live avirulent bacteria, intranasal) <i>B. bronchiseptica</i> + CPiV (MLV) intranasal <i>B. bronchiseptica</i> +CPiV (MLV) +CAV-2 (MLV) intranasal <i>B. bronchiseptica</i> (live avirulent bacteria, oral)	Administer a single dose as early as 3 weeks of age. For best results, if administered prior to 6 weeks of age, an additional dose should be given after 6 weeks of age [EB4].	Two doses 2 weeks apart are recommended. A single dose may be protective, but in this highrisk situation a second dose might provide greater protection [EB4].	Intranasal or oral vaccine is strongly recommended in the shelter situation. Intranasal or oral vaccines MUST NOT be administered parenterally as this may lead to severe adverse reactions or death.
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (bacterin or antigen extract for parenteral administration only)	Administer one dose at time of admission (from 6–8 weeks of age) and a second dose 2 weeks later.	Two doses 2 weeks apart are recommended.	Parenteral vaccination is recommended only when it is not possible to administer an intranasal or oral vaccine. Canine respiratory disease complex ('kennel cough') is not a vaccine-preventable disease and the vaccine should only be used to help manage the disease.
Rabies	A single dose should be administered at the time of discharge from the facility.	A single dose should be administered at the time of discharge from the facility.	The administration of rabies vaccine will be determined by whether the shelter is in a country in which the disease is endemic, and by local statute.

Tabel 3: richtlijnen asielhonden

2.2.7 Nadelen vaccineren hond

Een van de drijfveren om over te gaan van jaarlijkse herhaling van 'core-vaccin' naar driejaarlijks vaccineren is het vaccineren (nog) veiliger te maken. Er kan namelijk (net zoals bij humane vaccins) nooit gegarandeerd worden dat het toedienen van een vaccin veilig is en geen bijwerkingen zal veroorzaken.

De bijwerkingen die vaccins kunnen veroorzaken kunnen ingedeeld worden van mild (zoals lethargie, koorts, anorexie en stijfheid) tot ernstig (zoals anafylactische reacties, auto-immune aandoeningen en urticaria of netelroos) en zelfs fataal. De milde bijwerkingen veroorzaakt door vaccineren zijn meestal al enkele uren tot een dag zichtbaar na toediening, maar deze worden niet altijd opgemerkt door eigenaars. Andere bijwerkingen, zoals sarcoma's op de injectieplaats en auto-immune aandoeningen, worden pas weken, maanden en zelfs jaren opgemerkt na vaccinatie.

Het reageren op vaccineren is meestal genetisch bepaald. Zo zijn sommige rassen, en dan voornamelijk de kleine soorten, hier gevoeliger aan. Het is dan ook belangrijk dat fokkers van honden bijhouden als honden bijwerkingen vertonen en met deze dieren dan ook niet meer verder fokken. Men suggereert dat vooral vaccins op basis van dode bacteriën, zoals *Leptospira*, *Bordetella*, *Borrelia* alsook de vaccins tegen rabiës, overgevoeligheidsreacties kunnen veroorzaken. Bij het gebruik van MLV vaccins zou dit minder voorkomen.

De VGG raadt toch nog steeds aan om zeker niet te stoppen met vaccineren, want de richtlijnen die door hen opgesteld worden minimaliseren het risico op bijwerkingen. De dierenarts moet eigenaars wel steeds op de hoogte brengen van potentiële bijwerkingen zoals een voorbijgaande periode van lethargie, koorts en een verminderde eetlust.

Severe Reactions (Rare to Very Rare)	Moderate Reactions (Uncommon to Rare)	Mild Reactions (Uncommon)
Injection site sarcoma	Immunosuppression	Lethargy
Anaphylaxis	Behavioural changes	Hair Loss
Polyarthritis, hypertrophic osteodystrophy (HOD)	Vitiligo	Hair colour change at injection site
Immune-mediated haemolytic anaemia (IMHA)	Weight loss	Fever
Immune-mediated thrombocytopenia (IMTP)	Reduced milk production	Soreness
Glomerulonephritis	Lameness	Stiffness
Disease or enhanced disease for the vaccine was designed to prevent	Granulomas/abscesses at the injection site	Refusal to eat (transient)
Myocarditis	Hives	Conjunctivitis
Post-vaccinal encephalitis or polyneuritis	Facial oedema	Sneezing
Seizures	Atopy	Coughing
Abortion, congenital anomalies, embryonic/fetal death, failure to conceive	Respiratory disease	Oral ulcers
	Allergic uveitis (blue eye)	Diarrhoea
	Skin disorders	Vomiting

Common reactions: >1 but <10 per 100 animals; uncommon reactions: >1 but <10 per 1,000 animals; rare reactions: >1 but <10 per 10,000 animals; very rare: <1 per 10,000 animals

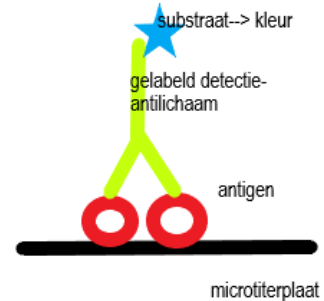
Tabel 4: Mogelijke bijwerkingen vaccinatie

2.3 Detectie van antilichamen en antigenen

2.3.1 ELISA voor detectie antigenen

1. Directe ELISA

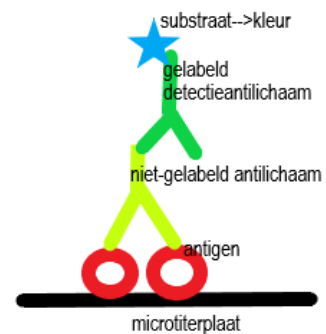
Bij een directe ELISA wordt het staal op een microtiterplaat gebracht. Hierbij zullen de antigenen, indien ze aanwezig zijn in de staal binden op de plaat. Onbezette plaatsen zullen bezet worden door een extra stof die toegevoegd wordt. Na binding van de antigenen worden de detectie-antilichamen toegevoegd. Deze zullen binden op de antigenen indien deze aanwezig zijn op de plaat. Ongebonden antilichamen worden gewassen. Als laatste zal door toevoeging van een substraat er een kleurreactie ontstaan dankzij een omzetting van een enzym die aanwezig is op het antilichaam.



Figuur 22: Directe ELISA

2. Indirecte ELISA

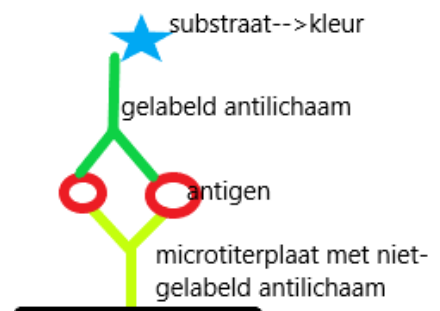
De indirecte ELISA verloopt gelijkaardig aan de directe ELISA, alleen zal het detecteren van het antigen in 2 stappen verlopen in plaats van in 1 stap. In plaats van direct een gelabeld antilichaam toe te voegen wordt er een niet-gelabeld antilichaam toegevoegd die zal binden met het antigen. Na deze binding wordt er een secundair gelabeld antilichaam toegevoegd welke zal binden op het constant gedeelte van het primair antilichaam en een enzym bevat welke in aanwezigheid van een substraat een kleurreactie zal veroorzaken.



Figuur 24: indirecte ELISA

3. Sandwich ELISA

De sandwich ELISA maakt gebruik van 2 specifieke antilichamen die kunnen binden op verschillende epitopen van 1 antigen. Het eerste antilichaam A wordt op de microtiterplaat gecoat. Dit is een ongelabeld antilichaam. Als het antigen aanwezig is in de staal zal het binden op antilichaam A via epitooop A. Na het toevoegen van het tweede antilichaam(gemerkt of niet-gemerkt) zal ook dit antilichaam binden op het antigen maar dan via epitooop B. Indien antilichaam B niet gemerkt is, wordt er nog een derde, gemerkt antilichaam toegevoegd.



Figuur 25: sandwich ELISA

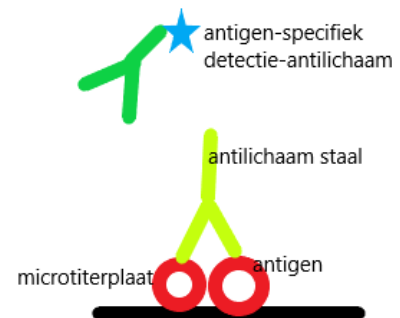
4. Competitie ELISA

Bij competitie ELISA wordt op voorhand het staal gemengd met detectie antilichamen. Indien er in het staal antigenen aanwezig zijn zullen deze dus binden met de detectie antilichamen. Het mengsel wordt hierna op een plaat gebracht die gecoat werd met de te zoeken antigenen. De detectie antilichamen die in het mengsel niet konden binden, kunnen nu binden op de plaat. Hoe meer antigenen er dus in de staal aanwezig zijn, hoe minder detectie antilichamen nog kunnen binden op de plaat en hoe lichter de kleurreactie zal zijn.

2.3.2 ELISA voor detectie van antilichamen

1. Blocking ELISA

De blocking ELISA start vanuit een met antigenen gecoate plaat. Hieraan wordt het staal toegevoegd zodat de antistoffen kunnen binden op de plaat. Het secundair antilichaam is een antigeen-specifiek detectie-antilichaam. Wanneer er geen antilichamen aanwezig zijn in het staal werden de antigenen nog niet bezet en kunnen de secundaire antilichamen binden en een kleurreactie veroorzaken.



Figuur 26: blocking ELISA

2. Indirecte ELISA

Verloopt analoog aan de indirecte ELISA voor detectie van antigenen.

2.4 Titeren

2.4.1 Gebruik titertest volgens WSAVA

Bij het titeren worden de concentraties aan antistoffen tegen virussen die distemper, hepatitis en parvovirose bij de hond veroorzaken, in een serumstaal gemeten. Zo kan men nagaan of het noodzakelijk is om een hond opnieuw te vaccineren.

Een negatieve test toont aan dat een hond weinig of geen antilichamen bezit en dat vaccineren aanbevolen is. Deze honden worden seronegatief genoemd. Als een hond seropositief is, heeft deze voldoende antistoffen en is vaccineren niet noodzakelijk.

2.4.1.1 Titertest om immuniteit aan te tonen

Deze testen kunnen gebruikt worden om te kijken of een pup voldoende beschermd is na zijn basisvaccinatie. Hiervoor wordt een serumstaal minimum 4 weken na zijn laatste vaccin genomen en deze wordt getest. Dit interval wordt gebruikt om er zeker van te zijn dat er geen/nauwelijks maternale antistoffen aanwezig zijn. Ook hebben sommige honden wat meer tijd nodig om op een vaccin te reageren. Een seropositieve hond heeft geen booster nodig op 26 of 52 weken en dient slechts 3 jaar later opnieuw een vaccin te krijgen.

Seronegatieve pups dienen een herhalingsvaccin te krijgen en 4 weken later opnieuw getest te worden. Als diezelfde pup dan opnieuw negatief test moet deze gezien worden als een dier die niet in staat is om immuniteit op te bouwen. Hier kunnen verschillende redenen voor zijn. De eerste reden is dat het vaccin geneutraliseerd wordt door maternale antistoffen. Dit is de meest voorkomende reden waarom virussen geen actieve immuniteit bij het dier kunnen opbouwen. Het gehalte aan maternale antistoffen zou wel reeds voldoende moeten afgenomen zijn op een leeftijd van 16 weken of ouder (Friedrich & Truyen, 2000). Een andere reden kan liggen bij het vaccin zelf, die zwak immunogeen is. Een laatste reden is dat het immuunsysteem van de pup er keer op keer in faalt om de antigenen van het vaccin te herkennen. Deze honden worden non-responders genoemd en dit is meestal genetisch bepaald. Onderzoek heeft aangetoond dat er hiervoor een zekere rasprevalentie is. Zo zouden Rottweilers en Dobermanns een grotere kans hebben om non-responders te zijn (Houston *et al.*, 1994; Kennedy *et al.*, 2007). Het is belangrijk om bij te houden welke honden niet reageren op vaccins en om deze dieren uit te sluiten voor fokdoeleinden.

2.4.1.2 Titertest om de DOI van een vaccin te bepalen

Hoewel 'core' vaccins nu routinematig om de 3 jaar toegediend worden aan volwassen honden, is het toch duidelijk dat de werkelijke duration of immunity (DOI) van levend geattenuerde vaccins hoger zou liggen dan deze 3 jaar.

Er werden reeds vele studies hiernaar uitgevoerd die hebben aangetoond dat dieren die gevaccineerd werden met zogenaamde 'core' vaccins tot wel 15 jaar beschermd zouden zijn na laatste toediening (McCaw *et al.*, 1998; Twark & Dodds, 2000; Bohm *et al.*, 2004; Mouzin *et al.*, 2004; Ottiger *et al.*, 2006; Schultz, 2006; Schultz *et al.*, 2010; Taguchi *et al.*, 2011; Mitchell *et al.*, 2012). Voor 'non' core vaccins zoals die tegen rattenziekte is dit helemaal niet het geval en dient sowieso het interval van 1 jaar gehandhaafd te worden.

2.4.1.3 Titerstest om risico op bijwerkingen te minimaliseren

Zoals reeds vermeld kunnen er wel degelijk bijwerkingen optreden na het vaccineren van honden. Gelukkig komen deze slechts zelden voor en zijn ze meestal mild en van korte duur. Toch zijn er ook enkele aandoeningen die levensbedreigend kunnen zijn en die getriggerd kunnen worden door vaccinatie, zoals canine immuun-gemedieerde aandoeningen. Indien honden al bij vorige toedieningen adverse reacties vertoond hebben is het aangeraden om voor elke nieuwe toediening een risicoanalyse op te stellen. Voor 'core' vaccins kan ook simpelweg een titerstest uitgevoerd worden om te kijken of het echt wel nodig is dat de hond gevaccineerd kan worden.

2.4.1.4 Titerstest om vaccinatie bij de jaarlijkse check-up te vervangen

Er zijn heel wat eigenaars die enkel met hun honden naar de praktijk komen indien de honden gevaccineerd moeten worden. Nu het interval tussen twee 'core' vaccins uitgebreid is van 1 jaar naar 3 jaar, maken enkele dierenartsen zich zorgen dat ze de honden dan enkel om de 3 jaar kunnen controleren en hierdoor slechts aandoeningen in een laat stadium kunnen opmerken, die niet meer behandeld kunnen worden. Een oplossing hiervoor is om de eigenaars jaarlijks uit te nodigen voor een titerstest, zeker als de honden ouder zijn dan 10 jaar om te zorgen dat het verouderen van het immuunsysteem niet voor problemen zorgt.

2.4.1.5 Management van ziekte-uitbraken in kennels

Een van de meest waardevolle toepassingen van in-house titerstesten is bij het managen van infectieuze ziekte-uitbraken in asielen en dan voornamelijk bij CDV en CPV.

Doordat deze testen snel gebruikt kunnen worden om uit te maken of dieren beschermd of niet beschermd zijn, werden reeds veel minder dieren geëuthanaseerd wegens onbekende vaccinatiestatus. Ook worden beschermde dieren nu veel sneller afgezonderd van dieren die niet gevaccineerd zijn en dus mogelijk infectieus zijn.

2.4.2 Soorten in-house titerstesten

2.4.2.1 Vaccicheck®

De Vaccicheck® is een Dot-Enzyme-Labeled Immuno Sorbent Essay (Dot-ELISA) dat antilichamen in serum of volbloed kan detecteren. Dit doet de test zowel voor maternale antilichamen als voor deze die aangemaakt werden na de vorige vaccinatie. Het resultaat is al na 21 minuten zichtbaar en toont aan of het aan te raden is om de hond opnieuw te vaccineren. Deze test kan gebruikt worden om het aantal antistoffen van alle 'core' vaccins te berekenen, dit in tegenstelling tot de TITERchek® die later besproken zal worden.

De test is zeer betrouwbaar en heeft dan ook een hoge sensitiviteit, specificiteit en nauwkeurigheid. Hoe hoger de sensitiviteit, hoe hoger de kans is dat het dier inderdaad genoeg antistoffen aanwezig heeft in het bloed als de test een positief resultaat uitwijst. Hoe hoger de specificiteit, hoe hoger de kans dat een dier inderdaad onvoldoende antistoffen heeft als de test een negatief resultaat aantoont. De nauwkeurigheid staat voor de mate waarin het resultaat van een meting de juiste waarde benadert.

VacciCheck Canine	Sensitiviteit	Specificiteit	Nauwkeurigheid
Canine Adenovirus - 1 (CAV)	94 %	93 %	93 %
Canine Parvovirus (CPV)	88 %	100 %	91 %
Canine Distempervirus (CDV)	100 %	92 %	97 %

Figuur 27: Sensitiviteit, specificiteit en nauwkeurigheid Vaccicheck®

2.4.2.1.1 Werking Vaccicheck®

De Vaccicheck® is gebaseerd op "dot"-ELISA technologie. Antigenen worden aangebracht op een teststip die geplaatst is op de plasticen kam die meegeleverd wordt in de testkit. Het is dus heel belangrijk dat de tanden van de kam niet aangeraakt worden met de hand.

De te testen stalen worden in de eerste rij van de ontwikkelplaat gemengd met een verdunner. Daarna worden de teststippen geïncubeerd met het staal. Specifieke igG antilichamen zullen als deze aanwezig zijn binden met de antigenen op de kam. Daarna wordt het kammetje verplaatst naar een andere rij waar ongebonden antistoffen weggewassen worden van de kam. In de volgende stap krijgt de kam de kans om te reageren met een anti-dog IgG alkaline fosfaat verbinding die zal binden op het antigen-antilichaam complex en na het toevoegen van een substraat zal zorgen voor een kleurreactie. Daarna wordt de kam nog tweemaal overgebracht in een rij met een wasmiddel en in het laatste vakje zullen de teststippen gekleurd worden met behulp van een enzymatische reactie. De intensiteit van de kleur komt overeen met de hoeveelheid antilichamen er aanwezig zijn in het staal.

Rows	Incubation time in minutes	Process
A	5	Deposit sample, antibodies of sample binds to coated antigen
B	2	Wash step
C	5	Enzyme labelled antibody binds to ab/ag complex
D	2	Wash step
E	2	Wash step
F	5	Colouring (chromagen)
E	2	Colour Fixation

Figuur 28: Werking Vaccicheck®

2.4.2.1.2 Uitvoeren Vaccicheck®

Zie 3 Materiaal en methode

2.4.2.2 TITERchek® CDV/CPV

De TITERchek® CDV/CPV is ook een titertest gebaseerd op ELISA om de hoeveelheid antistoffen voor het canine distemper virus en het canine parvovirus in serum of plasma van een hond te meten.

De test is hoog specifiek, sensitief en eenvoudig uit te voeren. Voor CDV is de sensitiviteit 94% en de specificiteit 91%, voor CPV is dit 96% en 98%. Resultaten worden al bekomen na 15 minuten. De diagnostische set bevat een positieve en negatieve controle die bij elk onderzoek gebruikt moeten worden.

2.4.2.2.1 Werking TITERchek® CDV/CPV

De testkit bestaat uit plasticen tubes die een kleurcode bezitten en die ofwel antigenen van het distemper virus of het canine parvovirus bevatten. Serum of plasmastalen worden in de tubes gebracht en worden dan geïncubeerd met polyclonaal rabbit anti-dog IgG (indirecte ELISA) en gebonden met horseradish peroxidase (HRP) zodat een kleuring kan plaatsvinden na het toevoegen van een chromogeen substraat. Als er antilichamen aanwezig zijn in het bloed van de hond zullen zij binden aan specifieke antigenen in de tubes en beurtelings ook met de anti-dog IgG verbinding. Daarna worden alle ongebonden stoffen weggespoeld en wordt een chromogeen substraat toegevoegd in de tubes. Hierdoor zal de inhoud van de tubes ofwel ongekleurd blijven of krijgen ze een blauwige kleur.

