



ONDERZOEKSRAPPORT

Effectiviteit van het
fokprogramma op het voorkomen
van aangeboren doofheid
(Congenitale Cochleaire
Sensorineurale Doofheid, CCSD)
bij de Dalmatische Hond in
Nederland

Inleiding op het onderzoeksrapport

‘EFFECTIVITEIT VAN HET FOKPROGRAMMA OP HET VOORKOMEN VAN AANGEBOREN DOOFHEID (Congenitale Cochleaire Sensorineurale Doofheid, CCSD) BIJ DE DALMATISCHE HOND IN NEDERLAND’

Op verzoek van de Nederlandse Club voor Dalmatische Honden (N.C.D.H.) is in 2019 een onderzoek gestart naar de effectiviteit van het fokbeleid van de vereniging t.a.v. het terugdringen van doofheid. Hiervoor heeft de gezondheidscommissie van de N.C.D.H., destijds bestaande uit Erna Kuipers, José Lagendijk, Annemiek Morgans en Lizzy Plat, contact gezocht met het Expertise Centrum Genetica Gezelschapsdieren (ECGG) van de Faculteit Diergeneeskunde te Utrecht.

Waarom de wens dit onderzoek te starten?

De N.C.D.H. is in 1995 gestart met het uitvoeren van BAER gehoortesten bij Dalmatische honden, nadat het toenmalige bestuur in het begin van de jaren negentig via studies van prof. Strain in de USA opmerkelijk gemaakt was op de aanwezigheid van eenzijdige doofheid bij o.a. Dalmatische honden. Tot die tijd was dit voor ons een onbekend fenomeen.

Na contact met de Faculteit Diergeneeskunde te Utrecht en de Raad van Beheer op Kynologisch Gebied en na het nodige vooronderzoek, konden we in 1995 starten met het systematisch uitvoeren van de gehoortesten binnen onze rasvereniging. De eerste dierenartspraktijk die beschikte over de benodigde apparatuur was die van drs. N. Dijkshoorn te Zeist. Momenteel staan vier dierenartspraktijken tot onze beschikking.

De resultaten van de gehoortesten worden door de N.C.D.H. bijgehouden, verwerkt in jaarlijkse overzichten en gepubliceerd in het clubblad. Uit die overzichten kwam geleidelijk aan een teruggang in het optreden van doofheid naar voren. Na bijna 25 jaar data verzamelen ontstond de behoefte aan een wetenschappelijke analyse van deze data, m.a.w: we wilden weten of wetenschappelijk kon worden aangetoond dat ons beleid, het uitsluiten van eenzijdig dove honden van de fokkerij, effect had gehad.

Hoe zijn de data tot stand gekomen?

Vanaf 1995 is het uitvoeren van de gehoortest:

- verplicht gesteld voor alle nesten geboren bij leden van de N.C.D.H., waarbij werd bepaald dat de nesten compleet moesten worden aangeboden;
- verplicht gesteld voor alle fokhonden met de bepaling dat alleen tweezijdig horende honden werden toegelaten voor de fokkerij. Dat wil zeggen dat de eenzijdig horende honden vanaf dat moment buiten de fokkerij werden gehouden.

Hierbij dient te worden vermeld dat honden met zichtbare platen en monocles tot op heden niet zijn toegestaan in de fokkerij in Nederland omdat ze als diskwalificerende fout vermeld staan in de rasstandaard.

Hoe wordt de BAER test uitgevoerd?

Het uitvoeren van de BAER test in Nederland gebeurt in de diverse dierenartsenpraktijken volgens een vaststaand protocol, overeengekomen in een convenant met de uitvoerende dierenartsen en de Raad van Beheer op Kynologisch Gebied.



Hierin is bepaald dat:

- de BAER test apparatuur met regelmaat wordt geijkt i.s.m. de Raad van Beheer,
- voor een betere betrouwbaarheid de gehoortesten worden uitgevoerd onder lichte sedatie,
- de gehoortesten worden gedaan vanaf de leeftijd van 6 weken,
- de uitslagen worden verwerkt en geregistreerd op het Bureau van de Raad van Beheer, die vervolgens per pup een certificaat met het resultaat afgeeft aan de fokker/eigenaar.
- de complete resultaten worden doorgegeven aan de rasvereniging (N.C.D.H.)

Een woord van dank

Het Expertise Centrum (ECGG) van de Faculteit te Utrecht was bereid het onderzoek uit te voeren. De N.C.D.H. heeft al haar data beschikbaar gesteld en vervolgens heeft master student diergeneeskunde Vera Pleijsier het onderzoek ter hand genomen onder supervisie van dhr. J.C.M. Vernooij MSc, biostatisticus, en dr. P.A.J. Leegwater, geneticus. In november 2019 was het onderzoek afgerond, in maart 2020 heeft Vera een presentatie van het onderzoek en haar bevindingen aan de leden van de N.C.D.H. gegeven. Daarna kwam ook het definitieve rapport beschikbaar. Aan hen, en aan de leden van onze gezondheidscommissie, veel dank voor het vele werk en de fijne samenwerking.

Graag delen we nu dit rapport met u.

