

Diagnostische parameters voor klinische wintercyathostominose bij paarden

Diagnostic parameters for clinical larval cyathostominosis in horses

^{1,2}L.M. Verhaeghe, ²B. Pardon, ²P. Deprez, ³E. Claerebout

¹EquiTom, Paalstraat 8, B-3560 Meldert

²Vakgroep Inwendige Ziekten van de Grote Huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

³Vakgroep Virologie, Parasitologie en Immunologie, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

lizemaria.verhaeghe@gmail.com

SAMENVATTING

Wintercyathostominose is een van de belangrijkste parasitaire aandoeningen bij het grazende paard. Deze studie werd opgezet om de meest significante parameters te identificeren die geassocieerd zijn met klinische wintercyathostominose. Het betreft een retrospectief onderzoek van 307 paarden die tussen 2008 en 2018 aangeboden werden op de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent. Paarden ouder dan drie maanden die op de faculteit een mestonderzoek ondergingen en diarree hadden, werden opgenomen in de studie. De diagnose van larvale cyathostominose werd gesteld op basis van een positief mestonderzoek, i.e. het aantonen van L4-larven in de feces. De gegevens van paarden met larvale cyathostominose zonder diarree werden niet in de studie opgenomen. Klinische, biochemische, hematologische en parasitaire parameters werden onderzocht. Na statistische analyse van deze retrospectieve gegevens kwam albumine als meest significante parameter naar voor. Een serum-albuminegehalte dat lager was dan 20 g/L, had een hoge gevoeligheid voor het voorspellen van een positief mestonderzoek. De combinatie van het serum-albuminegehalte, het geslacht, de lichaamstemperatuur, het neutrofielenpercentage en het seizoen was volgens het finale statistische model de beste combinatie om de aanwezigheid van wintercyathostominose te voorspellen. Aan de hand van de diagnostische accuraatheid van het finale model werd aangetoond dat hiermee echter geen sluitende diagnose van larvale cyathostominose kan gesteld worden en dat een mestonderzoek nog steeds noodzakelijk is om het vermoeden van larvale cyathostominose te bevestigen.

ABSTRACT

The objective of this study was to find the most significant parameters to identify horses with larval cyathostominosis, caused by infection with small strongyles. A retrospective study with 307 horses, that were presented at the Faculty of Veterinary Medicine (Ghent University) between 2008 and 2018, was performed. Horses older than three months with diarrhea, of which feces was examined at the Faculty of Veterinary Medicine, were included in this study. The definitive diagnosis of larval cyathostominosis was determined by the presence of L4/L5 larvae in the feces. Clinical examinations, blood and fecal analyses were performed in all cases and compared to determine positive predictive values for larval cyathostominosis. Blood albumin concentration appeared to be the most significant value. Albumin concentrations less than 20 g/L had the highest significance (<0.004) to predict a positive fecal sample. The combination of an albumin concentration less than 20 g/L, sex (female), body temperature (>38.2°C), neutrophilia (>67%) and season (October-March) was the most accurate (72%) in predicting the presence of larval cyathostominosis. Due to the moderate significance of this model, fecal examination remains essential to confirm larval cyathostominosis suspicion.