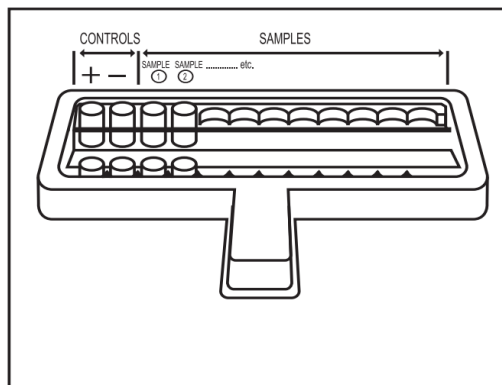
2.4.2.2.2 Inhoud testkit

ITEM	REAGENT NATURE	VOLUME	RECONSTITUTION AND CONSERVATION
1	CDV Antigen Coated Wells	2x8 wells	Ready to use. CDV wells have a white rim.
2	CPV Antigen Coated Wells	2x8 wells	Ready to use. CPV wells have a red rim.
CONTROL+	Positive Control; preserved with Phenol and Gentamicin sulfate	1.0 mL	Ready to use. (Red cap)
B	Negative Control/Sample Diluent; preserved with Phenol and Gentamicin sulfate	3.0 mL	Ready to use. (Gray cap)
C	HRP-Conjugate; preserved with Phenol and Gentamicin sulfate	2.0 mL	Ready to use. (Blue cap)
D	Chromogenic Substrate	3.0 mL	Ready to use. (Green cap)
E	10X Wash Concentrate	100 mL	Dilute to 1X in deionized or distilled water. (Orange cap)
	Disposable Sample Loops	48	Ready to use
	Well Holder	1	Ready to use

Figuur 29: Inhoud testkit

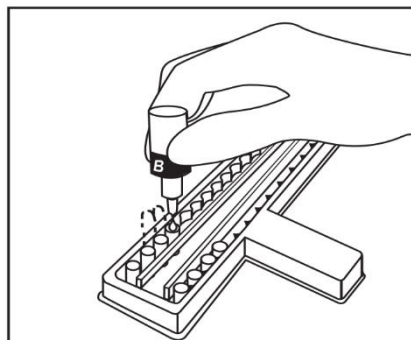
2.4.2.2.3 Uitvoeren TITERchek® CDV/CPV

1. Verzamelen van stalen
 - Enkel plasma of serum, geen volbloed
 - Testen binnen 7d: serum/plasma bewaren in koelkast bij 2°C-7°C
 - In diepvries langere tijd bewaren bij -20°C
2. Bereiden wasmiddel
 - Breng 1 deel van het bijgeleverde wasmiddel in 9 delen gedestilleerd of gedeïoniseerd water
 - Bewaar de oplossing bij 2°C-7°C
3. Plaats de tubes met CDV (evenveel als het aantal serum of plasma stalen) in de bovenste rij van de tubehouder. Op de eerste plek plaats je de positieve testtube en hiernaast de negatieve.
4. Doe het zelfde op de onderste rij, maar dan voor de buisjes die CPV bevatten.



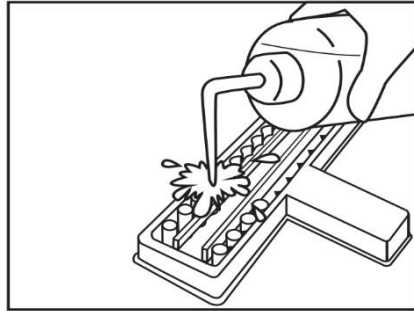
Figuur 30: Stap 3 en 4

5. Breng 1 druppel van de positieve testvloeistof in de eerste tube van de onderste en bovenste rij.
6. Breng 1 druppel van de negatieve testvloeistof die ook dienst als staalverdunner over in alle tubes behalve in de positieve testtube.



Figuur 31: stap 6

7. Breng in elke tube 1 μl van het staal met behulp van een capillair en zorg ervoor dat het staal goed gemengd wordt met de verdunvloeistof zonder morsen.
8. Laat 5 minuten incuberen bij 21°C tot 25°C.
9. Verwijder alle vloeistof uit de tubes en spoel ze met het wasmiddel (zie stap 2) door de tubes te vullen tot ze overstromen. Verwijder daarna opnieuw alle vloeistof uit de buisjes en laat drogen door de tubehouder ondersteboven op papier te plaatsen.



Figuur 32: Stap 9

10. Breng 1 druppel van de vloeistof met Horse Radish Peroxidase aan in elke tube.
11. Laat 5 minuten incuberen bij 21°C-25°C.
12. Verwijder de vloeistof uit de tubes en was deze 5x grondig met het wasmiddel, laat daarna drogen. Deze stap is uiterst belangrijk dus wees grondig.
13. Breng 2 druppel van het chromogene substraat aan in elke tube en laat opnieuw 5 minuten incuberen.
14. Interpreteer de resultaten



Figuur 33: Eindresultaat TITERchek®

2.4.2.2.4 Interpretatie resultaten

Elke tube wordt gecontroleerd met de positieve en de negatieve testtube van de juiste rij. Als de kleur even blauw of nog donkerder is dan die van de positieve testtube is de hond seropositief. Is het kleur lichter dan is het dier seronegatief en dient het gevaccineerd te worden.

Een test is enkel geldig als de positieve testtube duidelijk blauw is en als de negatieve testtube volledig kleurloos is.

2.4.2.3 Vergelijking in-house titertesten

Vaccicheck®	TITERchek®
<ul style="list-style-type: none">- Kan tot 12 stalen tegelijk testen- Stalen: serum, plasma of volbloed- Resultaat: semikwantitatieve score- Test CDV, CPV, CAV- Serum mag lipemisch of hemolytisch zijn²- CDV sensitiviteit 100%, specificiteit 83%- CPV sensitiviteit 88%, specificiteit 100%- Test kan bewaard worden indien niet alle kolommen gebruikt werden	<ul style="list-style-type: none">- Kan tot 96 stalen tegelijk testen- Stalen: serum of plasma- Resultaat: kwalitatief- Test enkel CDV en CPV- Serum mag licht lipemisch of hemolytisch zijn- CDV sensitiviteit 94%, specificiteit 91%- CPV sensitiviteit 96%, specificiteit 98%- Test kan niet bewaard worden indien de testkit reeds gebruikt is

2.5 Bloed

2.5.1 Richtlijnen bloedname en bewaren bloedmonsters

2.5.1.1 Benodigd materiaal voor een bloedafname

Om bloed af te nemen zijn onderstaande zaken vereist:

- Elastiek voor bloedafname (garrot)
- Naald en spuit/ venoject
- Bloedbuisjes
- Ontsmettingsmiddel
- Scheerapparaat
- Watten

2.5.1.2 Afname bloedmonster

Voor het afnemen van bloed is het belangrijk dat het materiaal steriel is om contaminatie te voorkomen. Daarom wordt de voorkeur gegeven aan wegwerpsystemen (wegwerpnaalden, bloedbuisjes voor éénmalig gebruik, venoject-systeem,...).

Indien mogelijk is het dier best nuchter voor bloedname en mag het dier geen grote inspanningen gedaan hebben omdat beide zaken invloed kunnen hebben op de resultaten.

² Day, M. (2012) *What we need to know about vaccination and titre testing*. Geraadpleegd op 13 januari 2018, van <http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2014/02/Michael-Day.pdf>

2.5.1.3 Soorten bloedbuisjes

2.5.1.3.1 No additive: serumbuisje

Het serumbuisje is ideaal voor de bepaling van de totale eiwitconcentratie, het albuminegehalte en het eiwitspectrum.

Het bevat geen anticoagulans, maar eventueel wel bestanddelen om de stolling van het bloed te versnellen. Bij het gebruik van een serumbuisje is het aangeraden om deze 30 minuten te laten staan voordat het bloed gecentrifugeerd wordt en daarna afgepipetteerd wordt. Dit voorkomt de aanwezigheid van nastolling.

2.5.1.3.2 EDTA

Het EDTA buisje wordt gebruikt voor hematologische bepalingen. Hierbij kunnen er onder andere bepalingen gebeuren van de reticulocyten, thrombocyten, leucocyten en bloedgroepbepalingen.

Het buisje bevat een anticoagulant die ervoor zorgt dat het bloed niet stolt. Het is belangrijk dat het buisje voor 70% gevuld is omdat EDTA hypertoon is en er verdunning optreedt van het staaltje waardoor er foutieve resultaten uit kunnen komen.

2.5.1.3.3 Lithium-Heparine

Dit buisje wordt gebruikt voor klinische bepalingen zoals calcium, natrium en ureum. Ook dit buisje bevat een anticoagulant en zal in dit geval het antithrombine versterken.

2.5.1.3.4 Natrium-fluoride

Als het bloed niet binnen het uur gecentrifugeerd kan worden maken we gebruik van het Natrium-fluoride buisje voor een glucosebepaling. Daarnaast wordt dit buisje ook gebruikt voor bepaling van het lactaat.

Het is mogelijk dat er een anticoagulant toegevoegd is. Natriumfluoride zorgt ervoor dat de enzymen die glycolyse veroorzaken, geremd worden. Zo zal de vorming van lactaat en het verbruik van lactaat stoppen.

2.5.1.3.5 Citraat

Deze buisjes zijn ideaal voor stollingsonderzoek.

De anticoagulant heeft dezelfde werking als bij het EDTA buisje. Dit effect kan omgekeerd worden door toevoeging van een overmaat aan calcium. Bij deze buisjes is het belangrijk dat ze niet ondervuld zijn omdat dit vals verhoogde stollingstijden kan veroorzaken.

2.5.1.4 Bewaring van bloedmonsters

Na bloedname moet het buisje gesloten worden met een steriele dop die goed aansluit op het buisje. Op deze manier wordt contaminatie en verdamping van vluchtige bestanddelen vermeden. Verdamping van deze bestanddelen kan anders een verhoogde waarde van niet-vluchtige bestanddelen veroorzaken.

Wanneer het bloed (fotometrisch) getest moet worden op bepaalde kleurstoffen, wordt het bloed het best bewaard op een donkere plaats. Dit om te vermijden dat licht de kleurstoffen beïnvloedt.

Bloed kunnen we bewaren op 3 mogelijke manieren:

1. Als eerste kunnen we het bloed bewaren bij kamertemperatuur. Indien het bloed gebruikt wordt binnen de 4 uur, zijn er geen belangrijke veranderingen te bemerken.
2. Daarnaast kunnen we het bloed ook bewaren in de koelkast (4°C). Hierbij kan het bloed nog gebruikt worden binnen de 24 uur zonder dat er veranderingen optreden in het bloed.
3. Als laatste kunnen we het bloed ook bewaren bij vriestemperaturen (-12°C tot -20°C). Het bloed kan op deze manier langere tijd bewaard worden al treedt er na enkele dagen enzym-activiteitsverliezen op.

2.5.2 Plaats van bloedname

Bloed kan bij de hond op 3 plaatsen genomen worden:

1. Vena cephalica
2. Vena jugularis
3. Vena saphena

2.5.3 Functies bloed

Het bloed heeft 5 functies:

1. Transport van zuurstof dankzij het binden van zuurstof aan hemoglobine.
Hemoglobine bevindt zich in de rode bloedcellen
2. Bevat witte bloedcellen en heeft daarom belang binnen het immuunsysteem.
3. Het bloed heeft daarnaast ook een stollingsfunctie.
4. Bloed zorgt voor warmtebehoud.
5. Daarnaast zorgt bloed ook voor het behoud van de osmotische zuur-base verhouding.

2.5.4 Samenstelling bloed

Bloed bestaat uit 3 soorten cellen:

1. De rode bloedcellen of erythrocyten
2. De witte bloedcellen of leucocyten
3. De bloedplaatjes of thrombocyten

Na het stollen van bloed krijgen we in een bloedbuisje een duidelijke onderverdeling van de verschillende componenten van bloed. De bovenste laag van het bloed bevat het plasma. Het onderste gedeelte van de bloedstaal bevat de erythrocyten. Tussen het plasma en de erythrocyten bevindt zich een zeer dun laagje met leucocyten en thrombocyten, de buffy coat.

2.5.4.1 Samenstelling plasma

Plasma bevat hoofdzakelijk plasma-eiwitten en anorganische zouten en mineralen. De belangrijkste plasma-eiwitten die erin voorkomen zijn albumine, stollingsfactoren zoals fibrinogeen en als laatste ook alfa-, beta- en gamma globulinen.

Albumine zorgt voor het in evenwicht houden van de osmotische druk. Het heeft in het bloed een wateraantrekkende functie. Daarnaast zorgt albumine ook voor het transport van stoffen in het bloed.

Fibrinogeen zorgt hoofdzakelijk voor de aanmaak van fibrine. Fibrine is het eindproduct van de stolling.

Gamma globulinen bevatten de antilichamen. Alfa en beta globulinen zorgen voor het transport van stoffen die moeilijk of niet oplosbaar zijn in water. De stoffen kunnen getransporteerd worden door het bloed dankzij binding aan deze globulinen.

2.5.4.2 Erythrocyten of rode bloedcellen

De rode bloedcellen van een zoogdier hebben geen kern. Ze zorgen voor het transport van zuurstof.

De erythrocyt wordt gevormd vanuit verschillende stadia. Als eerste wordt er in het beenmerg een gekernde pro-erytroblast en erytroblast gevormd. Deze zal beginnen rijpen en de migratie naar de bloedbaan starten. We spreken nu van de reticulocyt. Slechts 1% van de reticulocyten komt voor in het bloed. De andere blijven aanwezig in het beenmerg. De rijpe erythrocyt bevindt zich in het bloed en heeft een rond, biconcaaf, schijfvormige uitzicht bij de zoogdieren.

2.5.4.3 Leucocyten of witte bloedcellen

De leucocyten worden gevormd in het beenmerg. Ze blijven niet lang in de circulatie en gebruiken het bloed enkel voor de doortocht van het beenmerg naar de weefsels. Hier heeft ze een belangrijke functie in de afweer van het dier. De leucocyten worden onderverdeeld in neutrofielen, eosinofiele granulocyten, basofiele granulocyten, lymfocyten en monocyten. Ze verschillen onderling van elkaar maar zijn allemaal afkomstig uit één gemeenschappelijke stamcel: de myeloblast.

2.5.4.3.1 Neutrofielen

Neutrofielen staan in voor de eerste afweer binnen het afweersysteem. Zij zorgen voor de vorming van etter. De staafkernige neutrofielen zijn de jonge, ongerijpte neutrofielen. De segmentkernige neutrofielen zijn de volwassen neutrofielen.

2.5.4.3.2 Eosinofiele granulocyten

We zien een toename van het aantal eosinofielen bij allergische reacties en wormbesmettingen. De eosinofielen hebben een meerlobbige kern.

2.5.4.3.3 Basofiele granulocyten

De basofielen komen niet of zelden voor in het perifere bloed. Enkel bij vertraagde overgevoelighedsreacties kunnen ze de functie van de weefsel-mestcellen ondersteunen. De basofiel heeft een meerlobbige kern.

2.5.4.3.4 Lymfocyten

Lymfocyten worden aangemaakt in het beenmerg en worden onderverdeeld in de B-lymfocyten en de T-lymfocyten. De B-lymfocyten produceren antistoffen en de T-lymfocyten rijpen in de thymus.

2.5.4.3.5 Monocyten

Monocyten zijn een bescherming tegen infecties en zorgen voor de vorming van nieuw weefsel. Ze kunnen dankzij diapedese vanuit het perifere bloed naar de weefsels begeven en zich daar omvormen tot actieve macrofagen.

2.5.4.4 Thrombocyten of bloedplaatjes

De thrombocyten zijn reststukjes van beenmergcellen. De bloedplaatjes zijn een belangrijk onderdeel tijdens de bloedstolling.

2.5.5 Serum of plasma?

Het verschil tussen serum en plasma is klein, maar toch is er een belangrijk verschil. Serum bevat in tegenstelling tot plasma geen stollingsfactoren. Wanneer het bloed buiten het lichaam gebracht wordt zal dit van nature stollen. Na het stollen zal het bloedstaal een stolsel bevatten. Dit stolsel bevat een heldere vloeistof die wanneer de stolling verder gaat uit het stolsel geperst wordt. Deze vloeistof is het serum.

Voegen we na bloedname anticoagulantia toe, zal het bloed na centrifugeren in 3 lagen opsplitsen (zie 2.5.4) . Hierbij is het vloeibare gedeelte het plasma.

Verkrijgen van serum:

- Bloedstolling bij kamertemperatuur.
- Na 15-30 minuten de bloedklonter losmaken van de glaswand.
- Gedurende 10 minuten centrifugeren aan 3000 toeren/min.
- Bovenstaande serum na 30- 60 minuten afgieten of af pipetteren.

Verkrijgen van plasma:

- Bloed opvangen in een buisje met antistollingsmiddel.
- Buisje gedurende 1 minuut schommelen.
- Afcentrifugeren
- Plasma afgieten in een steriel monsterbuisje.

2.5.6 Soorten onderzoeken

2.5.6.1 Hematologie

Binnen de hematologie wordt de cellulaire samenstelling van het bloed onderzocht.

2.5.6.1.1 Bloeduitstrijkje

Met een bloeduitstrijkje wordt een monolayer van bloedcellen op een draagglasje geplaatst. De monolayer is belangrijk zodat de verschillende cellen in het bloed goed te onderscheiden zijn voor microscopisch onderzoek. Hiermee kunnen er afwijkingen in het bloed microscopisch onderzocht worden.

Een bloeduitstrijkje maken:

1. Plaats een druppel bloed op het draagglasje met een pipet.
2. Plaats het andere glasje in de druppel bloed en ga in 1 beweging met het ene draagglasje over het andere draagglasje. Zo krijg je een dunne laag bloed die verspreid is over het draagglasje.
3. Laat het uitstrijkje drogen aan de lucht.
4. Fixeer het uitstrijkje door het in fixeervloeistof onder te dompelen.
5. Kleur het uitstrijkje met een kleuroplossing afhankelijk van het soort onderzoek.

2.5.6.1.2 Hematocriet

Bij een hematocrietbepaling wordt het volume erythrocyten ten opzichte van het volume totaal bloed bepaald.

Het hematocriet kan bepaald worden door enerzijds het gebruik van een flowcytometer. Anderzijds kan dit ook bepaald worden dankzij het centrifugeren van onstolbaar gemaakt bloed.

Hematocrietbepaling met behulp van centrifuge:

1. Neem bloed af in een heparine of EDTA bloedbuisje.
2. Breng een capillairtje in het bloed. Het capillairtje zal dankzij capillaire krachten bloed aanzuigen.
3. Vul het capillairtje totdat het $\frac{3}{4}$ gevuld is en houdt een vinger op het uiteinde van het capillairtje.
4. Op het andere uiteinde wordt klei geplaatst zodat het buisje dicht is aan één zijde.
5. Plaats het capillairtje in de centrifuge en plaats een tegengewicht.
6. Schroef de bovenplaat vast en zet de centrifuge aan.
7. Lees de hematocriet af aan de hand van de schaalverdeling.

2.5.6.2 Biochemie

Biochemie of het klinisch chemisch bloedonderzoek bepaalt de hoeveelheid van bepaalde stoffen in het bloed. Het bloed wordt getest op de biochemische parameters. Ureum is bijvoorbeeld een biochemische parameter voor de bepaling van de werking van de nier.

Biochemisch onderzoek wordt uitgevoerd om activiteit en functie van bepaalde organen te controleren, detectie van auto-immune aandoeningen, monitoring medicatie, detectie toxicon, detectie hormonen,...