INLEIDING

Epidemiologie

In tegenstelling tot de sterke daling van de prevalentie van grote strongyliden, blijven kleine strongyliden van groot veterinair belang (Kaplan en Nielsen, 2010). Alle grazende paarden worden met kleine strongyliden of Cyathostominae besmet (Reinemeyer, 1986). Bij paarden zijn Cyathostominae wereldwijd de belangrijkste bron voor weidebesmetting. Niettegenstaande de prevalentie van Cyathostominae bij paarden zeer hoog is, is de morbiditeit laag en vertonen de meeste dieren geen acute symptomen van ongemak of ziekte (Love et al., 1999). Wanneer er zich slechts een klein aantal Cyathostominae-larven ontwikkelt, vertoont het paard geen ziektesymptomen. Het massaal en synchroon vrijkomen van de geïnhibeerde L4- of L5-larven uit de darmwand kan echter extreme gevolgen hebben, i.e. larvale cyathostominose (Peregrine et al., 2005). Seizoengebonden, klinische cyathostominose wordt in Europa wintercyathostominose genoemd (Lyons et al., 2000). Factoren die de duur van de hypobiose mede zouden kunnen bepalen, zijn de klimatologische omstandigheden, de grootte van de volwassen parasitaire populatie in de darm, species en gastheerimmunitet (Gasser et al., 2004). Ook het gebruik van anthelminthica zou een predisponerende factor zijn voor klinische cyathostominose, omdat luminale stadia een remmend effect zouden hebben op geëncysteerde larven. Bij het doden van de luminale stadia worden de geëncysteerde larven geactiveerd en treden ze uit de darmwand naar het lumen (Lyons et al., 2000).

Symptomen

Klinische symptomen worden in Europa vooral gezien in de late winter en de lente. Wintercyathostominose treft voornamelijk jonge paarden tussen één en drie jaar oud (Peregrine et al., 2005). Toch blijven paarden levenslang vatbaar en kan de ziekte voorkomen in elk seizoen van het jaar (Love et al., 1999).

De klinische symptomen worden veroorzaakt door ernstige tyflitis en colitis. De meest voorkomende klinische symptomen die gepaard gaan met larvale cyathostominose zijn gewichtsverlies, lethargie, acute of chronische diarree, koorts, subcutaan oedeem en koliek. Minder vaak worden ook tachycardie, verminderde kwaliteit van de vacht en spieratrofie vermeld (Giles et al., 1985; Love et al., 1999; Lyons et al., 2000; Mair et al., 2000; Proudman en Matthews, 2000; Peregrine et al., 2005). Ondanks intensieve behandeling geeft dit syndroom in 50% van de gevallen toch aanleiding tot sterfte (Proudman en Matthews, 2000). Alle bovengenoemde klinische parameters zijn elk afzonderlijk aspecifiek, waardoor ook andere parameters noodzakelijk zijn om de diagnose van larvale cyathostominose te kunnen stellen.

Diagnostiek

De huidige diagnose van larvale cyathostominose is gebaseerd op signalement (waarbij vooral de leeftijd van het paard een belangrijke rol speelt), anamnese, klinische symptomen en het uitsluiten van mogelijke andere oorzaken (Peregrine et al., 2005). De dierenarts is in staat het management te beoordelen en het infectierisico te bepalen. Bezettingsgraad, de kwaliteit van de weide, leeftijdsgroepen en coprologisch onderzoek zijn belangrijke indicatoren om de besmettingsgraad van de paarden of de weide te bepalen (Proudman en Matthews, 2012).

Hematologie en biochemie

Biochemische en hematologische parameters zijn tot op heden weinig specifiek. Meestal worden hypoalbuminemie, hyperglobulinemie, voornamelijk beta-globulinemie, en neutrofilie beschreven (Giles et al., 1985; Love et al., 1999; Smets et al., 1999; Corning, 2009). Dit zijn bevindingen die consistent zijn met "protein-losing enteropathy" (Corning, 2009). Over het plasmaproteïnegehalte bestaat er in de literatuur geen eenduidigheid. Volgens Giles et al. (1985) wordt eerst een normaal of verhoogd gehalte van het totale plasmaproteïnegehalte waargenomen door een stijging van plasmaglobulinen. Deze stijging wordt gevolgd door een daling. Volgens Corning (2009) is de stijging van het totale eiwitgehalte te wijten aan dehydratatie. Smets et al. (1999) en Peregrine et al. (2005) beschreven enkel een significante daling van het totale eiwitgehalte. Bij hypoalbuminemie worden albumineconcentraties vermeld die lager zijn dan 20 g/L en een albumine:globuline-ratio lager dan 0,7 (Smets et al., 1999).

Microscopisch onderzoek

Voor parasitologisch onderzoek is de aanwezigheid van microscopisch of macroscopisch zichtbare larven in de feces de beste diagnostische parameter (Murphy et al., 1997).