2.5.6.3 Immunochemisch en serologisch onderzoek

Het immunochemisch onderzoek zal binnen de diagnostiek antistoffen gebruiken om antigenen aan te tonen in patiëntenmateriaal.

Serologisch onderzoek zal het bloed onderzoeken op de aanwezigheid van antistoffen. Indien een dier voor het eerst geïnfecteerd wordt met een antigen (micro-organisme) zal het lichaam een immuunreactie aanleggen. B-lymfocyten zullen zich omvormen tot plasmacellen. Deze plasmacellen produceren antistoffen tegen het antigen. Deze antistoffen bevinden zich in alle lichaamsvloten. Wanneer het dier opnieuw geïnfecteerd wordt met hetzelfde antigen zullen de antistoffen meteen werken tegen de antigenen.

2.5.6.3.1 Principes immunochemisch en serologisch onderzoek

Het immunochemisch en serologisch onderzoek berust op het cytopathogeen effect, hemagglutinatie, hemadsorptietest, interferentietest en agglutinatie.

Het cytopathogeen effect

Het voorbehandelde bloed wordt op verschillende celsoorten geënt en geïncubeerd. De cellen worden dagelijks gecontroleerd. Indien het virus cytopathogeen is, zal deze de cellen aantasten en zal dit te zien zijn onder de microscoop.

Hemagglutinatie

Sommige virussen bevatten een affiniteit voor rode bloedcellen. Indien dit virus gecombineerd wordt met bloed zal deze binden op de rode bloedcellen en een brug vormen tussen meerdere rode bloedcellen.

Hemadsorptie

Rode bloedcellen zullen binden aan het virus die zich in de cellen bevindt. Ze hechten zich zo stevig vast dat men ze onmogelijk weg kan wassen wat anders wel gaat.

Interferentietest

Als er op de cellijn een virus aangebracht wordt dan zal het cytopathogeen effect niet plaats vinden indien de cellen al ingenomen zijn door een ander virus. Het eerste virus interfereert zo met het tweede virus.

Agglutinatie

Dit is een met het blote oog waarneembare klontervorming. Deze vorming ontstaat omdat antigen en antistof zullen binden en daarna neerslaan.

2.5.6.3.2 Rechtstreeks aantonen van het micro-organisme door immunochemie

Het rechtstreeks aantonen van micro-organismen door immunochemie kan door middel van de lichtmicroscoop, elektronenmicroscoop, fluorescentiemicroscoop, ELISA en PCR.

Lichtmicroscoop

Op biopsiemateriaal en cytologische uitstrijkjes kunnen we via de lichtmicroscoop soms specifieke veranderingen opmerken.

Elektronenmicroscoop

Met de elektronenmicroscoop kan er rechtstreeks op excreties, secreties of materiaal van een levend dier onderzoek gebeuren. Hierbij is het belangrijk dat er genoeg micro-organismen aanwezig zijn. Het is daarom belangrijk dat het staaltje zo vers mogelijk is.

Fluorescentiemicroscoop

Om de fluorescentiemicroscoop te kunnen gebruiken moeten we fluorescerende kleurstoffen gebruiken die oplichten wanneer ze bestraald worden met licht van een kortere golflengte.

Directe immunofluorescentie

Bij directe immunofluorescentie wordt het fluorescerend antistof toegevoegd aan het antigen. Indien ze goed in elkaar passen zal deze na het spoelen aanwezig blijven en te zien zijn via de fluorescentiemicroscoop.

Indirecte immunofluorescentie

Bij indirecte immunofluorescentie wordt het antigen niet direct gekleurd met een fluorescerende antistof. Het antigen wordt via een tussenstap gekleurd. Eerst wordt een specifieke antistof gebruikt tegen het antigen voor onderzoek waarna er een tweede antistof toegevoegd wordt tegen de eerste antistof. Hierbij wordt in plaats van het eerste antistof, het tweede gekenmerkt.

ELISA

Zie 2.3 Detectie van antilichamen en antigenen

PCR

De polymerase chain reactie maakt gebruik van DNA. Dankzij deze techniek kan het DNA in een monster vermenigvuldigd worden. Met deze reactie zijn ook de inactieve virussen op te sporen.

2.5.6.3.3 Aantonen van antistoffen door serologie

Antistoffen aantonen door middel van serologie kan via gepaarde sera, seroneutralisatietest, haemaglutinatieinhibitietest, indirecte immunofluorescentie of ELISA.

Gepaarde sera

Bij gepaarde sera wordt er een vergelijking gemaakt tussen een acuut serum en een convalescerend serum. Het acuut serum wordt genomen bij het begin van de infectie of ziekte. Het convalescerend serum wordt genomen na het doormaken van de ziekte of de infectie. Indien in het acuut serum geen/weinig antistoffen aanwezig waren en in het convalescerend serum wel/ 4x zo hoog antistoffen aanwezig zijn, dan weten we dat het micro-organisme waartegen de antistoffen opgebouwd werden de oorzaak was van de infectie.

Seroneutralisatietest

Via de seroneutralisatie test wordt nagegaan tot in welke verdunning het serum nog voldoende antistoffen bevat om een standaardhoeveelheid micro-organisme te neutraliseren.

Virusneutralisatietest

Bij deze test wordt de hoeveelheid antistoffen in het bloed getest die in staat zijn om een bepaald virus te neutraliseren of dus onschadelijk te maken. Op deze manier wordt aangetoond of het dier beschermd is tegen het virus door vaccinatie of een eerdere besmetting.

Haemaglutinatieinhibitietest

Hierbij zal antistof en antigen samengebracht worden en als laatste gebeurt er ook een toevoeging van rode bloedcellen. Indien antistof en antigen goed binden zal de agglutinatie van virus en rode bloedcellen afgeremd worden.

Indirecte immunofluorescentie

We tonen via indirecte immunofluorescentie antistoffen aan in een bloedstaal. De besmette cellen worden op een draagglaasje geplaatst en gefixeerd met aceton. Het te onderzoeken serum wordt bij verschillende verdunningen toegevoegd. Wanneer het dezelfde antistoffen bevat, zal er complexvorming optreden. Na de complexbinding voegen we een gemerkte antistof toe en is dit zichtbaar onder de fluorescentiemicroscop.

2.5.7 Het gebruik van bloed in functie van de Vaccicheck

De Vaccicheck berust op een serologische titertest die zowel maternale antilichamen als antilichamen die zijn aangemaakt na een vorige vaccinatie.

Voor de Vaccicheck is maar 1 druppel bloed nodig. Dit kan zowel volbloed en bloed uit een EDTA- of Lithium-Heparine-buisje 10 microliter en serum/plasma 5 microliter.

Vers bloed uit een EDTA- of Lithium-Heparine-buisje geniet de voorkeur. Wanneer bloed afgenomen wordt via venapunctie kan deze rechtstreeks op de test aangebracht worden.

Vers bloed mag nooit ingevroren worden en kan maximaal 7 dagen bewaard worden bij een temperatuur van 2°C à 8°C. Serum/plasma kunnen maximaal 3 dagen bewaard worden bij een temperatuur van 2°C à 8°C. Indien de test niet kan plaats vinden binnen de 3 dagen kan het serum/plasma ook ingevroren worden bij een temperatuur van -20°C of lager.

Het bloed/plasma/serum dat koel bewaard werd, moet eerst op kamertemperatuur gebracht worden alvorens deze gebruikt wordt.

3 Materiaal en methode

3.1 Verzamelen van serum- en plasmastalen

Om voldoende serumstalen te hebben, werd contact opgenomen met meerdere dierenartsenpraktijken. Om te vermijden dat deze test als dierproef kon opgevat worden, werd enkel bloed verzameld van dieren die om medische redenen een bloedname nodig hadden of honden die reeds gekatheteriseerd werden voor anesthesie. Zo moest geen naald ingebracht worden specifiek voor ons onderzoek. De wet beschrijft namelijk een dierproef als volgt:

“Elk al dan niet invasief gebruik van een dier voor experimentele of andere wetenschappelijke doeleinden, waarvan het resultaat bekend of onbekend is, of voor onderwijskundige doeleinden, die bij het dier evenveel of meer pijn, lijden, angst of blijvende schade kan veroorzaken als het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap.”

De dierenarts bracht het bloed over in een serumbuisje of EDTA buisje (zie 2.5 Bloed) en deze haalden wij vervolgens op. Het serum werd met behulp van een wegwerp pipette overgebracht in een Eppendorf Tube® en die tube werd geplaatst in een diepvries bij -20°C om later getest te worden.

3.2 Onderzoek serumstalen met behulp van Vaccicheck®

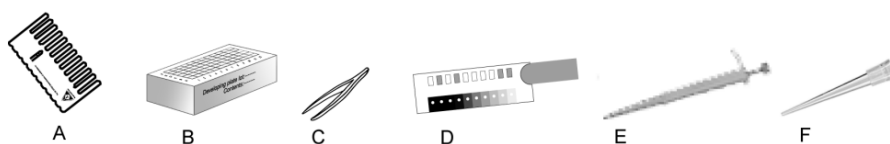
3.2.1 Werking Vaccicheck®

Zie 2.4.2.1.1 Werking Vaccicheck®

3.2.2 Uitvoeren Vaccicheck®

Inhoud van de testkit

Components	12 Test Kit (50CVV201)	120 Test Kit (50CVV110)
A. ImmunoComb card (wrapped in aluminum foil)	1	10
B. Developing plate	1	10
C. Disposable tweezers	1	1
D. Calibrated CombScale	1	1
E. Junior fix pipette 5 µl	1	-
F. 10 µl universal grad tip	15	-
Instruction manual	1	1



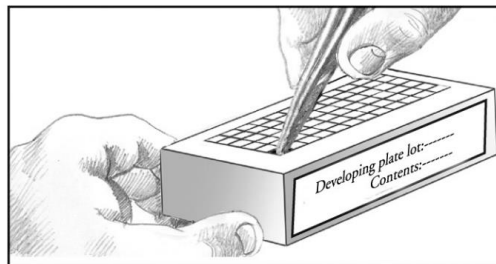
Figuur 34: Inhoud testkit

Voorbereiding

De Vaccicheck wordt koel bewaard in een koelkast bij 2°C tot 8°C en moet 2u voor het gebruik op kamertemperatuur gebracht worden. Indien de test snel gebruikt dient te worden kan deze 25 minuten in een broedstoof bij 37°C geplaatst worden. Voor aanvang moeten alle vakjes gecontroleerd worden langs de onderkant. Deze moeten helder wit zijn en er mogen geen donkere vlekken opgemerkt worden. Om de reagentia te mengen moet het ontwikkelbakje enkele keren op en neer bewogen worden en vervolgens op het werkblad geplaatst worden.

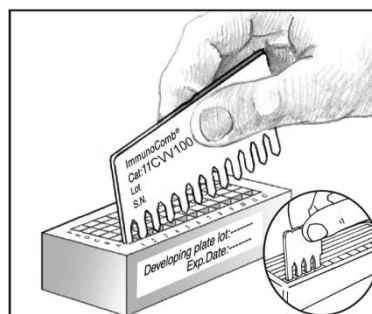
Stappenplan (volgens NML health)

1. Prik vakje A open met de bijgeleverde pincet. Met behulp van een micropipet of capillair wordt dit vakje gevuld met het monster (bloed, serum of plasma). Beweeg de tip van de pipet of het capillair enkele malen op en neer, zonder morsen, om het staal goed te mengen.
 - Voor volbloed gebruik je 10 µl van het staal
 - Voor serum of plasma gebruik je 5 µl van het staal



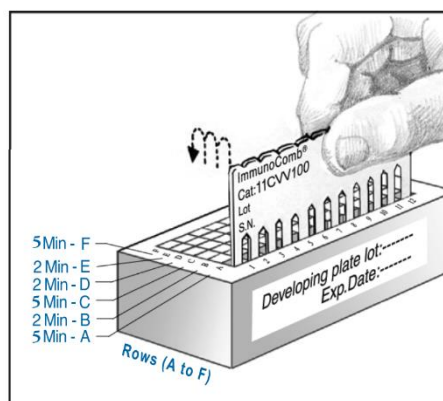
Figuur 35: Stap 1

2. Haal het kammetje uit de verpakking zonder de tanden hierbij aan te raken. Afhankelijk van het aantal te testen stalen knip je een tand van de kam af. De overschot plaats je terug in de folie en plak je met behulp van plakband dicht.
3. De kam wordt vervolgens met de voorzijde naar je toe in de eerste rij geplaatst. Beweeg de kam 3 tot 4 keer op en neer en start hierna de timer. De kam dient in totaal 5 minuten in deze rij geïncubeerd te worden. Na 2 minuten 30 beweeg je de kam nogmaals 3 tot 4 keer op en neer en dit herhaal je als de 5 minuten om zijn. Daarna wordt de kam uit de testunit gehaald en dop je de onderzijde op een voorzichtige manier droog met papier.



Figuur 36: Stap 3

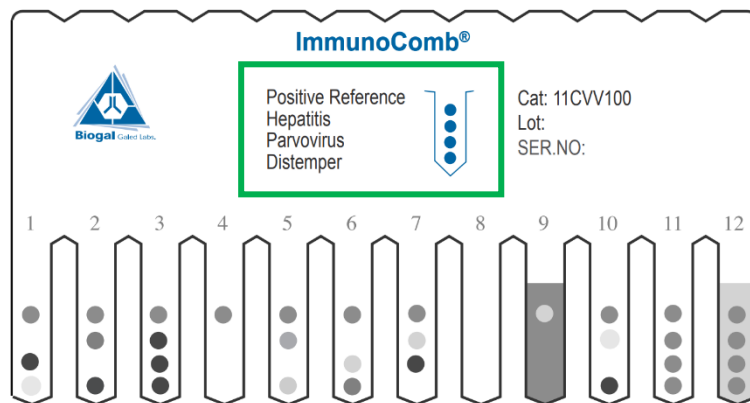
4. Vervolgens wordt de kam in rij B geplaatst op dezelfde manier als in stap 3. Na 2 minuten mag de kam verwijderd worden en ook nu wordt de onderzijde drooggedept met papier.
 5. Plaats de kam in rij C en beweeg deze geleidelijk 3-4 keer van boven naar beneden op en neer. Start nu de timer (5 minuten). Beweeg na 2,5 minuut de kam 3-4 keer op neer en doe dit nogmaals als de tijd verstreken is. Prik vlak voor het verstrijken van de tijd, rij D open. Haal na het verstrijken van de tijd de kam uit het bakje en dep de onderzijde voorzichtig droog met papier.
 6. Plaats de kam in rij D en beweeg deze geleidelijk 3-4 keer van boven naar beneden op en neer. Start nu de timer (2 minuten). Prik vlak voor het verstrijken van de tijd, rij E open. Beweeg indien de tijd verstreken is de kam 3-4 keer op en neer, verwijder deze en dep de onderzijde weer voorzichtig droog met papier.
 7. Plaats de kam in rij E en beweeg deze geleidelijk 3-4 keer van boven naar beneden op en neer. Start nu de timer (2 minuten). Prik vlak voor het verstrijken van de tijd, rij F open. Beweeg indien de tijd verstreken is de kam 3-4 keer op en neer, verwijder deze en dep de onderzijde weer voorzichtig droog met papier.
 8. Plaats de kam in rij F en beweeg deze geleidelijk 3-4 keer van boven naar beneden op en neer. Start nu de timer (5 minuten). Beweeg na 2,5 minuut de kam 3-4 keer op en neer en doe dit nogmaals als de tijd verstreken is. Neem na het verstrijken van de tijd de kam uit het bakje en dep de onderzijde voorzichtig droog met papier.
 9. Plaats de kam terug in rij E en beweeg deze geleidelijk 3-4 keer van boven naar beneden op en neer. Start nu de timer (2 minuten). Beweeg indien de tijd verstreken is de kam 3-4 keer op en neer, verwijder deze en leg de kam vervolgens met de achterzijde op het papier. Laat deze nu drogen voor ongeveer 5 minuten.
10. Interpreteer de resultaten



Figuur 37: Werkwijze

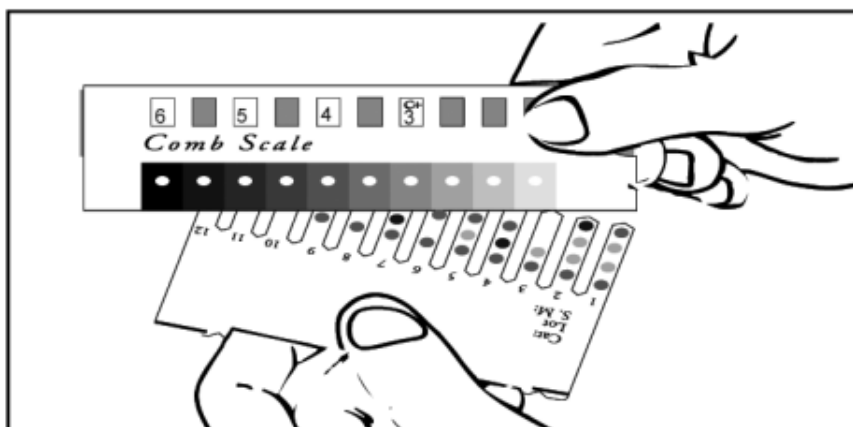
Aflezen van de kam

Als de kam volledig droog is, controleer je eerst de aanwezigheid van de referentiestip. Als deze niet aanwezig is, geldt de test niet en moet deze opnieuw uitgevoerd worden. Dit doe je ook als de kam sterk verkleurd is. Daarna zoek je op de CombScale het kleur dat het best overeenkomt met het kleur van deze referentiestip (de bovenste stip op de kam). Boven dit kleur plaats je het C+ symbool dat op de CombScale staat en deze verander je niet meer tijdens het aflezen van de resultaten. Hierdoor kan de kleurintensiteit van de andere stippen bepaald worden. De schaalverdeling van de CombScale loopt van S0 naar S6+. S0 tot en met S1 geeft een negatief resultaat weer, S2 is zwak positief, S3 en S4 zijn positief en vanaf S5 kun je van een hoog positief resultaat spreken.



Figuur 38: Uitleg stippen op de kam

Terwijl je de CombScale vasthoudt zoek je bij elke stip het overeenkomende kleur op de schaalverdeling. Het nummer dat verschijnt in het scherm op de CombScale is de score van de test. Dit doe je voor elke stip. De eerste stip is de positieve referentie teststip, hieronder kan je het resultaat lezen voor hepatitis, de stip hieronder geeft het aantal antistoffen voor parvo weer en onderaan kan je het resultaat vinden voor distemper.



Figuur 39: Resultaat aflezen mbv CombScale

Interpreteren van de resultaten

1. Nog-niet gevaccineerde pups

Vanaf 6-8 weken kan om de 3 weken een titer test uitgevoerd worden. Meestal is vaccineren op deze leeftijd nog niet echt effectief omdat de pups nog over veel maternale antistoffen beschikken. Indien er op die leeftijd geen antilichamen gemeten worden, kunnen de dieren gevaccineerd worden tegen distemper, hepatitis en parvo. Indien er wel nog veel maternale antistoffen zijn worden de pups 3 weken later nogmaals getest en pas bij een uitslag van S1 of lager worden ze gevaccineerd.

2. Gevaccineerde pups

Pups die al gevaccineerd zijn, kunnen vanaf 3 tot 4 weken na hun laatste vaccin getiterd worden. Een hoge titer wil niet zeggen dat het vaccin voldoende aangeslagen is, maar kan ook wijzen op een hoog gehalte aan maternale antistoffen. Daarom wordt steeds aangeraden om na 3 weken nogmaals een titerbepaling uit te voeren. Deze waarden kunnen dan gebruikt worden om te beslissen of hervaccinatie aan te raden is.