Voor histopathologisch onderzoek kan een biopsie genomen worden van colon en cecum. Dit zou de meest sluitende diagnose van cyathostominose ante mortem kunnen geven, maar deze test wordt om economische en praktische redenen niet uitgevoerd (Murphy et al., 1997).

MATERIALEN EN METHODEN

Het voorliggende onderzoek is een retrospectieve studie naar de diagnostische parameters van wintercyathostominose. Alle gebruikte gegevens zijn afkomstig uit het archief van de kliniek Inwendige Ziekten van de Grote Huisdieren (Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent).

Studiepopulatie

In deze studie werd een mestonderzoek met een positief LPG-test (i.e. aantal larven per gram feces) bij paarden met diarree beschouwd als diagnostisch voor klinische wintercyathostominose. Tussen januari 2008 en januari 2018 werden 307 paarden aangeboden aan de universitaire dierenkliniek die voldeden aan de inclusiecriteria, namelijk paarden ouder dan drie maanden, die op de Faculteit Diergeneeskunde een mestonderzoek ondergingen en de klacht van diarree hadden. Diarree werd gekozen als een van de inclusiecriteria, omdat dit een vaak beschreven klinische parameter is die makkelijk door de dierenarts kan vastgesteld worden. In de literatuur zijn ook gevallen beschreven van larvale cyathostominose zonder het klinisch symptoom diarree (Murphy et al., 1997; Mair et al., 2000; Peregrine et al., 2005); de gegevens van paarden zonder diarree werden in deze studie niet opgenomen. Rekening houdend met de prepatente periode van de kleine strongyliden werden veulens jonger dan drie maanden niet in de studie opgenomen. Daar de studie gebaseerd is op een retrospectieve analyse werd de studiepopulatie door het gebrek aan bepaalde gegevens voor bepaalde parameters aanzienlijk verkleind.

Procedure

Elke patiënt die in de laatste tien jaar aangeboden werd aan de Faculteit Diergeneeskunde en voldeed aan de inclusiecriteria (zie hoger), werd opgenomen in deze studie. Per patiënt werden zowel de klinische parameters, de bloedwaarden, als de parasitologische parameters genoteerd. Met deze patiëntgegevens werden statistische verbanden gezocht tussen de afhankelijke parameter, i.e. diagnose van wintercyathostominose, en alle beschikbare onafhankelijke parameters. Alle significante onafhankelijke parameters geven dus een indicatie van de kans op een positief LPG-resultaat bij paarden met diarree.

Klinische parameters

De klinisch onafhankelijke variabelen van de geïnccludeerde paarden werden bepaald op de dag van aankomst. Als klinische variabelen werden leeftijd, ras, gewichtsverlies, subcutaan oedeem, temperatuur, ademhaling, pols, lethargie, zwakte, koliek-symptomen, eetlust, lendenreflex, echografie van het abdomen en mortaliteit in acht genomen. Bovendien werd ook steeds naar de ontwormingsgeschiedenis gevraagd en werd het seizoen waarin het paard werd aangeboden, genoteerd.

Bloedanalyse

Bij aanbidding op de dierenkliniek werd van ieder paard, ingesloten in de studie, bloed afgenomen. Niet elk paard had echter dezelfde bloedanalyse ondergaan,

waardoor voor bepaalde parameters niet alle paarden in acht genomen konden worden. Volgende hematologische en biochemische parameters werden voor de studiepopulatie genoteerd: hematocrietwaarde, leukocytengehalte, neutrofielenpercentage, “base excess”, pH, Pco₂ bicarbonaat, natrium, chloor, calcium, glucose, lactaat, totaal eiwit, serumalbumine, beta-globulinegehalte en albumine:globuline-ratio.