3. Gevaccineerde volwassen honden

Een score van 0 tot 1 betekent dat de hond geen detecteerbare antilichamen tegen de ziekte in het bloed heeft. Scores van 2 menen dat er een laag gehalte aan antilichamen aanwezig is, maar niet voldoende om de hond daadwerkelijk te beschermen bij hoge infectiedruk. Scores van 3-4 staan voor een voldoende beschermend aantal antilichamen en vanaf 5 heeft de hond een sterke humorale immuniteit. Honden die een score behalen van 3 of meer moeten niet opnieuw gevaccineerd worden.

Score	Betekenis	Advies
S0 tem S1	Geen antilichamen	Vaccineren
S2	Zwak seropositief	Opnieuw testen na 1-2 jaar of vaccineren
S3-S4	Seropositief	Opnieuw testen na 3 jaar
S5 en hoger	Sterk seropositief	Opnieuw testen na min 3 jaar

3.2.3 Inventarisatie bloedstalen

Tabel 5: Inventarisatie bloedstalen

Ras	Geslacht	Leeftijd	Soort vaccin	Tijd sinds laatste vaccin	Extra informatie
Akita Inu	VC	7j	/	3 jaar	/
Siberische Husky	MC	1j 6m	/	9 maand	/
/	/	16j	/	Meer dan 5 jaar	/
Border Collie	V	5j 3m	Nobivac® DHPPi	1 jaar 3 maand	Geen gezondheidsproblemen, 2 nesten gehad
Jack Russell	M	6 m	/	4 maand	Laatste vaccin was puppyvaccin op 9 weken
Bordeauxdog	M	5j 10m	/	1-2 jaar	Bottumor
Duitse Dog	M	2j 10m	/	7 maand	Cherry eye
Canis vulgaris	M	5j	Versican® DHPPi	1 jaar 10 maand	Geen gezondheidsproblemen
Amerikaanse Stafford	VC	11j 5m	/	1 jaar	Mastocytoma, palladia behandeling
Border Collie	VC	11j 3m	/	1 jaar	Diabetes patiënt
Labrador Retriever	VC	10j 7m	Eurican® CHPPi	7 maand	Geen gezondheidsproblemen
Bordeaux dog	M	9j 1m	/	Meer dan 3 jaar	Artrose en spieratrofie
West Highland white terriër	V	4m	Versican® DHPPi L	5 weken	
West Highland white terriër	V	4m	Versican® DHPPi L	5 weken	
Maltezer	M	14j	Versican® DHP L	4 jaar	Hypothyroïdie en chronische pancreatitis
/	M	6m		3 maand	
/	VC	10j		2 jaar 4 maand	
Golden Retriever	M	12j	Versican® plus DHPPi	5 jaar	Geëuthanaseerd wegens kwaadaardige tumoren
Teckel	MC	3j 7m	Nobivac® DHP	3 jaar 2 maand	Neemt Pexion® ter behandeling van epilepsie
Shih Tzu	V	4j 1m	Nobivac® DHP	9 maand	Neemt Prednisolone® ter behandeling van auto-immune hemolytische anemie

Cavalier king charles spaniël	V	10m14d	Nobivac® DHP-L4, Bbpi	7 maand	
Golden retriever	VC	2j 5d	Nobivac® DHPPi-L4	1 jaar en 9 maand	Op 26/04/2017 reeds getest met Vaccicheck en was toen in orde
Dwergschnauzer	M	8j 5m	Nobivac® DHPPi-L4	2 jaar	
Golden retriever x Engelse Springer Spaniël	M	6m	Nobivac® DHPPi-L4	3 maand	
Beagle	M	6m	Nobivac® DHPPi-L4	3 maand	
Kaukazische herder	V	2j	Nobivac® DHPPi-L4	1 jaar en 10 maand	
Shiba inu	M	9m	Nobivac® DHP-L4, Bbpi	7 maand	
Golden retriever	MC	6j 10m	Versican® DHPPi-L4	1 jaar en 7 maand	
Yorkshire terrier x Jack russell	M	11j	Nobivac® DHPPi-L4	2 jaar	
Golden retriever	M	13j 9m	Nobivac® DHPPi-L4	1 jaar en 6 maand	Schildklier en leverproblemen
Malteser	V	11j 11m	Nobivac® DHPPi-L4	2 jaar en 3 maand	
Ruwharige teckel	V	8j 10m	Nobivac® Bbpi, zoetis vanguard da2pi	1 jaar en 2 maand	Besmet met giardia in 2011
Malteser	MC	8j 4m	Versican® DHPPi	1 jaar en 1 maand	
Cavalier king charles spaniël	V	1j 5m	Nobivac® DHP + bbpi	1 jaar en 2 maand	
Cavalier king charles spaniël	V	8j 6m	Nobivac® DHPPi-L4	3 jaar en 10 maand	Syringomyelie en hartproblemen
Labrador	M	8j 2m	Versican® DHPPi-L4	7 maand	

4 Resultaten

Tabel 6: Resultaten Vacciecheck

Ras	Tijd sinds laatste vaccin	Resultaat hepatitis	Resultaat parvovirose	Resultaat distemper
Akita Inu	3 jaar	S6	>S6	S5 – S6
Siberische Husky	9 maand	S4 – S5	>S6	S5 – S6
/	Meer dan 5 jaar	S1	S2	S1
Border Collie	1 jaar 3 maand	S4	S4 – S5	S5 – S6
Jack Russell	4 maand	S4	S5	>S6
Bordeauxdog	1-2 jaar	S1	S3	S4 – S5
Duitse Dog	7 maand	S5 – S6	>S6	S4 – S5
Canis vulgaris	1 jaar 10 maand	S5	>S6	S4 – S5
Amerikaanse Stafford	1 jaar	S5	S5	S6
Border Collie	1 jaar	S4 – S5	>S6	S5
Labrador Retriever	7 maand	>S6	>S6	S5 – S6
Bordeaux dog	Meer dan 3 jaar	S5	>S6	S4 – S5
West Highland white terriër	5 weken	>S6	>S6	S5
West Highland white terriër	5 weken	>S1	>S6	S5 – S6
Maltezer	4 jaar	S2	>S6	S3
/	3 maand	S4 – S5	>S6	S2
/	2 jaar 4 maand	S3	S5	S4
Golden Retriever	5 jaar	S2	S1	S3
Teckel	3 jaar 2 maand	S4 – S5	S6	S4
Shih Tzu	9 maand	S6	S5 – S6	S5
Cavalier king charles spaniël	7 maand	S5 -S 6	>S6	S5-S6
Golden retriever	1 jaar 9 maand	S4	>S6	S5-S6
Dwergschnauzer	2 jaar	>S6	S5-S6	>S6

Golden retriever x engelse springer spaniël	3 maand	>S6	S5-S6	S4
Beagle	3 maand	S6	>S6	S1
Kaukazische herder	1 jaar 10 maand	S6	>S6	S4-S5
Shiba inu	7 maand	S3-S4	S1	S4-S5
Golden retriever	1 jaar 7 maand	S5	>S6	S3
Yorkshire terrier x Jack russell	2 jaar	S5	>S6	S4
Golden retriever	1 jaar 6 maand	S5	S6	S4
Maltezer	2 jaar 3 maand	S6	>S6	S4-S5
Ruwharige teckel	1 jaar 2 maand	>S6	>S6	S6
Maltezer	1 jaar 1 maand	S4-S5	S5	S4
Cavalier king charles spaniël	1 jaar 2 maand	>S6	S5-S6	>S6
Cavalier king charles spaniël	3 jaar 10 maand	S4	S3	>S6
Labrador	7 maand	>S6	S6	S5-S6

4.1 Algemene gegevens

Vooraleer we beginnen met het bespreken van onze resultaten willen we benadrukken dat we met een kleine steekproefgrootte (n=36) gewerkt hebben. Hierdoor zijn de resultaten niet statistisch significant en kunnen er geen betrouwbare conclusies aan gekoppeld worden. We kunnen wel enkele significante verbanden aantonen met behulp van de chi kwadraattoets. (zie 5.12 Enkele hypothesen)

Voor dit eindwerk werden 36 honden getest afkomstig van 5 verschillende dierenartsenpraktijken.

Algemene gegevens:

- ⇒ 83,34% van de geteste honden was seropositief. Dit bestaat uit 27,78% hoog seropositieve dieren, 50% seropositieve dieren en 5,56% zwak seropositieve dieren
- ⇒ 91,68% testte seropositief voor hepatitis. Dit bestaat uit 55,56% hoog seropositieve dieren, 30,56% seropositieve dieren en 5,56% zwak seropositieve dieren
- ⇒ 94,45% testte seropositief voor parvo. Dit bestaat uit 83,34% hoog seropositieve dieren, 8,34% seropositieve dieren en 2,77% zwak seropositieve dieren.
- ⇒ 94,43% testte seropositief voor distemper. Dit bestaat uit 47,22% hoog seropositieve dieren, 44,44% seropositieve dieren en 2,77% zwak seropositieve dieren
- ⇒ 8,34% testte seronegatief voor hepatitis
- ⇒ 5,55% testte seronegatief voor parvo
- ⇒ 5,55% testte seronegatief voor distemper

In onderstaande tabel wordt algemene informatie weergegeven zoals het aantal dieren per geslacht, leeftijd, gewicht, soort vaccin en tijd sinds laatste vaccinatie. Ook geven we een tabel weer met rassen die meer dan een keer getest werden. Later zullen we kijken of deze factoren een effect kunnen hebben op de werking van een vaccin.

Tabel 7: Geslacht en leeftijd honden bloedstalen

GESLACHT				LEEFTIJD			
M intact	V intact	Mannelijk C	Vrouwelijk C	<1 jaar	1-5 jaar	5-10 jaar	>10 jaar
16	10	4	6	8	7	11	10

- ⇒ In totaal werden er 20 reuen getest (55,56%). Hiervan waren 16 honden intact (44,44%) en waren 4 mannelijke honden gecastreerd (11,11%). Daarnaast werden ook 16 vrouwelijke honden getest (44,44%). Hiervan waren 10 honden intact (28,78%) en 6 dieren werden gecastreerd (16,67%).
- ⇒ 8 (22,22%) van de honden die getest werden, waren jonger dan 1 jaar. Tot de groep van honden met een leeftijd van 1 tot 5 jaar behoorden 7 honden (19,44%), tot deze van 5-10 jaar waren dit 11 honden (30,56%). Tenslotte namen ook 10 honden (27,78%) die ouder waren de 10 jaar deel aan de test.

Tabel 8: Gewicht en soort vaccin honden bloedstalen

GEWICHT				SOORT VACCIN			
< 10 kg	10 – 30 kg	> 30 kg	Onbekend	Nobivac®	Versican®	Andere	Onbekend
13	7	12	4	15	8	2	11

- ⇒ Ook gewicht zou mogelijks een invloed kunnen hebben op de werking van een vaccin. 13 honden (36,11%) hebben een gewicht van minder dan 10 kg, 7 honden (19,44%) wegen tussen de 10 en de 30 kg en 12 honden (33,33%) wegen meer dan 30 kg. Van 4 testdieren (11,11%) is het gewicht onbekend.
- ⇒ De vaccins van het merk Nobivac® werden het meest gebruikt, namelijk bij 15 honden (41,67%). Op de tweede plaats staan de vaccins van het merk Versican® die bij 8 dieren (22,22%) gebruikt werden. Bij twee andere dieren (5,56%) werden vaccins van het merk Eurican® en Vanguard® gebruikt en bij 11 andere honden (30,56%) is het onduidelijk welk vaccin als laatst gebruikt werd.

Tabel 9: Tijd sinds laatste vaccin honden bloedstalen

TIJD SINDS LAATSTE VACCIN		
Minder dan 1 jaar	1-3 jaar	Meer dan 3 jaar
13	16	7

- ⇒ Van het totaal aantal dieren werd het laatste vaccin minder lang dan een jaar geleden toegediend aan 13 honden (36,11%). Bij 16 anderen (44,44%) is dit een tot drie jaar geleden. 7 andere honden (19,44%) zijn al langer dan 3 jaar niet meer gevaccineerd.

Tabel 10: Rassen die meerdere keren voorkwamen

Ras	Aantal	Percentage
Border Collie	2	5,56%
Bordeauxdog	2	5,56%
Labrador Retriever	2	5,56%
West Highland White Terriër	2	5,56%
Maltezer	3	8,33%
Golden Retriever	4	11,11%
Teckel	2	5,56%
Cavalier King Charles Spaniël	3	8,33%
Canis vulgaris	3	8,33%

- ⇒ Sommige rassen kwamen meer dan twee keer voor onder de honden die gebruikt werden. Deze zijn terug te vinden in bovenstaande kolom

4.2 Verdeling immuunstatus honden

In onderstaande tabellen wordt uitgewerkt hoeveel honden seronegatief (score S0 tem S1), licht seropositief (S2), Seropositief (S3-S5) en hoog seropositief zijn (\geq S5). Dit wordt steeds onderverdeeld per virus.

Tabel 11: Verdeling score titertest

VERDELING SCORE TITERTEST						
Score	Hepatitis		Parvovirose		Distemper	
	Aantal	Percentage	Aantal	Percentage	Aantal	Percentage
S0 tem S1	3	8,33%	2	5,56%	2	5,56%
S2	2	5,56%	1	2,78%	1	2,78%
S3 – S5	11	30,56%	3	8,33%	16	44,44%
\geqS5	20	55,56%	30	83,33%	17	47,22

4.3 Immuunstatus dieren in functie van verschillende factoren

4.3.1 Immuunstatus in functie van geslacht

Tabel 12: Immuunstatus ifv geslacht

SCORE TITERTEST IFV GESLACHT												
Geslacht	Score hepatitis				Score parvovirose				Score distemper			
	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5
Mannelijk intact												
- Aantal	2/16	2/16	3/16	9/16	2/16	1/16	1/16	12/16	2/16	1/16	10/16	3/16
- Percentage	12,5%	12,5%	18,75%	56,25%	12,5%	6,25%	6,25%	75%	12,5%	6,25%	62,5%	18,75%
Vrouwelijk intact												
- Aantal	1/10	0/10	2/10	7/10	0/10	0/10	2/10	8/10	0/10	0/10	2/10	8/10
- Percentage	10%	0%	20%	70%	0%	0%	20%	80%	0%	0%	20%	80%
Mannelijk castraat												
- Aantal	0/4	0/4	3/4	1/4	0/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4	3/4	1/4
- Percentage	0%	0%	75%	25%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	75%	25%
Vrouwelijk castraat												
- Aantal	0/6	0/6	3/6	3/6	0/6	0/6	0/6	6/6	0/6	0/6	1/6	5/6
- Percentage	0%	0%	50%	50%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	16,67%	83,33%

Zie Besluit immuunstatus in functie van geslacht

4.3.2 Immuunstatus in functie van leeftijd

Tabel 13: Immuunstatus ifv leeftijd

Leeftijd	SCORE TITERTEST IFV LEEFTIJD											
	Score hepatitis				Score parvovirose				Score distemper			
	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5
Jonger dan 1 jaar												
- Aantal	2/8	0/8	2/8	4/8	1/8	0/8	0/8	7/8	1/8	1/8	2/8	4/8
- Percentage	25%	0%	25%	50%	12,5%	0%	0%	87,5%	12,5%	12,5%	25%	50%
Tussen 1-5 jaar												
- Aantal	0/7	0/7	3/7	4/7	0/7	0/7	0/7	7/7	0/7	0/7	3/7	4/7
- Percentage	0%	0%	42,86%	57,14%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	42,86%	57,14%
Tussen 5-10 jaar												
- Aantal	1/11	0/11	3/11	7/11	0/11	0/11	3/11	8/11	0/11	0/11	5/11	6/11
- Percentage	9,09%	0%	27,27%	63,64%	0%	0%	27,27%	72,72%	0%	0%	45,45%	54,54%
Ouder dan 10 jaar												
- Aantal	1/10	2/10	2/10	5/10	1/10	1/10	0/10	8/10	1/10	0/10	6/10	3/10
- Percentage	10%	20%	20%	50%	10%	10%	0%	80%	10%	0%	60%	30%

Zie Besluit immuunstatus in functie van leeftijd

4.3.3 Immuunstatus in functie van gewicht

Tabel 14: Immuunstatus in functie van gewicht

Gewicht	SCORE TITERTEST IFV GEWICHT											
	Score hepatitis				Score parvovirose				Score distemper			
	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5
Minder dan 10 kg												
- Aantal	1/13	1/13	4/13	7/13	1/13	0/13	0/13	12/13	0/13	0/13	6/13	7/13
- Percentage	7,69%	7,69%	30,77%	53,85%	7,69%	0%	0%	92,31%	0%	0%	46,15%	53,85%
Tussen 10-30 kg												
- Aantal	0/7	0/7	4/7	3/7	0/7	0/7	2/7	5/7	1/7	0/7	1/7	5/7
- Percentage	0%	0%	57,14%	42,86%	0%	0%	28,57%	71,43%	14,29%	0%	14,29%	71,43%
Meer dan 30 kg												
- Aantal	1/12	1/12	2/12	8/12	1/12	0/12	1/12	10/12	0/12	0/12	7/12	5/12
- Percentage	8,33%	8,33%	16,67%	66,67%	8,33%	0%	8,33%	83,33%	0%	0%	58,33%	41,67%
Onbekend												
- Aantal	1/4	0/4	2/4	1/4	0/4	1/4	0/4	3/4	1/4	1/4	2/4	0/4
- Percentage	25%	0%	50%	25%	0%	25%	0%	75%	25%	25%	50%	0%

Zie Besluit immuunstatus in functie van gewicht

4.3.4 Immuunstatus in functie van gebruikte vaccin

Tabel 15: Immuunstatus in functie van merk vaccin

SCORE TITERTEST IFV MERK VACCIN												
Merk vaccin	Score hepatitis				Score parvovirose				Score distemper			
	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5
Nobivac®												
- Aantal	0/15	0/15	5/15	10/15	1/15	0/15	2/15	12/15	1/15	0/15	7/15	7/15
- Percentage	0%	0%	33,34%	66,67%	6,67%	0%	13,33%	80%	6,67%	0%	46,67%	46,67%
Versican®												
- Aantal	1/8	2/8	1/8	4/8	1/8	0/8	0/8	7/8	0/8	0/8	5/8	3/8
- Percentage	12,5%	25%	12,5%	50%	12,5%	0%	0%	87,5%	0%	0%	62,5%	37,5%
Andere												
- Aantal	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	2/2
- Percentage	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	100%
Onbekend												
- Aantal	2/11	0/11	5/11	4/11	0/11	1/11	1/11	9/11	1/11	1/11	4/11	5/11
- Percentage	18,18%	0%	45,45%	36,36%	0%	9,09%	9,09%	81,82%	9,09%	9,09%	36,36%	45,45%

Zie Besluit immuunstatus in functie van gebruikte vaccin

4.3.5 Immuunstatus in functie van tijd sinds laatste vaccin

Tabel 16: Score titertest ifv tijd sinds laatste vaccin

SCORE TITERTEST IFV TIJD SINDS LAATSTE VACCIN												
Tijd sinds vaccin	Score hepatitis				Score parvovirose				Score distemper			
	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5
Minder dan 1 jaar												
- Aantal	1/13	0/13	4/13	8/13	1/13	0/13	0/13	12/13	1/13	1/13	3/13	8/13
- Percentage	7,7%	0%	30,8%	61,54%	7,7%	0%	0%	92,31%	7,7%	7,7%	23,08%	61,54%
Tussen 1-3 jaar												
- Aantal	1/16	0/16	5/16	10/16	0/16	0/16	3/16	13/16	0/16	0/16	9/16	7/16
- Percentage	6,25%	0%	31,25%	62,5	0%	0%	18,75%	81,25%	0%	0%	56,25%	43,75%
Langer dan 3 jaar												
- Aantal	1/7	2/7	2/7	2/7	1/7	1/7	1/7	4/7	1/7	0/7	4/7	2/7
- Percentage	14,29%	28,57%	28,57%	28,57%	14,29%	14,29%	14,29%	57,14%	14,29%	0%	57,14%	28,57%

Zie Besluit immuunstatus in functie van tijd sinds laatste vaccin

4.3.6 Immuunstatus in functie van ras

Tabel 17: Immuunstatus ifv ras

SCORE TITERTEST IFV RAS												
Ras	Score hepatitis				Score parvovirose				Score distemper			
	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5	S0-S1	S2	S3-S5	≥S5
Border Collie												
- Aantal	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	1/2	1/2	0/2	0/2	0/2	2/2
- Percentage	0%	0%	100%	0%	0%	0%	50%	50%	0%	0%	0%	100%
Bordeauxdog												
- Aantal	1/2	0/2	0/2	1/2	0/2	0/2	1/2	1/2	0/2	0/2	2/2	0/2
- Percentage	50%	0%	0%	50%	0%	0%	50%	50%	0%	0%	100%	0%
Labrador retriever												
- Aantal	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	2/2
- Percentage	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	100%
Westie												
- Aantal	1/2	0/2	0/2	1/2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	2/2
- Percentage	50%	0%	0%	50%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	100%
Maltezer												
- Aantal	0/3	1/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	3/3	0/3
- Percentage	0%	33,34%	33,34%	33,34%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%
Golden Retriever												
- Aantal	0/4	1/4	1/4	2/4	1/4	0/4	0/4	3/4	0/4	0/4	3/4	1/4
- Percentage	0%	25%	25%	50%	25%	0%	0%	75%	0%	0%	75%	25%
Teckel												
- Aantal	0/2	0/2	1/2	1/2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	1/2	1/2
- Percentage	0%	0%	50%	50%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	50%	50%

CKCS												
- Aantal	0/3	0/3	1/3	2/3	0/3	0/3	1/3	2/3	0/3	0/3	0/3	3/3
- Percentage	0%	0%	33,34%	66,67%	0%	0%	33,34%	66,67%	0%	0%	0%	100%
Canis vulgaris												
- Aantal	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	3/3	0/3
- Percentage	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	0%

Zie Besluit immuunstatus in functie van ras

5 Discussie en algemeen besluit

5.1 Adviezen geteste honden

Elke titertest toont aan of er geadviseerd wordt om de hond opnieuw te vaccineren en wanneer het aangeraden is om de titertest opnieuw uit te voeren. In onderstaande tabel wordt aangetoond wat de betekenis is van de resultaten van de Vaccicheck® en wat het bijhorende advies is.

Tabel 18: Betekenis resultaat en adviezen

Ras	Resultaat hepatitis	Resultaat parvovirose	Resultaat distemper	Advies
Akita Inu	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
Siberische Husky	Seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na 3j
/	Seronegatief	Licht seropositief	Seronegatief	Vaccineren!
Border Collie	Seropositief	Seropositief	Hoog seropositief	Titertest na 3j
Jack Russell	Seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na 3j
Bordeauxdog	Seronegatief	Seropositief	Licht seropositief	Vaccineren!
Duitse Dog	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 3j
Canis vulgaris	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 3j
Amerikaanse Stafford	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
Border Collie	Seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na 3j
Labrador Retriever	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
Bordeaux dog	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 3j
West Highland white terriër	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
West Highland white terriër	Seronegatief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Vaccineren!
Maltezer	Licht seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 1-2j / Vaccineren
/	Seropositief	Hoog seropositief	Licht seropositief	Titertest na 1-2j / Vaccineren
/	Seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 3j
Golden Retriever	Licht seropositief	Seronegatief	Seropositief	Vaccineren!
Teckel	Seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 3j

Shih Tzu	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
Cavalier king charles spaniël	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
Golden retriever	Seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na 3j
Dwergschnauzer	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
Golden retriever x engelse springer spaniël	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na min 3j
Beagle	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seronegatief	Vaccineren!
Kaukazische herder	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 3j
Shiba inu	Seropositief	Seronegatief	Seropositief	Vaccineren!
Golden retriever	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na min 3j
Yorkshire terrier x Jack russell	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 3j
Golden retriever	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na min 3j
Maltezer	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na min 3j
Ruwharige teckel	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
Maltezer	Seropositief	Hoog seropositief	Seropositief	Titertest na 3j
Cavalier king charles spaniël	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j
Cavalier king charles spaniël	Seropositief	Seropositief	Hoog seropositief	Titertest na 3j
Labrador	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Hoog seropositief	Titertest na min 3j

5.2 Besluit honden laagste score: seronegatief

Zoals eerder vermeld moeten honden met een score van 1 of minder, bij minstens één van de ziektes, opnieuw gevaccineerd te worden. In ons onderzoek waren dit 6 honden (16,67% van de geteste groep) met onderstaande kenmerken:

Tabel 19: Honden met score 0-1

	HOND 1	HOND 2	HOND 3	HOND 4	HOND 5	HOND 6
Ras		Bordeauxdog	West Highland White Terriër	Golden Retriever	Beagle	Shiba Inu
Geslacht	Mannelijk	Mannelijk	Vrouwelijk	Mannelijk	Mannelijk	Mannelijk
Leeftijd	16 jaar	5j 10m	4 maand	12 jaar	6 maand	9 maand
Merk vaccin			Versican® DHPPI L	Versican® plus DHPPI	Nobivac® DHPPI-L4	Nobivac® DHP-L4
Laatste vaccin	>5j geleden	1-2 jaar geleden	5 weken geleden	5 jaar geleden	3 maand geleden	7 maand geleden
Extra informatie		In behandeling voor bottumor	Primovaccin Hond zelfde nest, wel hoog seropositief	Geëuthanaseerd wegens kwaadaardige tumoren	Primovaccin	Primovaccin
Seroneg voor	Hepatitis en distemper	Hepatitis	Hepatitis	Parvovirose	Distemper	Parvovirose

- Bij honden die een score hebben die tussen S0 en S1 ligt, zijn 5 van de 6 honden (83,33%) intacte mannelijke dieren, slechts 1 van deze 6 honden (16,67%) is vrouwelijk.
- Als we even kijken naar de factor 'leeftijd' dan is 33,33% van de honden ouder dan 10jaar, gevolgd door 16,67% die een leeftijd heeft tussen 5 en 10 jaar en 50% van de dieren die opnieuw gevaccineerd moeten worden is jonger dan 1 jaar. Hierbij is opvallend dat deze 50% bestaat uit honden die enkel een primovaccin gekregen hebben.
- Ook zien we dat er bij de seronegatieve honden 2 honden zijn die in behandeling zijn/geweest zijn voor kwaadaardige tumoren.
- Een andere factor die zeker een invloed kan hebben op de immuunstatus van de hond, is de tijd sinds zijn laatste vaccin. Bij 2 van de 6 honden (33,33%) is het al langer dan 3 jaar geleden dat ze gevaccineerd werden. Bij 1 van de 6 (16,67%) is dit gebeurd in een periode van 1-3j geleden. Bij de jonge honden, waarvan 3 dieren (50%) seronegatief zijn voor een aandoening, is die periode minder dan 1 jaar.
- 3 dieren zijn seronegatief voor hepatitis, 2 dieren zijn negatief voor parvovirose en 2 dieren (waarvan 1 dier ook negatief is voor hepatitis) zijn seronegatief voor distemper.

5.3 Besluit licht seropositieve honden

Honden die bij minstens één van de drie ziektes een score behalen van 2 zijn licht seropositief (5,56% van de geteste groep), maar dit zou bij een hoge infectiedruk niet altijd voldoende zijn om de hond daadwerkelijk te beschermen. Het advies voor deze dieren is om ze ofwel te vaccineren ofwel hen na 1 tot 2 jaar opnieuw te laten testen. De informatie over de honden met deze score kan hieronder teruggevonden worden.

Tabel 20: Honden met score S2

	HOND 1	HOND 2
Ras	Maltezer	
Geslacht	Mannelijk	Mannelijk
Leeftijd	14 jaar	6 maand
Merk vaccin	Versican® DHP L	
Laatste vaccin	4 j geleden	3 maand
Extra informatie	Hypothyroidie en chronische pancreatitis	Primovaccin
Licht seropos voor	Hepatitis	Distemper

- Er zijn slechts 2 honden waarvan de laagste score voor een van de twee ziektes S2 was. Beide dieren zijn mannelijk.
- De ene is ouder dan 10 jaar en de ander jonger dan 1 jaar.
- Ook de tijd wanneer ze voor het laatst gevaccineerd werden, ligt ver uit elkaar. De ene is al 4 jaar geleden niet meer gevaccineerd (>3j) en de ander kreeg zijn primovaccin 3 maand geleden.
- De oudere hond is licht seropositief voor hepatitis en de jonge hond voor distemper

5.4 Besluit seropositieve honden

Honden waarbij de laagste score bij één van de ziektes tussen 3 en 5 ligt, moeten na 3 jaar opnieuw getest worden.

	HOND 1	HOND 2	HOND 3	HOND 4	HOND 5	HOND 6
Ras	Siberische husky	Border Collie	Jack Russell	Duitse Dog	Canis vulgaris	Bordeauxdog
Geslacht	MC	V	M	M	M	M
Leeftijd	1j 6m	5j 3m	6m	2j 10m	5j	9j 1m
Merk vaccin		Nobivac® DHPPI			Versican® DHPPI	
Laatste vaccin	9 maand geleden	1j 3m geleden	4m geleden	7m geleden	1j 10m geleden	Meer dan 3j geleden
Extra informatie		Geen gezondheidsproblemen	Puppyvaccin	Cherry eye	Geen gezondheidsproblemen	Artrose en spieratrofie
Seropos voor	Hepatitis	Hepatitis en parvo	Hepatitis	Distemper	Distemper	Distemper

	HOND 7	HOND 8	HOND 9	HOND 10	HOND 11	HOND 12
Ras		Teckel	Golden retriever	Golden retriever x engelse springer	Kaukazische herder	Golden retriever
Geslacht	VC	MC	VC	M	V	MC
Leeftijd	10j	3j 7m	2j 4d	6m	2j	6j 10m
Merk vaccin		Nobivac® DHP	Nobivac® DHPPI-L4	Nobivac® DHPPI-L4	Nobivac® DHPPI-L4	Versican® DHPPI-L4
Laatste vaccin	2j 4m geleden	3j 2m geleden	1j 9m geleden	3m geleden	1j 10m geleden	1j 7m geleden
Extra informatie		Neemt Pexion ter behandeling van epilepsie	Reeds getest op 26/04/2017 en toen OK			
Seropos voor	Hepatitis en distemper	Hepatitis en distemper	Hepatitis	Distemper	Distemper	Distemper

	HOND 13	HOND 14	HOND 15	HOND 16	HOND 17	HOND 18
Ras	Yorkshire terrier x Jack Russell	Golden retriever	Maltezer	Maltezer	CKCS	Border Collie
Geslacht	M	M	V	MC	V	VC
Leeftijd	11j	13j 9m	11j 11m	8j 4m	8j 2m	11j
Merk vaccin	Nobivac® DHPPi-L4	Nobivac® DHPPi-L4	Nobivac® DHPPi-L4	Versican® DHPPi	Nobivac® DHPPi-L4	
Laatste vaccin	2j geleden	1j en 6m geleden	2j en 3m geleden	1j en 1m geleden	3j en 10m geleden	1j geleden
Extra informatie					Syringomyelie en hartproblemen	Diabetes patiënt
Seropos voor	Distemper	Distemper	Distemper	Hepatitis en distemper	Hepatitis en parvo	Hepatitis

De meeste honden (50%) die we getest hebben, hebben een score van S3 of hoger. Zij moeten na 3j opnieuw getest worden aan de hand van een titertest.

- 7 van de 18 (38,89%) honden is mannelijk en intact, 4 van de 18 (22,22%) zijn intacte vrouwen. Dit is evenveel als het aantal gecastreerde mannelijke dieren. Vrouwelijke gecastreerde honden komen in deze groep 3 keer voor (16,67%).
- 2 dieren zijn jonger dan 1 jaar (11,11%), de leeftijd van 5 dieren ligt tussen 1 en 5 jaar (27,78%). 6 dieren zijn tussen de 5 en 10 jaar oud (33,33%) en de overige 5 honden zijn ouder dan 10 jaar (27,78%).
- 10 op 18 (55,56%) dieren werden gevaccineerd met een vaccin van het merk Nobivac®, bij 3 dieren (16,67%) was dit van het merk Versican® en bij de 5 overige dieren is het gebruikte vaccin onbekend.
- 4 dieren (22,22%) werden minder dan een jaar geleden gevaccineerd, 11 honden (61,11%) werden binnen een periode van 1-3j geleden gevaccineerd en bij 3 dieren (16,67%) is dit al langer dan 3 jaar geleden.
- De ziekte waarvoor de dieren hun laagste score (= seropositief) score behalen is in 11 van de 18 gevallen distemper. 3 honden zijn naast distemper ook nog seropositief voor hepatitis. In totaal zijn er dus 9 honden die een seropositieve score behalen voor hepatitis en 2 honden zijn seropositief voor parvo en daarnaast ook beide voor hepatitis.

5.5 Besluit hoog seropositieve honden

	HOND 1	HOND 2	HOND 3	HOND 4	HOND 5	HOND 6
Ras	Akita Inu	Amerikaanse Stafford	Labrador Retriever	Westie	Shih Tzu	CKCS
Geslacht	VC	VC	VC	V	V	V
Leeftijd	7j	11j 5m	10j 7m	4m	4j 1m	10m 14d
Merk vaccin			Eurican® CHPPi	Nobivac® DHPPI-L	Nobivac® DHP	Nobivac® DHP-L4
Laatste vaccin	3j geleden	1j geleden	7m geleden	5w geleden	9 maand	7 maand
Extra informatie		Mastocytoma, palladia behandeling	Geen gezondheidsproblemen			

	HOND 7	HOND 8	HOND 9	HOND 10
Ras	Dwergschnauzer	Teckel	CKCS	Labrador
Geslacht	M	V	V	M
Leeftijd	8j 5m	8j 10m	1j 5m	8j 2m
Merk vaccin	Nobivac® DHPPI-L4	Vanguard da2pi	Nobivac® DHPPI-L4	Versican DHPPI-L4
Laatste vaccin	2j geleden	1j 2m geleden	1j 2m geleden	7 m geleden
Extra informatie				

10 van de 36 honden (27,78%) zijn voor alle drie de aandoeningen hoog seropositief en moeten slechts na min 3 jaar opnieuw getest worden.

- 2 van de 10 (20%) honden is mannelijk en intact, 5 van de 10 (50%) zijn intacte vrouwen. Dit is evenveel als het aantal gecastreerde mannelijke dieren. Vrouwelijke gecastreerde honden komen in deze groep 3 keer voor (30%).
- 2 dieren zijn jonger dan 1 jaar (10%), de leeftijd van 2 dieren ligt tussen 1 en 5 jaar (20%). 4 dieren zijn tussen de 5 en 10 jaar oud (40%) en de overige 2 honden zijn ouder dan 10 jaar (20%).
- 5 op 10 (50%) dieren werden gevaccineerd met een vaccin van het merk Nobivac®, bij 1 dier (10%) was dit van het merk Versican®, 2 dieren (20%) werden gevaccineerd met een vaccin dat onder de groep 'andere' behoort en bij de overige 2 dieren is het gebruikte vaccin onbekend.
- 5 dieren (50%) werden minder dan een jaar geleden gevaccineerd, 4 honden (40%) werden binnen een periode van 1-3j geleden gevaccineerd en bij 1 dier (10%) is dit al langer dan 3 jaar geleden.

5.6 Besluit immuunstatus in functie van geslacht

(Zie Tabel 12: Immuunstatus ifv geslacht)

De meeste mannelijke intacte honden zijn hoog seropositief voor hepatitis (56,25%), hoog seropositief voor parvovirose (75%) en seropositief voor distemper (62,5). De kleinste groep van de mannelijke intacte honden zijn seronegatief (12,5%) en licht seropositief (12,5%) voor hepatitis, licht seropositief (6,25%) en seropositief (6,25%) voor parvovirose en licht seropositief voor distemper (6,25%).

Bij de vrouwelijk intacte honden zijn de meeste dieren steeds hoog seropositief voor hepatitis (70%), parvovirose (80%) en distemper (80%). Daarnaast is 10% seronegatief en 20% seropositief voor hepatitis, 20% seropositief voor parvovirose en 20% seropositief voor hepatitis.

Ook mannelijke castraten werden getest in ons onderzoek. Bij hen zijn de meeste dieren seropositief voor hepatitis (75%), hoog seropositief voor parvovirose (100%) en seropositief voor distemper (75%).

De vrouwelijke gecastreerde honden zijn meestal seropositief (50%) of hoog seropositief (50%) voor hepatitis, hoog seropositief (100%) voor parvovirose en hoog seropositief voor distemper (83,33%).

5.7 Besluit immuunstatus in functie van leeftijd

(zie Tabel 13: Immuunstatus ifv leeftijd)

De meeste honden jonger dan 1 jaar zijn hoog seropositief voor hepatitis (50%), parvovirose (87,5%) en distemper (50%). Verder zijn 2 op 8 dieren (25%) seronegatief voor hepatitis, 1 hond seronegatief voor parvovirose (12,5%) en ook eentje voor distemper (12,5%).

Ook de meeste honden tussen 1-5 jaar oud zijn hoog seropositief voor hepatitis (57,14%), parvovirose (100%) en distemper (57,14%). Opvallend is dat er in deze categorie geen enkel dier seronegatief is voor één van de aandoeningen.

Bij de honden van 5-10j is hetzelfde patroon terug te vinden. 63,64% is hoog seropositief voor hepatitis, 72,72% voor parvo en 54,54% voor distemper. In deze leeftijdscategorie is 1 dier seronegatief voor hepatitis (9,09%).

De oudste honden zijn meestal hoog seropositief voor hepatitis (50%) en parvovirose (80%) en seropositief voor distemper (60%). Bij elke aandoening is 10% seronegatief.

5.8 Besluit immuunstatus in functie van gewicht

(Zie Tabel 14: Immuunstatus in functie van gewicht)

De meeste honden die minder dan 10kg wegen zijn hoog seropositief voor hepatitis (53,85%), parvovirose (92,31%) en distemper (53,85%). Zowel bij hepatitis (7,69%) als bij parvovirose (7,69%) is er 1 hond op 13 seronegatief.

Bij honden van 10-30 kg is dit seropositief voor hepatitis (57,14%), hoog seropositief voor parvovirose (71,43%) en ook hoog seropositief voor distemper (53,85%). Er is enkel een hond seronegatief voor distemper.

Bij de zwaarste honden zijn er 8 honden hoog seropositief voor hepatitis (66,67%), 10 hoog seropositief voor parvovirose (83,33%) en 7 seropositief voor distemper (58,33%). Voor hepatitis en parvovirose is er telkens een hond seronegatief.

2 honden zijn seropositief voor hepatitis (50%), 3 honden hoog seropositief voor parvovirose (75%) en 2 honden seropositief voor distemper (50%).

5.9 Besluit immuunstatus in functie van gebruikte vaccin

(zie Tabel 15: Immuunstatus in functie van merk vaccin)

De honden die gevaccineerd werden met een product van Nobivac® zijn in de meeste gevallen hoog seropositief voor hepatitis (66,67%) en parvovirose (80%). Bij distemper zijn er evenveel honden seropositief als honden die hoog seropositief zijn (46,67%). Bij parvovirose en distemper werd telkens 1 seronegatieve hond opgemerkt (6,67%).