Mestonderzoek

Van alle paarden ingesloten in het onderzoek werd een fecesstaal genomen. Het aantal larven werd bepaald door één gram feces te wassen met leidingwater over een draadgaas van 38 µm. Daarna werd de inhoud van de zeef gekleurd met een iodine-oplossing en bekeken onder een stereomicroscoop (Smets et al., 1999). Tussen januari 2008 en januari 2018 ondergingen 307 paarden ouder dan drie maanden met diarree, een mestonderzoek.

Statistische analyse

Voor de statistische analyse werd het programma IBM® SPSS® Statistics versie 24.0 gebruikt. Met een multivariabel logistisch regressiemodel werd de associatie tussen de onafhankelijke variabelen vergeleken met de afhankelijke variabele. In deze studie werd een positieve LPG bij paarden met diarree als afhankelijke variabele beschouwd. Deze factor werd geassocieerd met de onafhankelijke variabelen om de aanwezigheid van wormen in de mest te voorspellen. In een eerste stap werden alle factoren univariabel getest. Alle factoren met een P-waarde < 0,20 werden behouden voor de volgende stap. Het finale, multivariabele model werd stapsgewijs retrograad opgebouwd, waarbij niet-significante factoren gradueel uitgesloten werden. Wanneer de P-waarde < 0,05 was, werd de associatie tussen de onafhankelijke parameter en een positief LPG als significant beschouwd. Correlaties tussen de factoren in de univariabele analyse werden uitgevoerd met behulp van de Pearson- en Spearman rho-correlatiecoëfficiënten. Categorische predictoren werden in groepen geplaatst volgens het aantal waarnemingen. Bij de continue predictoren werd een optimale “cut-off point” berekend. Dit punt werd bepaald via de “receiver operating characteristic” analyse (ROC-analyse) en met behulp van de Youden-index. Sensitiviteit en specificiteit werden berekend als parameters voor diagnostische accuraatheid.

Tot slot werd een tabel opgesteld om de diagnostische accuraatheid van het model te bepalen op basis van sensitiviteit, specificiteit en positief en negatief voorspellende waarden.

RESULTATEN

De combinatie van de onafhankelijke parameters geslacht, koorts, albumine, neutrofielenpercentage en seizoen is volgens het multivariabele logistische

Tabel 1. Weergave van de variabelen geslacht, koorts, albumine, neutrofielenpercentage en seizoen. In de onderstaande tabel worden de regressiecoëfficiënt (B), de standaarddeviatie (Stdev), de wald statistiek (Wald), de vrijheidsgraden (df), de P-waarde, de odds ratio (Exp (B)) en het betrouwbaarheidsinterval (CI) weergegeven. Het finale model is gebaseerd op 168 paarden.

	B	Stdev	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.	
							Lower	Upper
Merrie			6,997	2	,030			
Hengst	-,955	,440	4,711	1	,030	,385	,162	,912
Ruin	-,942	,458	4,239	1	,040	,390	,159	,956
Koorts $\geq 38,2^{\circ}\text{C}$,689	,355	3,773	1	,052	1,992	,994	3,992
Albumine 20g/liter	1,078	,375	8,260	1	,004	2,939	1,409	6,132
Neutrofielenpercentage	,846	,371	5,209	1	,022	2,331	1,127	4,820
Seizoen: oktober - maart	,915	,435	4,418	1	,036	2,497	1,064	5,861
Doorlopend	-2,095	,529	15,699	1	,000	,123		

regressiemodel de beste combinatie om te voorspellen of een paard met diarree al dan niet positief zal testen voor LPG. Tabel 1 toont aan dat albumine de parameter is met de grootste significantie. Volgens de "odds ratio" is er ongeveer drie keer meer kans op een positieve LPG-test bij een albuminegehalte lager dan 20 g/L. Omdat de voorliggende studie een retrospectief onderzoek betreft, kon er enkel gebruik gemaakt worden van gegevens die gedurende de laatste tien jaar werden genoteerd. Door het gebrek aan bepaalde gegevens verkleint de studiepopulatie voor die parameters aanzienlijk. Hierdoor is het finale model gebaseerd op slechts 168 paarden, terwijl er 307 aan de inclusiecriteria voldeden. Van de 307 paarden waren overigens 119 LPG-testen positief.