Bij het merk Versican® was dit ongeveer hetzelfde. Ook voor hepatitis (50%) en parvovirose (87,5%) waren de meeste honden hoog seropositief. Voor distemper waren 5 van de 8 honden seropositief (62,5%). Bij hepatitis en parvovirose was er telkens een hond seronegatief (12,5%).

Bij de andere vaccins (Eurican® en Vanguard®) waren beide honden seropositief voor alle drie de aandoeningen.

De andere honden waarvan het gebruikte vaccin onbekend is, zijn voornamelijk seropositief voor hepatitis (45,45%), hoog seropositief voor parvovirose (81,82%) en hoog seropositief voor distemper (45,45%). Bij hepatitis zijn er 2 honden seronegatief (18,18%) en bij hepatitis is dit er eentje (9,09%).

5.10 Besluit immuunstatus in functie van tijd sinds laatste vaccin

(zie Tabel 9: Tijd sinds laatste vaccin honden bloedstalen)

Bij honden die minder dan 1 jaar geleden gevaccineerd werden, is er bij elke aandoening telkens een hond seronegatief (7,7%). Het grootste deel van de honden van deze categorie zijn hoog seropositief voor hepatitis (61,54%), parvovirose (92,31%) en voor distemper (61,54%).

De honden die gevaccineerd werden in een periode van 1-3 jaar geleden zijn voornamelijk hoog seropositief voor hepatitis (62,5%), parvovirose (81,25%) en seropositief voor distemper (56,25%).

De honden die langer dan 3 jaar geleden gevaccineerd werden zijn:

- Gelijk verdeeld over zwak seropositief, seropositief en hoog seropositief voor hepatitis (telkens 28,57%). 1 hond is seronegatief (14,29%).
- Gelijk verdeeld over seronegatief, zwak seropositief en seropositief voor parvo (telkens 14,29%) en vooral hoog seropositief (57,14%).
- Meestal seropositief voor distemper (57,14). Er is ook een hond seronegatief (14,29%).

5.11 Besluit immuunstatus in functie van ras

(zie Tabel 17: Immuunstatus ifv ras)

Beide Border Collies zijn hoog seropositief voor hepatitis en distemper. De ene is hoog seropositief voor parvo en de andere is hier seropositief voor. Geen van beide honden is seronegatief voor een aandoening.

De Bordeaux Dogs zijn hoog seropositief voor distemper. Voor hepatitis is de ene seronegatief en de andere hoog seropositief. Voor parvo is de ene hond seropositief en de andere hoog seropositief.

Beide Labradors zijn hoog seropositief voor hepatitis, parvo en distemper.

Beide Westies zijn hoog seropositief voor distemper en parvo. Voor hepatitis is de ene seronegatief en de andere hoog seropositief. Hierbij is het belangrijk om te weten dat beide honden uit hetzelfde nest komen, op dezelfde dag gevaccineerd werden en hetzelfde vaccin toegediend kregen. Ook voor parvovirose zijn beide honden hoog seropositief.

De meeste Maltezers zijn hoog seropositief voor parvo (100%), seropositief voor distemper (100%) en voor hepatitis zijn ze gelijk verspreid over licht seropositief, positief en hoog seropositief.

De meeste Golden Retrievers zijn hoog seropositief voor hepatitis (50%), hoog seropositief voor parvo (75%) en seropositief voor distemper (75). Een Golden Retriever is seronegatief voor parvovirose.

Beide teckels zijn hoog seropositief voor parvo. Voor hepatitis en distemper zijn ze verdeeld over hoog seropositief en seropositief.

De meeste CKCS zijn hoog seropositief voor hepatitis (66,67%), parvo (66,67%) en distemper (100%).

Alle canis vulgari zijn hoog seropositief voor hepatitis en parvo en seropositief voor distemper.

5.12 Enkele hypothesen

De hypothesen werden getoetst aan de hand van de chi-kwadraattoets. Aan de hand van de chi-kwadraattoets kan er tussen 2 variabelen aangetoond worden of er een verband is. Als de chi-square (getal bij 'asymptotic sign') kleiner is dan 0,05 betekent dit dat de nulhypothese (H0: er is geen verband tussen ... en ...) bij een betrouwbaarheid van 95% verworpen kan worden.

Voor dit eindwerk werkten we met een zeer beperkte steekproefgrootte wat natuurlijk een invloed heeft. We kunnen dus geen significante verbanden aantonen, maar we kunnen wel aantonen dat er een trend is tussen bepaalde factoren en de hoeveelheid antistoffen in het bloed.

In onderstaand gedeelte kunnen de waardes van de chi-square teruggevonden. Alle berekeningen die we uitgevoerd hebben via het statistisch programma SPSS kunnen teruggevonden worden in de bijlagen (zie 8 Bijlagen)

5.12.1 Resultaten chi-kwadraat test

H0: Er is geen verband tussen ... en het resultaat van de titertest.

Ha: Er is een verband tussen ... en het resultaat van de titertest.

Er werd een chi-kwadraattoets uitgevoerd met $\alpha = 5\%$, dus een betrouwbaarheid van 95%. Voor volgende variabelen bestaat (volgens de uitgevoerde testen) een verband:

- Gewicht van het dier- aantal antistoffen voor distemper
- Merk gebruikte vaccin – aantal antistoffen voor parvo
- Merk gebruikte vaccin – aantal antistoffen voor distemper
- Ras van de hond – aantal antistoffen voor distemper

Voor deze factoren kan de nulhypothese met een betrouwbaarheid van 95% verworpen wordt, waardoor de alternatieve hypothese aanvaard wordt.

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	18,018 ^a	9	,035
Likelihood Ratio	16,477	9	,058
N of Valid Cases	36		

a. 12 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,11.

Figuur 40: Voorbeeld asymptotic sign <0,05

5.13 Vergelijking bestaande studie

STUDIE 1

Op 31 oktober 2017 werd een studie gepubliceerd (Killey, et al., 2017) waarin 486 honden getest werden met de Vaccicheck® titertest in de UK. De resultaten werden verzameld dankzij de medewerking van de 'UK veterinary practice group' (Medivet, Watford, Hertfordshire) en dierenartsenpraktijk 'Park veterinary Centre' te Londen.

Met deze studie wilde men aantonen wat het nut is van het gebruik sneltest om het antistofgehalte tegen Canine Distemper Virus, Canine Adenovirus en het Canine Parvovirus type 2 aan te tonen.

Algemene gegevens van de geteste honden:

- ⇒ Waren van minder dan 1 maand tot 124 maand geleden gevaccineerd voor aanvang van de test.
- ⇒ Hadden een leeftijd van 3 maand tot 19 jaar.
- ⇒ Hadden een grote variatie aan rassen.
- ⇒ 56,6% was mannelijk.
- ⇒ 42,8% was vrouwelijk.
- ⇒ Bij 0,62% was het geslacht niet gekend.
- ⇒ 61,9% van de honden waarvan het geslacht gekend was, was gecastreerd/gesteriliseerd. 31,8% was nog intact.
- ⇒ Het grootste deel van de honden werd 42 maanden voor de test het laatst gevaccineerd.

Uit de resultaten kwamen onderstaande besluiten:

- ⇒ 93,6% van de geteste honden had voldoende antilichamen tegen hepatitis, parvo en distemper.
- ⇒ 95,7% van de geteste honden waren seropositief tegen het caniene distemper virus.
- ⇒ 97,3% van de geteste honden was seropositief tegen het caniene adenovirus.
- ⇒ 98,5% van de geteste honden was seropositief tegen het caniene parvovirus type 2.
- ⇒ Op 486 honden, testte 31 seronegatief (6,1%) tegen hepatitis en/of parvo en/of distemper. 27 van deze honden waren gezond. Volgens deze studie was dit te wijten aan een daling van het immuunsysteem ten gevolge van ziekte of door een genetische oorzaak waarbij sommige honden niet reageren op bepaalde antigenen en bijgevolg minder tot geen antistoffen aanmaken.
- ⇒ Deze groep van 31 seronegatieve honden bestond uit 16 verschillende rassen of waren kruisingen.

- ⇒ 4,3% van de geteste honden waren seronegatief voor distemper.
- ⇒ 2,6% van de honden was seronegatief voor hepatitis.
- ⇒ 1,6% van de honden was seronegatief voor parvo.
- ⇒ Slechts 0,6% van de honden was seronegatief voor zowel hepatitis, distemper als parvo. Dit gaat over slecht 3 honden van de totale geteste groep honden.
- ⇒ Op 100 honden die meer dan 3 jaar geleden getest werden, waren 93 honden seropositief voor hepatitis, distemper en parvo.

Uit de significantie bleek dat dierenartsen die om de 3 jaar hervaccineren tegen DHP zeker kunnen zijn van een goede levenslange immuniteit voor de hond. Daarnaast bleek ook dat de Vaccicheck® titertest een goede in-house testing methode is.

STUDIE 2

In de studie van (Damkjer Lund, Prior, & Madsen, sd) wordt ook gewerkt met de Vaccicheck® titertest. Tijdens de studie werden er in totaal 322 honden getest, waarvan 225 honden éénmalig getest werden, 67 honden werden 2 keer getest, 24 honden werden drie keer getest, 5 honden werden 4 keer getest en 1 hond werd 5 keer getest.

Met deze studie wou men:

- ⇒ De verdeeldheid in het gehalte antistoffen tegen hepatitis, distemper en parvo van de honden die getest werden in 'the veterinary clinic of danish raw feeding center'.
- ⇒ De relatie tussen de gehalten aan antistoffen tegen deze ziektes.
- ⇒ De beïnvloedende factoren identificeren die de kans op een insufficiënte immuniteit vergroten.

Algemene gegevens van de studie:

- ⇒ 81,5% van de honden was raszuiver (263 honden).
- ⇒ Onder 263 raszuivere honden waren er 78 verschillende rassen.
- ⇒ 18,5% van de geteste honden waren niet raszuiver (59 honden).
- ⇒ de verhouding mannelijke honden op vrouwelijke honden was ongeveer 1/1.
- ⇒ De leeftijd van de honden wanneer ze voor het eerst getest werden varieert van 2 maand oud tot 13 jaar en 4 maand oud.
- ⇒ de gemiddelde leeftijd van de honden was 2 jaar en 11 maand oud.
- ⇒ 41,7% was 1 jaar oud of jonger.

Uit deze studie kwamen onderstaande besluiten:

- ⇒ 74,8 % van de honden was seropositief voor distemper, parvo en hepatitis
- ⇒ Onder de groep die voor het eerst getest werd, was 88,5% seropositief voor parvo, 87,3% seropositief voor distemper en 85,1% was seropositief voor hepatitis.
- ⇒ Van de 81 seronegatieve dieren tegen parvo (45,7%), hepatitis(59,3%) of distemper (50,6%) waren slechts 7 honden seronegatief voor hepatitis, parvo en distemper.
- ⇒ Een zuivere rashond heeft significant minder kans op een insufficiënte immuniteit tegen hepatitis dan kruisingen (OR=0,41).
- ⇒ Een zuivere rashond heeft significant minder kans op een insufficiënte immuniteit tegen parvo dan kruisingen (OR=0,47, p=0,056).
- ⇒ Mannelijke honden hebben significant een hogere kans op een insufficiënte immuniteit tegen hepatitis in vergelijking met vrouwelijke honden (OR=1,94).
- ⇒ Honden met een lichaamsgewicht van 0 tot 10 kg hebben significant een hogere kans op een insufficiënte immuniteit tegen parvo in vergelijking met honden met een lichaamsgewicht van meer dan 30 kg (OR=3,17).
- ⇒ Honden jonger dan 1 jaar hebben significant meer kans op een insufficiënte immuniteit tegen parvo(OR=5,9) en hepatitis (OR=3,10) in vergelijking met honden ouder dan 3 jaar.
- ⇒ Honden tussen 1 en 3 jaar oud hebben meer kans op een insufficiënte immuniteit tegen distemper(OR=3,29) en hepatitis(OR =2,77).
- ⇒ Van de honden jonger dan 1 jaar , was 25,3% seronegatief voor parvo, 12,6% was seronegatief voor distemper en 20,7% was seronegatief voor hepatitis.
- ⇒ Het herhaaldelijk niet reageren op vaccinatie ligt hoger voor hepatitis in vergelijking met parvo en distemper.

De resultaten gaven aan dat 3/4 van de honden die jaarlijks gevaccineerd werden voldoende immuniteit zullen hebben tegen hepatitis, parvo en distemper. De jaarlijkse test bij de dierenarts wordt aangeraden zodat de honden niet over gevaccineerd worden. Daarnaast kunnen honden die niet reageren op vaccinaties gevonden worden door een hond te testen 1 maand na het toedienen van het vaccin.

VERGELIJKING EIGEN ONDERZOEK

Over het algemeen kunnen we zeggen dat onze steekproefgrootte veel kleiner was in vergelijking met voorgaande studies. Daarnaast is het ook zo dat wij ons onderzoek, wegens de kleine steekproefgrootte niet significant konden aantonen. Studie 2 werkt daarnaast ook met honden die meermaals getest werden. Dit hebben we niet gedaan. We hebben wel een hond getest die reeds voor onze test reeds getest was met de Vaccicheck®.

Over de algemene gegevens kunnen we volgende zaken opmerken:

- ⇒ Het aandeel mannelijke en vrouwelijke honden ligt in dezelfde lijn van bovenstaande studies.
- ⇒ Het soort vaccin werd in bovenstaande studies niet opgenomen.
- ⇒ De variatie in leeftijd van de honden is ongeveer even groot.
- ⇒ Het aantal verschillende rassen ligt bij eigen uitgevoerd onderzoek lager.
- ⇒ De variatie in tijdsduur sinds laatste vaccin ligt lager bij eigen uitgevoerd onderzoek.
- ⇒ Het aantal intacte dieren ligt in eigen onderzoek hoger dan het aantal niet intacte dieren. Bij studie 1 ligt deze verhouding omgekeerd.
- ⇒ Bovenstaande studies werken met een groep seronegatief en een groep seropositief. Wij kozen voor meerdere groepen: seronegatief, zwak seropositief, seropositief en hoog seropositief. Het is zo dat de studies de zwak positieve bij de seronegatieve dieren gerekend worden. Wij wilden hier eerder een onderscheid in maken omdat zwak seropositief in sommige gevallen ook nog voldoende is.

Over de besluiten in vergelijking met studie 1 kunnen we volgende zaken opmerken:

- ⇒ Het totaalpercentage seropositieve dieren ligt bij eigen onderzoek lager dan bij studie 1 (83,34% tov 93,6%).
- ⇒ Het percentage seropositieve dieren voor hepatitis ligt lager bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (91,68% tov 97,3%).
- ⇒ Het percentage seropositieve dieren voor parvo ligt lager bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (94,45% tov 98,5%).
- ⇒ Het percentage seropositieve dieren voor distemper ligt lager bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (94,43% tov 95,7%).
- ⇒ Het percentage seronegatieve dieren ligt hoger bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (16,67% tov 6,1%).
- ⇒ Het percentage seronegatieve dieren voor hepatitis ligt bij eigen onderzoek hoger dan bij studie 1 (8,34% tov 2,6%).
- ⇒ Het percentage seronegatieve dieren voor parvo ligt bij eigen onderzoek hoger dan bij studie 1 (5,55% tov 1,6%).
- ⇒ Het percentage seronegatieve dieren voor distemper ligt hoger bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (5,55% tov 4,3%).

Over de besluiten in vergelijking met studie 2 kunnen we volgende zaken opmerken:

- ⇒ Het totaalpercentage seropositieve dieren ligt bij eigen onderzoek hoger dan bij studie 1 (83,34% tov 74,8%).
- ⇒ Het percentage seropositieve dieren voor hepatitis ligt hoger bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (91,68% tov 85,1%%).
- ⇒ Het percentage seropositieve dieren voor parvo ligt hoger bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (94,45% tov 88,5%).
- ⇒ Het percentage seropositieve dieren voor distemper ligt hoger bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (94,43% tov 87,3%).
- ⇒ Het percentage seronegatieve dieren ligt lager bij eigen onderzoek dan bij studie 1 (16,67% tov 25,15%).
- ⇒ Wij vonden een significant verband tussen:
 - Gewicht en het aantal antistoffen voor distemper
 - Soort vaccin en het aantal antistoffen voor parvo
 - Soort vaccin en het aantal antistoffen voor distemper
 - Ras en het aantal antistoffen voor distemper

In deze studie werd er een vergelijkbaar verband gevonden tussen gewicht en aantal antistoffen voor parvo en een verband tussen ras en aantal antistoffen voor hepatitis. De verbanden die gevonden werden waren gedetailleerder uitgewerkt in vergelijking met de verbanden die we vonden tijdens het eigen onderzoek. Algemeen kunnen we besluiten dat zowel bij studie 2 als bij eigen onderzoek een verband gevonden werd tussen ras en aantal antistoffen en tussen gewicht en aantal antistoffen. Welke verband er gevonden werd en voor welke antistoffen (parvo, distemper of hepatitis) is ongekend/verschillend.

5.14 Eigen mening

Na het herhaaldelijk werken met de Vaccicheck® titertest zijn we beiden tot het besluit gekomen dat we voorstanders voor het gebruik van de Vaccicheck® in een dierenartsenpraktijk zijn.

De test is eenvoudig in gebruik en geeft in slechts 21 minuten met 1 druppel bloed een overzicht van de antistofgehaltenes tegen parvo, hepatitis en distemper. Dankzij de test hoeven de dieren niet onnodig gevaccineerd te worden en kan hun immuniteit tegen distemper, parvo en hepatitis persoonlijk opgevolgd worden.

Het grootste nadeel voor ons is dan weer het subjectief aflezen van de resultaten. Het is zo dat je met een kleurenschaal werkt en die zorgt af en toe wel voor wat twijfel of discussie. Daarnaast is het ook zo dat het prijskaartje kan oplopen (bloedname, test en eventueel nog vaccineren). De test kan ook vals positieve resultaten geven waardoor de hond onbeschermd rond loopt en kans heeft om besmet te worden. Ook is het zo dat een prik voor bloedname invasiever is dan de subcutane injectie voor vaccinatie. Een nadeel verbonden aan de test bestaat eruit dat de kans er is dat mensen met een hoog seropositief dier pas na 3 jaar terug gaan naar de dierenarts waardoor het dier zijn jaarlijkse controle en vaccins niet meer krijgt.

Ondanks de nadelen zijn wij van mening dat deze niet opwegen tegen de voordelen.

5.15 Algemeen besluit

Van de 36 honden die gecontroleerd werden, waren 6 honden (of 17%) seronegatief voor een van de drie aandoeningen. Slechts 2 honden (5%) waren licht seropositief. De helft van de honden (18 dieren) bestond waren seropositief en de overige 10 honden (28%) scoorden seropositief voor alle drie de aandoeningen.

Bij de seronegatieve honden waren er voornamelijk mannelijke dieren. Slechts 1 van de 6 dieren was vrouwelijk. Ook konden we concluderen dat vooral dieren jonger dan 1 jaar (die enkel hun puppyvaccins kregen) seronegatief waren. Wat bizar is, was dat 3 van de dieren slechts minder dan een jaar geleden gevaccineerd werden. Van de 7 honden die al drie jaar of langer niet meer gevaccineerd waren, scoorden 2 dieren seronegatief.