In Tabel 2 worden de sensitiviteit, specificiteit, de positief en de negatief voorspellende waarde en de accuraatheid van het finale model weergegeven. De combinatie van deze vijf parameters heeft een specificiteit van 80,9%, maar de gevoeligheid is slechts 60,8%. De positief voorspellende waarde en de negatief voorspellende waarde zijn respectievelijk 71,4% en 72,4%, wat betekent dat een merrie met een albuminegehalte lager dan 20 g/L, een lichaamstemperatuur hoger dan 38,2°C, neutrofielenpercentages hoger dan 67% en aangeboden met diarree tussen de maanden oktober en maart 71,4% kans heeft op een positieve LPG-test, terwijl paarden met diarree die niet aan deze criteria voldoen, 72,4% kans hebben

op een negatief resultaat van het mestonderzoek. In 72,0% van de gevallen werden paarden op basis van het model aan de juiste categorie (al dan niet positief mestonderzoek) toegewezen. Deze accuraatheid werd bepaald door de verhouding tussen het aantal juist geklasseerde paarden en het totaal aantal geklasseerde paarden.

DISCUSSIE

In deze studie werd wintercyathostominose gedefinieerd als de combinatie van diarree en een positief fecesonderzoek (voor het aantonen van larven). Zoals eerder vermeld, kan wintercyathostominose ook voorkomen zonder diarree, maar paarden zonder diarree werden niet in de studie opgenomen. Anderzijds kunnen ook gezonde paarden larven van kleine strongyliden uitscheiden in de feces (Eysker et al., 1990). Om de kans op valspositieve resultaten te verkleinen, werd bewust gekozen voor een weinig gevoelige techniek voor het mestonderzoek, waarbij slechts één gram mest werd onderzocht.

Bij paarden met diarree moet cyathostominose gedifferentieerd worden van andere mogelijke oorzaken van diarree, zoals salmonellosis, NSAID-geïnduceerde colitis, intestinaal lymfosarcoma, "inflammatory bowel disease", *Lawsonia intracellularis*, *Clostridium*-infecties en andere oorzaken van acute enteritis. Er

Tabel 2. Sensitiviteit, specificiteit, positief en negatief voorspellende waarde en accuraatheid van het finale model.

	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	PVW (%)	NVW (%)	Accuraatheid (% juist toegewezen)
Finaal model	60,8	80,9	71,4	72,4	72,0

PVW = positief voorspellende waarde. NVW = negatief voorspellende waarde.

worden ook gevallen beschreven van paarden die vermageren en lijden aan hypoproteïnemie zonder dat de dieren diarree vertonen. In dat geval moet cyathostominose gedifferentieerd worden van nierfalen, peritonitis, pleuritis, chronische aandoeningen en malnutritie (Peregrine et al., 2005). In dit onderzoek komen dezelfde diagnostische parameters naar voor als die die in de literatuur worden beschreven (Giles et al., 1985; Uhlinger, 1991; Love et al., 1999; Smets et al., 1999; Corning, 2009). De meerwaarde van dit onderzoek is dat er voor een combinatie van vijf significante parameters nu ook een voorspellende diagnostische waarde is toegekend.

Uit het finale model van deze studie blijkt dat de onafhankelijke parameters albumine, neutrofielenpercentage, seizoen, geslacht en koorts de beste parameters zijn om bij een paard aangeboden met diarree, de vermoedelijke diagnose van wintercyathostominose te stellen. Voorgaande parameters, met uitzondering van het geslacht, worden ook in de literatuur beschreven (Murphy et al., 1997; Love et al., 1999; Lyons et al., 2000; Peregrine et al., 2005).