Ook bij de seropositieve dieren werd een onderscheid gemaakt tussen deze verschillende factoren. Bij de seropositieve dieren behoren, voor deze bespreking alle dieren met een score van 2 of hoger. Van de 16 intacte mannen zijn er 11 seropositief, bij de intacte vrouwen zijn dit er 9 van de 10. Slechts 10% van de vrouwen is dus seronegatief. Alle gecastreerde mannelijke honden en vrouwelijke honden seropositief. In deze proef werden 8 honden getest die jonger waren dan een jaar. Hiervan zijn slechts 5 honden seropositief. Bij de leeftijdsgroep van 1-5 jaar zijn alle honden seropositief. Als we dan kijken naar het merk van de vaccins zien we dat er slechts 1 hond die een vaccin kreeg van Nobivac® niet seropositief is. Bij Versican® zijn dit er 3. Natuurlijk heeft ook de tijd sinds het laatste vaccin een invloed op de hoeveelheid antistoffen in het bloed. Van de 7 honden die al drie jaar niet meer gevaccineerd zijn, zijn er slechts 2 niet seropositief. Bij de honden die minder dan een jaar geleden gevaccineerd werden zijn dit er slechts 10 van de 13.

Bij deze resultaten moeten we wel in ons achterhoofd houden dat er honden gebruikt werden die nog niet hun volledige basisvaccin toegediend kregen.

Algemeen kunnen we concluderen dat de resultaten van ons onderzoek niet gebruikt kunnen worden om echte besluiten te trekken. Hiervoor is onze steekproefgrootte van 36 dieren te klein. Het was echter niet financieel en praktisch mogelijk om meer testen uit te voeren. Na het uitvoeren van een chi-kwadraattoetsen konden we wel concluderen dat er, bij het gebruik van onze gegevens, een verband is tussen:

- Gewicht van het dier- aantal antistoffen voor distemper
- Merk gebruikte vaccin – aantal antistoffen voor parvo
- Merk gebruikte vaccin – aantal antistoffen voor distemper
- Ras van de hond – aantal antistoffen voor distemper

Ook hierop heeft onze kleine steekproefgrootte een invloed, maar we kunnen toch spreken van een zekere trend tussen deze factoren.

Wij vonden dit eindwerk heel leerzaam. Het is zeker handig om te weten hoe het immuunstelsel nu juist werkt, hoe de vaccinatierichtlijnen in elkaar zitten en om te weten dat er een mogelijkheid is om een hond op maat te vaccineren met behulp van een titertest.

6 Bio-ethische reflectie

Wat is duurzame ontwikkeling?

Duurzame ontwikkeling is een ontwikkeling die tegemoetkomt aan de noden van het heden zonder de behoeftevoorziening van de toekomstige generaties in het gedrang te brengen. Duurzame ontwikkeling wordt opgedeeld in de 3 P's : people (mensen), planet (planeet) en profit (winst). Deze staan voor het sociale, ecologische en economische aspect van duurzame ontwikkeling.

Evaluatie eigen onderwerp

Sociaal

Een bezoek aan de dierenarts zorgt bij veel honden voor stress. Stress betekent een lager welzijn van het dier. De Vaccicheck® test zou er voor zorgen dat de dieren minder regelmatig een bezoekje moeten brengen aan de dierenarts wat ideaal is voor dieren en baasjes die hierbij veel stress hebben. Daarnaast brengt dit ook een nadeel mee voor het dier omdat deze zo niet meer zo vaak op controle gaan en ziekte of ongemak dus mogelijks minder snel opgemerkt wordt.

Binnen de asielen kunnen deze testen zorgen voor een verlaagde ziekte uitbraak omdat op deze manier de vaccinatiestatus van de dieren achterhaald kan worden.

Voor puppy's kan deze titertest een voordeel betekenen. Indien de pup het boostervaccin toegediend krijgt wanneer dit nodig is, zal er dus in sommige gevallen minder risico zijn op een periode waarin het dier niet meer beschermd wordt door het primovaccin. Daarnaast zal zowel puppy als volwassen hond geen last hebben van de bijwerking van het vaccin als deze niet gegeven wordt omdat het niet nodig is.

Ook het baasje heeft het gevoel dat zijn dier beter individueel opgevolgd wordt. Door de dieren persoonlijk te testen, krijgen de baasjes het gevoel van een persoonlijke aanpak en dit is voordelig voor de vertrouwensband tussen dierenarts en baasje.

Een nadeel is echter dat een bloedname (welke essentieel is voor het gebruik van de Vaccicheck) voor meer stress zorgt dan een vaccinatie omdat een bloedname vaak ook meer tijd in beslag neemt. Ook is de betrouwbaarheid van de test niet 100% wat kan zorgen voor foute resultaten en de reputatie van de dierenarts kan schaden. Ook zullen sommige baasjes zich misschien minder zeker voelen omdat ze schrik hebben dat hun dier misschien een periode onbeschermd zal rondlopen.

Ecologisch

Productie van vaccins gaat gepaard met uitstoot van schadelijke stoffen en veel milieubelastend materiaal (glas, plastic, aluminium...) Ook zijn vaccins vaak schadelijk voor de natuur.

De Vaccicheck zorgt ook voor een productie van veel afval (dopjes , aluminium,...) maar de productie van 1 testkit kan 12 honden testen terwijl je met 1 vaccin vaak maar 1 dier kan vaccineren. Voor het gebruik van deze test is er ook nog materiaal nodig voor bloedname, een diepvries (indien de test niet meteen met volbloed uitgevoerd wordt),... Maar om te vaccineren is ook heel wat materiaal nodig.

Economisch

Het gebruik van de Vaccicheck® kan voor de dierenarts een extra inkomstenbron betekenen, zeker wanneer deze testen door de assistent uitgevoerd worden. Ook voor de eigenaar kunnen op deze manier de kosten bespaard worden door onnodig vaccineren. Omdat de dieren dan vaak niet meer jaarlijks langs komen betekent dit ook een verlies van inkomsten aan de jaarlijkse controle voor de dierenarts.

De dierenarts moet voor deze test vaak extra kosten maken. De aankoop van een diepvries en een centrifuge (indien er niet met volbloed gewerkt wordt) is belangrijk. Ook wanneer de eigenaren van de dieren geen interesse hebben in de test kan de dierenarts deze kosten niet terug verdienen en er geen winst uit halen.

Het uitvoeren van de test brengt extra werk met zich mee want deze zorgt voor een hogere loonkost (is terug uit de verkoop te halen, meer winst dan wanneer de testen uitgevoerd worden door een extern labo).

Het grootste nadeel zijn de kosten wanneer het dier na een test toch gevaccineerd moet worden. In deze situatie betaalt het baasje naast de kosten van de consultatie en de test ook de kosten van de vaccinatie wat de totale kosten in dit geval vaak doen oplopen.

7 Publiceerbaar artikel

Vaccineren op maat van uw hond?

Momenteel geven de richtlijnen van World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), een groep dierenartsen die zich toespitst op het opbouwen van richtlijnen omtrent het vaccineren van huisdieren, aan dat de hond slechts driejaarlijks gevaccineerd moet worden tegen de hondenziekte (distemper), leverziekte (hepatitis) en de kattenziekte (parvo). Toch zijn er honden die in deze tussenperiode van 3 jaar nog geïnfecteerd kunnen worden én honden die na 3 jaar nog steeds hoog seropositief zijn en waarvoor hervaccinatie dus eigenlijk onnodig is.

Richtlijnen vaccinatieschema

Tot voor kort raadden de dierenartsen de mensen aan om hun honden jaarlijks te vaccineren. Dit zowel om de hond te beschermen tegen hondenziekte, hepatitis en kattenziekte (de 'core' vaccins) als voor rattenziekte en eventueel ook kennelhoest en hondsdolheid (de 'non-core' vaccins). Onderzoek heeft nu aangetoond dat de werkingsduur van de zogenaamde 'core' vaccins, nadat uw hond als pup voldoende gevaccineerd werd, langer zou zijn dan een jaar. In 2016 zijn de richtlijnen van WSAVA dan ook overgegaan van jaarlijks vaccineren tot driejaarlijks vaccineren. Let op, dit geldt niet voor de vaccins tegen rattenziekte, kennelhoest en hondsdolheid. Onderstaande tabel geeft de actuele richtlijnen omtrent vaccineren weer.

Weeks of age	Core vaccines	Non-core vaccines	Travelling pet
3 to 4		CPI/Bb intranasal	
8	DHP	<i>Leptospira</i>	
12	DHP	<i>Leptospira</i>	Rabies
16 or older	DHP		
26	DHP		
52	DHP if not given at 26 weeks	<i>Leptospira</i> CPI/Bb intranasal	Rabies

Figuur 41: D(istemper) P(arvo) H(epatitis)

Informatie vaccineerbare aandoeningen

Kattenziekte (of parvo) wordt veroorzaakt door het virus Parvo dat zich verspreidt via de ontlasting. De ziekte wordt gekenmerkt door hoge koorts (>39°C), braken en bloederige diarree. Vooral voor jonge honden is deze ziekte levensbedreigend. Hondenziekte, veroorzaakt door het Canine Distemper Virus, is een infectieuze ziekte die ontstekingen kan geven van de neus, luchtwegen, longen, maag en darmen. In sommige gevallen kan het hersenvliesontstekingen bij de hond veroorzaken en het zenuwstelsel van pups en honden aantasten. De ziekte is zeer besmettelijk en heeft meestal een dodelijke afloop. Infectieuze hepatitis (of leverontsteking) tast vooral de lever aan. Voornamelijk honden die jonger zijn dan 1 jaar zijn gevoelig aan de infectie. De aandoening veroorzaakt zenuwstoornissen, braken, diarree, geelzucht, shock en uiteindelijk de dood.

Waarom titeren?

Tegenwoordig is het mogelijk om uw hond individueel te testen op het aantal antistoffen voor hepatitis, distemper en parvo. Zo bent u zeker of uw hond voldoende beschermd is en wordt de hond niet onnodig gevaccineerd. Waar veel mensen niet bij stilstaan, is dat ook vaccineren bijwerkingen kan uitlokken. Grootschalig onderzoek in 2005 toonde aan dat van de 10.000 honden die getest werden, 38 dieren binnen de drie dagen na vaccinatie bijwerkingen vertoonden. De bijwerkingen kunnen ingedeeld worden van mild (zoals lusteloosheid, koorts, verminderde eetlust), tot ernstig (zoals auto-immune aandoeningen, anafylactische shock en auto-immune aandoeningen) en zelfs fataal.

Bij het titeren worden de concentraties aan antistoffen tegen virussen die distemper, hepatitis en parvo bij de hond veroorzaken, in een serumstaal gemeten. Antistoffen (=antilichamen, immunoglobulines) zijn eiwitten die een belangrijke functie hebben binnen de immuniteit en die in ons lichaam aangemaakt worden als antwoord op de aanwezigheid van ziekteverwekkers. Een negatieve test toont aan dat een hond weinig of geen antilichamen bezit en dat vaccineren aanbevolen is. Deze honden worden seronegatief genoemd. Als een hond seropositief is, heeft deze voldoende antistoffen en is vaccineren niet noodzakelijk. De test die gebruikt werd om ons onderzoek uit te voeren is de Immunocomb® Canine Vaccicheck. Met één zo'n titertest kunnen 12 honden met slechts één druppel bloed getest worden op de aanwezigheid van antistoffen voor hepatitis, parvo en distemper. Al na 21 minuten is de uitslag bekend en kan besloten worden of de hond al dan niet gevaccineerd dient te worden.

Onderzoek naar antistoffen bij honden met behulp van de Vaccicheck®

Bij ons onderzoek werden 36 willekeurige honden vanuit vijf verschillende dierenartsenpraktijken onderzocht met behulp van de titertest. Onze proefopzet was om na te gaan of het wel veilig is om honden slechts driejaarlijks te vaccineren. Bij deze resultaten werden ook de onderlinge verschillen op basis van ras, geslacht, leeftijd, gewicht, soort vaccin, ... onder de loep genomen. De resultaten van het onderzoek worden opgedeeld in 4 verschillende groepen, namelijk seronegatief (score 0 tot 1), licht seropositief (score 2), seropositief (score 3-5) en hoog seropositief (score ≥ 5). Aangezien een vaccin bijdraagt aan de immunisatie voor zowel distemper, hepatitis als parvo geldt telkens de laagste score.

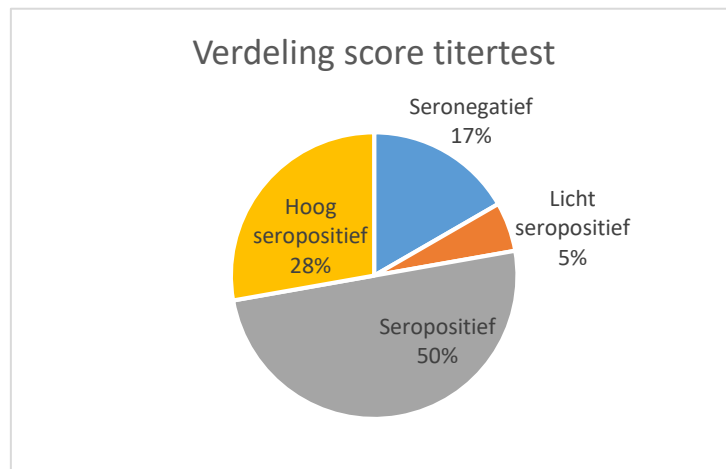
- Honden die seronegatief zijn voor minstens een aandoening, hebben geen antistoffen en dienen opnieuw gevaccineerd te worden
- Honden die zwak seropositief zijn dienen (afhankelijk van de infectiedruk) ofwel opnieuw getest te worden na 1-2 jaar of worden opnieuw gevaccineerd
- Honden die seropositief zijn worden na 3 jaar opnieuw getest met behulp van een titertest
- Honden die hoog seropositief zijn moeten maar na minimum 3 jaar opnieuw getest te worden

GESLACHT				LEEFTIJD			
M intact	V intact	Mannelijk C	Vrouwelijk C	<1 jaar	1-5 jaar	5-10 jaar	>10 jaar
16	10	4	6	8	7	11	10

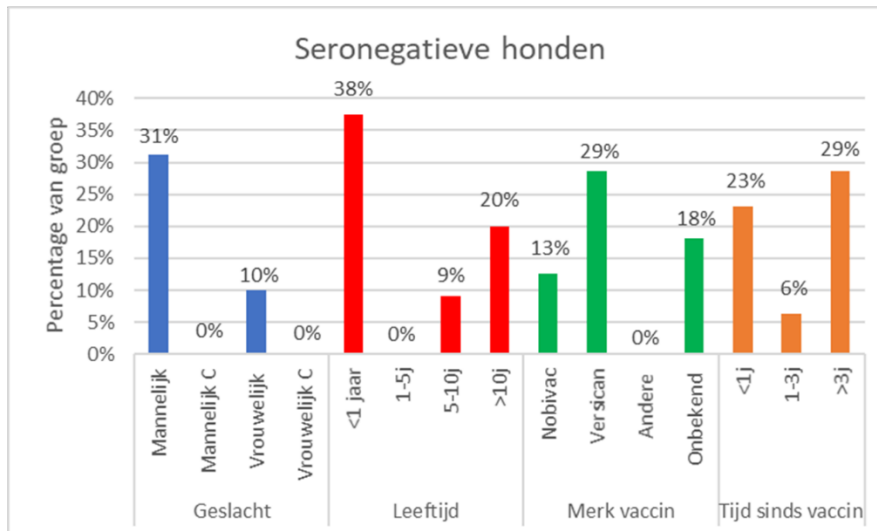
TIJD SINDE LAATSTE VACCIN			SOORT VACCIN			
Minder dan 1 jaar	1-3 jaar	Meer dan 3 jaar	Nobivac	Versican	Andere	Onbekend
13	16	7	15	8	2	11

Tabel 21: Algemene gegevens dieren

Van de 36 honden die gecontroleerd werden, waren 6 honden (of 17%) seronegatief voor een van de drie aandoeningen. Slechts 2 honden (5%) waren licht seropositief. De helft van de honden (18 dieren) bestond waren seropositief en de overige 10 honden (28%) scoorden seropositief voor alle drie de aandoeningen.



Bij de seronegatieve honden waren er voornamelijk mannelijke dieren. Slechts 10% van de dieren was vrouwelijk. Ook konden we concluderen dat vooral dieren jonger dan 1 jaar (die enkel hun puppyvaccins kregen) seronegatief waren. Wat bizar is, was dat van de dieren die slechts minder dan een jaar geleden gevaccineerd werden 23% seronegatief is. Van de 7 honden die al drie jaar of langer niet meer gevaccineerd waren, scoorden 2 dieren seronegatief.



Grafiek 2: Seronegatieve honden

Conclusie onderzoek

Ons onderzoek toonde aan dat er een zeker verband is tussen:

- het gewicht van het dier en het aantal stoffen voor de hondenziekte
- het merk van het gebruikte vaccin en het aantal antistoffen voor de kattenziekte
- het merk van het gebruikte vaccin en het aantal antistoffen voor de hondenziekte
- het ras van de hond en het aantal antistoffen voor distemper

We kunnen concluderen dat titeren een verstandige keuze is om vaccinatie op maat van uw hond mogelijk te maken in plaats van (vaak onnodig) jaarlijks of driejaarlijks vaccineren. Meer en meer dierenartsen hebben nu een in-house titertest, maar ook professionele laboratoria kunnen het onderzoek naar antistoffen uitvoeren. Voor meer informatie omtrent vaccineren en titeren kan u steeds bij de dierenarts in uw buurt terecht.

8 Bijlagen

8.1.1 Gewicht van de hond en resultaat

H₀: Er is een verband tussen het gewicht van de hond en het resultaat van de test

H_a: Er is geen verband tussen het gewicht van de hond en het resultaat van de test.

8.1.1.1 Distemper

gewicht * uitkomst Crosstabulation

		uitkomst				Total
		>=S5	S0-S1	S2	S3-S5	
gewicht <10 kg	Count	7	0	0	6	13
	Expected Count	6,1	,7	,4	5,8	13,0
>30 kg	Count	5	0	0	7	12
	Expected Count	5,7	,7	,3	5,3	12,0
10-30k	Count	5	1	0	1	7
	Expected Count	3,3	,4	,2	3,1	7,0
Geen	Count	0	1	1	2	4
	Expected Count	1,9	,2	,1	1,8	4,0
Total	Count	17	2	1	16	36
	Expected Count	17,0	2,0	1,0	16,0	36,0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	18,018 ^a	9	,035
Likelihood Ratio	16,477	9	,058
N of Valid Cases	36		

a. 12 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,11.

Symmetric Measures

		Value	Approximate Significance
Nominal by Nominal	Phi	,707	,035
	Cramer's V	,408	,035
	Contingency Coefficient	,578	,035
N of Valid Cases		36	

⇒ We aanvaarden de nulhypothese. Er is een verband

8.1.2 Soort vaccin en resultaat

H₀: Er is een verband tussen het soort vaccin en het resultaat van de test

H_a: Er is geen verband tussen het soort vaccin en het resultaat van de test.

8.1.2.1 Parvo

vaccin * uitkomst Crosstabulation

		uitkomst				Total
		>=S5	S0-S1	S2	S3-S5	
vaccin andere	Count	2	0	0	0	2
	Expected Count	1,7	,1	,1	,2	2,0
Geen	Count	9	0	1	1	11
	Expected Count	9,2	,6	,3	,9	11,0
nobi	Count	12	0	0	2	14
	Expected Count	11,7	,8	,4	1,2	14,0
Nobi	Count	0	1	0	0	1
	Expected Count	,8	,1	0,0	,1	1,0
versi	Count	7	1	0	0	8
	Expected Count	6,7	,4	,2	,7	8,0
Total	Count	30	2	1	3	36
	Expected Count	30,0	2,0	1,0	3,0	36,0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	22,971 ^a	12	,028
Likelihood Ratio	13,862	12	,310
N of Valid Cases	36		

a. 17 cells (85,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,03.