Hypoalbuminemie is een parameter die in de literatuur herhaaldelijk terugkomt (Giles et al., 1985; Smets et al., 1999; Peregrine et al., 2005). In gevorderde gevallen worden ernstige dalingen van serumalbumine waargenomen, hoewel ook gevallen worden beschreven zonder daling. De cut-offwaarde van Giles et al. (1985) lag op $19,8 \pm 1,4$ g/L. Bij Smets et al. (1999) lag de cut-offwaarde voor serumalbumine bij met *Cyathostominae* geïnfecteerde paarden op 20 g/L. In de huidige studie was het albuminegehalte van 192 paarden gekend en lag de cut-offwaarde op 20 g/L. Na statistische analyse van de gegevens van het huidige onderzoek kwam albumine naar voor als de meest significante parameter in het finale model (Tabel 1). Er dient echter erkend te worden dat er slechts bij 192 van de 307 paarden, die aan de inclusiecriteria voldeden, serumalbumine werd getest. De parameter albumine is mogelijk onderhevig aan een selectiebias van de klinici, maar dit kon in deze retrospectieve studie niet achterhaald worden.

Neutrofilie bij paarden met larvale cyathostominose werd door verscheidene auteurs beschreven (Murphy en Love, 1996; Murphy et al., 1997; Lyons et al., 2000; Peregrine et al., 2005). In de huidige studie werd een cut-offwaarde gevonden voor een neutrofielenpercentage dat groter was dan 67%. Voor het absolute aantal neutrofielen lag de cut-offwaarde op $8,1 \cdot 10^9$ /liter. Een stijging van de witte bloedcellen wordt beschreven als bijkomende indicator voor klinische cyathostominose, maar kan niet in elk geval waargenomen worden (Giles et al., 1985; Uhlinger, 1991). Zowel een stijging van de neutrofielen als een stijging van de witte bloedcellen was in het huidige onderzoek significant voor klinische wintercyathostominose. Het leukocytenaantal werd niet in het finale model opgenomen omdat deze parameter geen meerwaarde gaf.

Hoewel klinische cyathostominose in elk seizoen

kan voorkomen (Love et al., 1999), worden de klinische symptomen veroorzaakt door larvale cyathostominose, in Europa vooral gezien in de late winter en de lente (Peregrine et al., 2005). Verschillende seizoensgebonden factoren kunnen een invloed hebben op het uittreden van de geëncysteerde larven. Er wordt verondersteld dat lichtperiodiciteit, het eten van nieuwe vegetatie en andere nog ongeïdentificeerde factoren een trigger kunnen zijn (Lyons et al., 2000). Ook in de huidige studie was het seizoen een significante parameter. Paarden met diarree aangeboden tussen de maanden oktober en maart, hadden significant meer kans op een positieve LPG-test. Deze parameter werd opgenomen in het finale model (Tabel 1).

In twee studies van Singh et al. (2012 en 2016) werd een hogere infectieprevalentie gevonden bij vrouwelijke paarden dan bij mannelijke paarden. In beide artikels waren de statistische verschillen niet significant (Singh et al., 2012; Singh et al., 2016). In dit onderzoek werd bij een significant hoger aantal vrouwelijke dieren een positief LPG waargenomen dan bij hengsten of ruïnen. Verder onderzoek is nodig om uit te maken of hier de samenstelling van de studiepopulatie of genetische verschillen aan de grondslag van deze bevinding liggen.

Koorts wordt herhaaldelijk beschreven in de literatuur (Murphy et al., 1997; Love et al., 1999; Corning, 2009). In de huidige studie werd de lichaamstemperatuur gezien als een categorische variabele koorts/geen koorts en werd de cut-offwaarde voor paarden met wintercyathostominose bepaald op $38,2^\circ\text{C}$. In deze studie was de onafhankelijke parameter koorts net niet significant, maar werd wel gebruikt in het finale model.

CONCLUSIE

Aan de hand van het finale model werden de vijf belangrijkste parameters omtrent de diagnostiek van larvale cyathostominose bepaald. Voor elk van deze parameters werd onder andere de significantie en de odds ratio bepaald. Zo bleek dat de parameter albumine het meest significant was en de grootste odds ratio had. De diagnostische accuraatheid van het finale model toont aan dat de combinatie van de parameters geslacht, koorts, hypoalbuminemie, een verhoogd neutrofielenpercentage en seizoen sterk indicatief is voor klinische wintercyathostominose (Tabel 2). Door de beperkte sensitiviteit van het finale model blijft het uitvoeren van een mestonderzoek bij het vermoeden van larvale cyathostominose echter noodzakelijk om de diagnose te bevestigen.