Symmetric Measures

		Value	Approximate Significance
Nominal by Nominal	Phi	,799	,028
	Cramer's V	,461	,028
	Contingency Coefficient	,624	,028
N of Valid Cases		36	

⇒ We aanvaarden de nulhypothese. Er is een verband

8.1.2.2 Distemper

vaccin * uitkomst Crosstabulation

		uitkomst				Total
		>=S5	S0-S1	S2	S3-S5	
vaccin	andere	Count	2	0	0	2
		Expected Count	,9	,1	,1	,9
	Geen	Count	5	1	1	4
		Expected Count	5,2	,6	,3	4,9
	nobi	Count	7	0	0	7
		Expected Count	6,6	,8	,4	6,2
	Nobi	Count	0	1	0	0
		Expected Count	,5	,1	,0	,4
	versi	Count	3	0	0	5
		Expected Count	3,8	,4	,2	3,6
Total		Count	17	2	1	16
		Expected Count	17,0	2,0	1,0	16,0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	23,930 ^a	12	,021
Likelihood Ratio	14,627	12	,262
N of Valid Cases	36		

a. 17 cells (85,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,03.

Symmetric Measures

		Value	Approximate Significance
Nominal by Nominal	Phi	,815	,021
	Cramer's V	,471	,021
	Contingency Coefficient	,632	,021
N of Valid Cases		36	

⇒ We aanvaarden de nulhypothese. Er is een verband.

8.1.3 Ras en resultaat

H₀: Er is een verband tussen het ras van de hond en het resultaat van de test

H_a: Er is geen verband tussen het ras van de hond en het resultaat van de test.

8.1.3.1 Distemper

ras * uitkomst Crosstabulation

		uitkomst		Total	
		>=S5	S3-S5		
ras	bordeaux dog	Count	0	2	2
		Expected Count	1,0	1,0	2,0
	border collie	Count	2	0	2
		Expected Count	1,0	1,0	2,0
	CKCS	Count	3	0	3
		Expected Count	1,4	1,6	3,0
	CV	Count	0	3	3
		Expected Count	1,4	1,6	3,0
	golden retr	Count	1	3	4
		Expected Count	1,9	2,1	4,0
	labrador	Count	2	0	2
		Expected Count	1,0	1,0	2,0
	maltezer	Count	0	3	3
		Expected Count	1,4	1,6	3,0
	teckel	Count	1	1	2
		Expected Count	1,0	1,0	2,0
	westie	Count	2	0	2
		Expected Count	1,0	1,0	2,0
Total		Count	11	12	23
		Expected Count	11,0	12,0	23,0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)
Pearson Chi-Square	17,991 ^a	8	,021
Likelihood Ratio	24,570	8	,002
N of Valid Cases	23		

a. 18 cells (100,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,96.

Symmetric Measures

		Value	Approximate Significance
Nominal by Nominal	Phi	,884	,021
	Cramer's V	,884	,021
	Contingency Coefficient	,662	,021
N of Valid Cases		23	

⇒ We aanvaarden de nulhypothese. Er is een verband.

Lijst met gebruikte afkortingen

CDV	Canine Distemper Virus
RNA	Ribonucleïnezuur
CAV-1	Canine Adenovirus type 1
CAV-2	Canine Adenovirus type 2
PCR	Polymerase Chain Reaction
CPV-2	Canine Parvovirus type 2
DOI	Duration of Immunity
MLV	Modified Life virus
M	Mannelijk
V	Vrouwelijk
MC	Mannelijk gecastreerd
VC	Vrouwelijk gecastreerd
CKCS	Cavalier king charles spaniël
IVM	In vergelijking met
IM	Intramusculair
IV	Intraveneus
SC	Subcutaan
MO	Micro-organisme

Lijst met figuren

Figuur 1: Core en non-core vaccins.....	7
Figuur 2: Dermatitis	9
Figuur 3: Oogvloeï	9
Figuur 4: Neusvloeï	9
Figuur 5: Hypermetrie.....	10
Figuur 6: Paraparese.....	10
Figuur 7 Hypermetrie.....	10
Figuur 8: hypoplasie van het email	10
Figuur 9: hyperkeratose van de voetkussens	10
Figuur 10: Corneadystrofie	13
Figuur 11: Lumen dunne darm	15
Figuur 12: Bleke haarden myocard.....	16
Figuur 13: Fysische barrières - mucosa.....	17
Figuur 14: Ontstekingsreactie.....	18
Figuur 15: Membraan Aanval Complex	18
Figuur 16: Neutrofiel	19
Figuur 17: Macrofaag	19
Figuur 18: Natural Killer cellen.....	19
Figuur 19: Immunrespons.....	22
Figuur 20: voorstelling antilichaam	23
Figuur 21: Logo VGG	28
Figuur 22: Directe ELISA.....	33
Figuur 23: directe ELISA	33
Figuur 24: indirecte ELISA.....	33
Figuur 25: sandwich ELISA	33
Figuur 26: blocking ELISA	34
Figuur 27: Sensitiviteit, specificiteit en nauwkeurigheid Vaccicheck®.....	37
Figuur 28: Werking Vaccicheck®.....	37
Figuur 29: Inhoud testkit.....	38
Figuur 30: Stap 3 en 4.....	39
Figuur 31: stap 6	39
Figuur 32: Stap 9.....	40
Figuur 33: Eindresultaat TITERchek®.....	40
Figuur 34: Inhoud testkit.....	51
Figuur 35: Stap 1	52
Figuur 36: Stap 3.....	52
Figuur 37: Werkwijze	53
Figuur 38: Uitleg stippen op de kam	54
Figuur 39: Resultaat aflezen mbv CombScale	54
Figuur 40: Voorbeeld asymptotic sign <0,05.....	81
Figuur 41: D(istemper) P(arvo) H(epatitis).....	91

Lijst met tabellen

Tabel 1: Basisvaccinatie en booster pup	29
Tabel 2: Vaccinatieschema volwassen hond	30
Tabel 3: richtlijnen asielhonden	31
Tabel 4: Mogelijke bijwerkingen vaccinatie	32
Tabel 5: Inventarisatie bloedstalen	56
Tabel 6: Resultaten Vaccicheck	58
Tabel 7: Geslacht en leeftijd honden bloedstalen	60
Tabel 8: Gewicht en soort vaccin honden bloedstalen	61
Tabel 9: Tijd sinds laatste vaccin honden bloedstalen	61
Tabel 10: Rassen die meerdere keren voorkwamen.....	61
Tabel 11: Verdeling score titertest	62
Tabel 12: Immuunstatus ifv geslacht	63
Tabel 13: Immuunstatus ifv leeftijd	64
Tabel 14: Immuunstatus in functie van gewicht	65
Tabel 15: Immuunstatus in functie van merk vaccin	66
Tabel 16: Score titertest ifv tijd sinds laatste vaccin.....	67
Tabel 17: Immuunstatus ifv ras.....	68
Tabel 18: Betekenis resultaat en adviezen	70
Tabel 19: Honden met score 0-1	72
Tabel 20: Honden met score S2	73
Tabel 21: Algemene gegevens dieren	93

Lijst met grafieken

Grafiek 1: Verdeling score titertest.....	93
Grafiek 2: Seronegatieve honden	94

Bronvermelding

- Afbeelding Antilichaam*. (sd). Opgehaald van uzbrussel.be:
<http://www.uzbrussel.be/u/view/nl/1995388-Multipel+Myeloom.html>
- BCFI vet. (2016, januari 15). *Actualisatie van de WSAVA-richtlijnen voor de vaccinatie van honden en katten*. Opgehaald van vetcompendium.be:
<https://www.vetcompendium.be/nl/node/3631>
- BCFI vet. (sd). *Biologisch ontwikkelde vaccins in de diergeneeskunde*. Opgehaald van vetcompendium.com: <https://www.vetcompendium.be/sites/default/files/04fvn1a.pdf>
- Becker. (2013, juli 3). *The Outdated Vet Vaccination Advice That Can Harm Your Pet*. Opgehaald van healthypets.mercola.com:
<https://healthypets.mercola.com/sites/healthypets/archive/2013/07/03/new-pet-vaccination-protocol.aspx>
- Beernaert, L. (2016-2017). *Veterinair instrumentarium*. Vives campus Roeselare.
- Biogal galed laboratories. (2014, februari 23). *Infectious hepatitis, parvovirus & distemper IGg antibody test kit*. Opgehaald van nmlhealth.com:
https://www.nmlhealth.com/sites/default/files/pictures/algemeen/bijsluiter_canine.pdf
- Biogal Galed labs. (2009, oktober). *Material safety data sheet*. Opgehaald van biogal.co.il:
file:///C:/Users/dansc/AppData/Local/Packages/Microsoft.MicrosoftEdge_8wekyb3d8b bwe/TempState/Downloads/sdscv.1009.pdf
- Biogal Galed labs. (2016, oktober 10). *Infectious hepatitis, parvovirus & distemper IgG antibody test kit: instruction manual*. Opgehaald van biogal.co.il:
file:///C:/Users/dansc/AppData/Local/Packages/Microsoft.MicrosoftEdge_8wekyb3d8b bwe/TempState/Downloads/CVV%20Pipette%20.pdf
- Biogal Galed labs. (2016). *Product information*. Opgehaald van biogal.co.il:
file:///C:/Users/dansc/AppData/Local/Packages/Microsoft.MicrosoftEdge_8wekyb3d8b bwe/TempState/Downloads/PI%20CVV-31_03_2016.pdf
- Biogal Galed labs. (2017, juni 27). *Immunocomb canine vaccicheck: instruction manual*. Opgehaald van modernveterinarytherapeutics.com:
<http://www.modernveterinarytherapeutics.com/canine%20vaccicheck.pdf>
- Biomedica. (2017). *Short instructions canine vaccicheck: proceed at room temperature*. Opgehaald van ftp.bmgrp.at:
<ftp://ftp.bmgrp.at/Austria/VET/Short%20IFU%20%20CANINE%20%20VacciCheck%20engl.pdf>
- Burns, K. (2016, juni 15). *To titer or to revaccinate*. Opgehaald van avma.org:
<https://www.avma.org/News/JAVMANews/Pages/160701a.aspx>
- Considerations for the Titer Testing of Core Canine Vaccines*. (sd). Opgehaald van vaccicheck.com: <http://vaccicheck.com/considerations/>
- Creevy, K. E. (2016). *Overview of infectious canine hepatitis*. Opgehaald van msdvetmanual.com: <http://www.msdvetmanual.com/generalized-conditions/infectious-canine-hepatitis/overview-of-infectious-canine-hepatitis>
- Crreevy, K. E. (2016). *Overview of canine distemper*. Opgehaald van msdvetmanual.com: <http://www.msdvetmanual.com/generalized-conditions/canine-distemper/overview-of-canine-distemper>
- Damkjer Lund, J., Prior, M., & Madsen, L. (sd). *Testing dogs for immunity against Canine Parvovirus, Canine Distemper Virus and Infectious Canine Hepatitis*. Opgehaald van vetsurgeon.org: <https://www.vetsurgeon.org/w/veterinary-research/testing-dogs-for-immunity-against-canine-parvovirus-canine-distemper-virus-and-infectious-canine-hepatitis.aspx>
- Day, M. J. (2014). *canine vaccination guideline*. Opgehaald van vaccicheck.com: <http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2012/04/WSAVA2014.pdf>
- Day, M. J. (2017, maart). *Small animal vaccination: a practical guide for vets in the UK*. Opgehaald van wsava.org:
<http://www.wsava.org/sites/default/files/Small%20animal%20vaccination->

- %20a%20practical%20guide%20for%20vets%20in%20the%20UK.%20Michael%20J%20Day.pdf
- Day, M. J. (sd). *What we need to know about vaccination and titre testing*. Opgehaald van vaccicheck.com: <http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2014/02/Michael-Day.pdf>
- Day, M., Horzinek, M., Schultz, R., & Squires, R. (2015). *World small animal veterinary association 2015 vaccination guidelines for the owners and breeders of dogs and cats*. Opgehaald van wsava.org: <https://www.wsava.org/sites/default/files/WSAVA%20Owner%20Breeder%20Guidelines%202014%20October%202015%20FINAL.pdf>
- Day, M., Horzinek, M., Schultz, R., & Squires, R. (2016, Januari). *Guidelines for the vaccination of dogs and cats*. Opgehaald van wsava.org: <https://www.wsava.org/sites/default/files/WSAVA%20Vaccination%20Guidelines%202015%20Full%20Version.pdf>
- Declercq, A., Maes, S., & Chiers, K. (2011, augustus). *Canien distempervirus*. Opgehaald van vdt.ugent.be: <http://vdt.ugent.be/sites/default/files/art80303.pdf>
- D'hondt, M. (2016-2017). *Dierenartsassistentietechnieken*. Vives Campus Roeselare. *Dierencafé aflevering 19: Titeren/ Lifestyle for pets*. (sd). Opgehaald van lifestyleforpets.tv: <https://www.lifestyleforpets.tv/watch/1357>
- disease transmission*. (2018). Opgehaald van jourdantonisd.net: http://www.jourdantonisd.net/pages/uploaded_files/ch40.pdf
- disorders of the immune system*. (2018). Opgehaald van jourdantonisd.net: http://www.jourdantonisd.net/pages/uploaded_files/ch40.pdf
- Ernest, W. (2017). *cherry eye in dogs*. Opgehaald van vcahospitals.com: <https://vcahospitals.com/know-your-pet/cherry-eye-in-dogs>
- Fagocytose*. (2017, januari 17). Opgehaald van ensie.nl: <https://www.ensie.nl/sanquin-de-praktijk/fagocytose>
- Ford, R. B. (2013, mei-juni). *Vital vaccination series: antibody titers versus vaccination*. Opgehaald van vaccicheck.com: <http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2012/04/vital-vaccinations-LK.pdf>
- Genscript. (2017). *Recombinant vaccine*. Opgehaald van genscript.com: <https://www.genscript.com/recombinant-vaccine.html>
- immune response*. (2018). Opgehaald van jourdantonisd.net: http://www.jourdantonisd.net/pages/uploaded_files/ch40.pdf
- Jergler, D. (2015, april 2). *Find Out Why Once Every Three Years is the Trend in Vaccination*. Opgehaald van vaccicheck.com: <http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2015/12/Find-Out-Why-Once-Every-Three-Years-is-the-Trend-in-Vaccinations-003.pdf>
- Keirsebilck, A. (2015-2016). Hoofdstuk VII: Het bloed. In *Cyto- en histologie: histologie* (pp. 92-122). Vives campus Roeselare.
- Killey, R., C., M., Pearce, R., Nell, A., A., P., & M.J., D. (2017, oktober 31). *long-lived immunity to canine core vaccine antigens in UK dogs as assessed by an in-practice test kit*. Opgehaald van onlinelibrary.wiley.com: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jsap.12775>
- Killey, R., Mynors, C., Pearce, R., Nell, A., Prentis, A., & Day, M. (2017, oktober 31). *Long lived immunity tot canine core vaccine antigens in UK dogs as assessed by an in-practice test kit*. Opgehaald van onlinelibrary.wiley.com.zuid.vives.ezproxy.kuleuven.be: <http://onlinelibrary.wiley.com.zuid.vives.ezproxy.kuleuven.be/doi/10.1111/jsap.12775/epdf>
- Kruistabellen*. (2018). Opgehaald van tilburguniversity.edu: <https://www.tilburguniversity.edu/nl/studenten/studie/colleges/spsshelpdesk/edesk/crossstab/>
- Logo dierenartsencentrum Animo*. (sd). Opgehaald van animodap.be: www.animodap.be
- Mazar, S., Larson, L., & Y., L. (2014, februari). *Sensitivity-specificity-accuracy and difference between positive and negative mean results of the ImmunoComb® Canine*

- VacciCheck Antibody Test Kit for Canine Distemper, Parvo and AdenoVirus*. Opgehaald van vaccicheck.com: <http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2014/02/sensitivity-specificity.pdf>
- Messonnier, S. (sd). *Incorporating Titer Testing in Your Practice*. Opgehaald van vaccicheck.com: <http://vaccicheck.com/incorporating-titer-testing-practice/>
- MSD. (2003, februari). *De MSD manual medisch handboek-tweede, geheel herziene editie*. Opgehaald van msdmanuals.nl: https://www.msdmanuals.nl/mmhenl/print/immuunsysteem/biologie_van_het_afweersysteem/introductie.html
- Muylaert, A. (2016-2017). Het bloedonderzoek. In *Pathologie gezelschapsdieren* (pp. 12-32). Vives campus Roeselare.
- Muylaert, A. (2016-2017). Hondenadenovirus 1 (Hepatitis Contagiosa Canis, leverziekte). In *Pathologie gezelschapsdieren* (pp. 65-67). Vives campus Roeselare.
- Muylaert, A. (2017-2018). *Veterinair management*. Vives campus Roeselare.
- Nandi, S., & Kumar, M. (2010, juni). *Canine Parvovirus: current perspective (Abstract)*. Opgehaald van link.springer.com: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13337-010-0007-y>
- nonspecific defenses*. (2018). Opgehaald van jourdantonisd.net: http://www.jourdantonisd.net/pages/uploaded_files/ch40.pdf
- O'Driscoll, C. (2016, januari-februari). *Titer Testing*. Opgehaald van vaccicheck.com: <http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2012/07/dogsNaturallyVacci.pdf>
- Overgaauw, P., Boumans, M., & Egberink, H. (2016, november 19). *Hond en kat vaccineren of eerst serologisch testen*. Opgehaald van knmvd.nl: file:///C:/Users/dansc/AppData/Local/Packages/Microsoft.MicrosoftEdge_8wekyb3d8bbwe/TempState/Downloads/CONSENSUS%20VACCINEREN%20EN%20TITERBEPALINGEN.PDF
- Schultz, R., Thiel, B., Mukhtar, E., Sharp, P., & Larson, L. (2010). *Age and Long-term Protective Immunity in Dogs and Cats*. Opgehaald van vaccicheck.com: http://vaccicheck.com/wp-content/uploads/2012/04/age-and-long-term-protective-immunity_schultz.pdf
- Sino biological inc. (2018). *ELISA-types*. Opgehaald van elisa-antibody.com: <http://www.elisa-antibody.com/ELISA-Introduction/ELISA-types>
- Synbiotics. (2017). *Canine distemper-parvovirus antibody test kit*. Opgehaald van megaor.at: <http://www.megaor.at/useruploads/images/titerchekcdvucpv.pdf>
- UCDavis. (2017, april). *Canine and Feline guidelines*. Opgehaald van vetmed.ucdavis.edu: http://www.vetmed.ucdavis.edu/vmth/small_animal/internal_medicine/newsletters/vaccination_protocols.cfm
- Universiteit Utrecht. (sd). *Universitair veterinaire diagnostisch laboratorium: bloedafname en buistypen*. Opgehaald van uu.nl: <https://www.uu.nl/uvdl/info-aanvragers/bloedafname-en-buistypen>
- Vaccicheck: Antibody titer test*. (sd). Opgehaald van nmlhealth.com: https://www.nmlhealth.com/sites/default/files/pictures/algemeen/1705_vaccicheck_informatiebrochure_0.pdf
- Vaccinaties en titerbepaling hond en kat*. (2018). Opgehaald van hollistischdierenarts.nl: <https://www.hollistischdierenarts.nl/vaccinaties-en-titerbepaling-hond-en-kat/>
- Vanhee, M. (2017-2018). *Diagnostische labotechnieken*. Vives Campus Roeselare.
- Wilkie, C. (sd). *Should your pet be shot? types of Vaccins*. Opgehaald van vet.bc.ca: <http://www.vet.bc.ca/types-of-vaccines.pml>
- WSAVA. (sd). *Vaccination guidelines*. Opgehaald van wsava.org: <http://www.wsava.org/educational/vaccination-guidelines-group>
- Zoetisus. (2017). *Canine distemper-parvovirus antibody test kit*. Opgehaald van zoetisus.com: https://www.zoetisus.com/contact/pages/product_information/msds_pi/pi/titerchek_cd_v_cpv.pdf