REFERENTIES

Corning, S., (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors* 2 (Suppl 2), 1.

- Eysker, M., Boersema, J.H., Kooyman, F.N.J., (1990). Seasonally inhibited development of cyathostomine nematodes in Shetland ponies in the Netherlands. *Veterinary Parasitology* 36, 259-264.
- Gasser, R.B., Hung, G-C., Chilton, N.B., Beveridge, I., (2004). Advances in developing molecular-diagnostic tools for strongyloid nematodes of equids: fundamental and applied implications. *Molecular and Cellular Probes* 18, 3-16.
- Giles, C.J., Urquhart, K.A., Longstaffe, J.A., (1985). Larval cyathostomiasis (immature trichonema-induced enteropathy): A report of 15 clinical cases. *Equine Veterinary Journal* 17, 196-201.
- Kaplan, R.M., Nielsen, M.K., (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: it ain't the 60s anymore. *Equine Veterinary Education* 22, 306-316.
- Love, S., Murphy, D., Mellor, D., (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. *Veterinary Parasitology* 85, 113-122.
- Lyons, E.T., Drudge, J.H., Tolliver, S.C., (2000). Larval cyathostomiasis. In: Turner, A.S., Timoney P.J. (editors). *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. Elsevier, Lexington, Kentucky, USA, pp. 501-513.
- Mair, T.S., Sutton, D.G.M., Love, S., (2000). Caecocolic intussusception associated with larval cyathostomosis in four young horses. *Equine Veterinary Journal* 32, 77-80.
- Murphy, D., Love, S., (1997). The pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. *Veterinary Parasitology* 70, 99-110.
- Murphy, D., Keane, P., Chandler, K., Goulding, R., (1997). Cyathostome-associated disease in the horse: investigation and management of four cases. *Equine Veterinary Education* 9, 247-252.
- Peregrine, A.S., McEwen, B., Bienzle, D., Koch, T.G., Weese, J.S., (2005). Larval cyathostomiasis in horses in Ontario: An emerging disease? *Canadian Veterinary Journal* 46, 80-82.
- Proudman, C., Matthews, J., (2000). Control of intestinal parasites in horses. *In Practice* 20, 90-97.
- Reinemeyer CR., (1986). Observations on the population dynamics of five cyathostome nematode species of horses in northern USA. *Equine Veterinary Journal* 18, 121-124.
- Singh, G., Soodan, J.S., Singla, L.D., Khajuria, J.K., (2012). Epidemiological studies on gastrointestinal helminths in horses and mules. *Veterinary Practitioner* 13, 23-27.
- Singh, G., Singh, N.K., Singh, H., Rath, S.S., (2016). Assessment of risk factors associated with prevalence of strongyle infection in equines from Central Plain Zone, Punjab. *Journal of Parasitic Diseases* 40, 1381-1385.
- Smets, K., Shaw, D.J., Deprez, P., Vercruyse, J., (1999). Diagnosis of larval cyathostomiasis in horses in Belgium. *Veterinary Record* 144, 665-668.
- Uhlinger, C.A., (1991). Equine small strongyles: epidemiology, pathology and control. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 13, 863-869.

Uit het verleden



Eigenaars van neerhoedieren komen 's Vrijdags met hun zieke beesten naar de kosteloze raadpleging. Prof dr. Geurden, omringd door studenten.

DE VLAAMSCHE VEEARTSENIJSCHOOL

over ziekten; heeft, anderzijds, het publiek het voordeel, te beschikken over 'n kostelozen dienst; worden sociale, economische en hygiënische belangen gediend.
Voor de wetenschappelijke onderzoeken beschikt men er over een labora-