April 2021,
de Nederlandse Club voor Dalmatische Honden

Voorzitter:
Katja van den Eijnden

Secretaris:
Karin Nieuwenhof



N.C.D.H.
Nederlandse Club voor Dalmatische Honden
Sinds 1947
www.ncdh.nl



LID VAN
RAAD VAN BEHEER
HOUDEN VAN RASHONDEN



AANGESLOTEN BIJ
WAFDAL
WORLD ASSOCIATION FOR DALMATIANS



Effectiviteit van het fokprogramma op het voorkomen van aangeboren doofheid (Congenitale Cochleaire Sensorineurale Doofheid, CCSD) bij de Dalmatisch hond in Nederland

Vera Pleijsier

5625580, Master student Diergeneeskunde (Gezelschapsdieren)

Supervisors:

Hans Vernooij

Biostatisticus, Departement Gezondheidszorg Landbouwhuisdieren, Faculteit Diergeneeskunde

Peter Leegwater

Geneticus, Departement Gezondheidszorg Gezelschapsdieren, Faculteit Diergeneeskunde

Datum:

18-11-2019

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave.....	2
Samenvatting	3
Samenvatting voor het publiek	3
Introductie	4
Doel van het onderzoek	6
Materiaal en Methoden	6
Results*	8
Discussion*	12
Conclusion*	14
Gebruikte literatuur	15
Appendix I: Unilaterale en bilaterale doofheid	17
Unilaterale doofheid	17
Bilateral deafness	19
Samenvatting	20
Appendix II: Geschatte random effecten van de ouders van pups geboren na 2012	21
Appendix III: Waarschijnlijkheid van doofheid bij de pup bij bepaalde oudercombinaties	23
Appendix IV: Nestgrootte volgens de dataset vs. frequentie van Nest-ID's	24
Appendix V: Hearing, congenital deafness and BAER testing	25
Hearing	25
Melanocytes	26
Congenital deafness in Dalmatians	27
Deafness and welfare	29
BAER test	29
DNA research	30
Breeding standards	30

Samenvatting

Erfelijke doofheid bij de Dalmatische hond is een aandoening die al vele jaren als probleem ervaren en bestudeerd wordt. Erfelijke doofheid is tegenwoordig bekend onder de naam Canine Congenitale (cochleaire) Sensorineurale Deafness (CCSD). Doofheid bij de Dalmatische hond is niet monogenetisch en het is nog niet bekend welke genen bijdragen aan het ontstaan van CCSD. Wel zijn verschillende uiterlijk kenmerken van de hond geassocieerd met het optreden van CCSD.

Verschillende landen hebben een fokprogramma voor de Dalmatische hond opgezet om te voorkomen dat dove pups geboren worden. Ook de Nederlandse Club van Dalmatische Honden (NCDH) heeft binnen Nederland een fokprogramma opgezet. Sinds 1995 mag alleen met tweezijdig horende honden worden gefokt. De gehoorstatus van pups wordt sindsdien vastgesteld door middel van een BAER-test. De effectiviteit van dit fokprogramma is echter nog niet geëvalueerd.

Tussen 1995 en 2018 zijn 4948 BAER-testen uitgevoerd bij pups van het Dalmatische ras. Een logistische regressie is gebruikt om de sterkte van associatie te schatten tussen de gehoorstatus en achtereenvolgend het geboortecohort (geboortjaar), de aanwezigheid van een kopvlek, de haarkleur, de aanwezigheid van blauwe ogen en de nestgrootte. De invloeden van de vaders en moeders zijn in de analyse opgenomen als 'random effecten'.

De incidentie van doofheid lijkt af te nemen sinds het fokprogramma van start is gegaan. De daling van de incidentie van doofheid kon met name aangetoond worden in de geboortejaren 2001 tot 2006 en 2013 tot 2018, zowel voor unilaterale als bilaterale doofheid. Daarnaast komt bij de aanwezigheid van een kopvlek minder vaak doofheid voor. Er kon geen associatie tussen doofheid en de aanwezigheid van blauwe ogen worden aangetoond. Dit onderzoek toont aan dat het aantal dove pups afneemt sinds het fokprogramma in 1995 van start is gegaan. Mogelijk zou de afname sterker zijn geweest indien ook honden met een kopvlek toegelaten zouden worden voor de fokkerij.

Samenvatting voor het publiek

Erfelijke doofheid is een aandoening die al vele jaren een probleem vormt binnen het Dalmatische ras. Dit type doofheid wordt ook wel CCSD (Canine Congenitale (cochleaire) Sensorineurale Doofheid) genoemd. De reden van doofheid is niet precies bekend, maar er is wel bekend dat het een genetische achtergrond heeft. CCSD wordt over de hele wereld binnen het Dalmatische ras waargenomen, wat de reden is dat veel landen een fokprogramma hebben opgezet om doofheid terug te dringen. In 1995 heeft de Nederlandse Club voor Dalmatische Honden (NCDH) het fokprogramma zodanig aangepast dat alleen tweezijdig horende honden tot de fokkerij worden toegelaten. Dit betekent dat elke pup die geboren wordt binnen de NCDH een BAER-test aan beide oren moet ondergaan. Met deze test kan op een accurate wijze de gehoorstatus worden vastgesteld die gebruikt kan worden voor het vaststellen van een mogelijke fokstatus.

Op basis van deze studie is gebleken dat het nieuwe fokprogramma een positief effect heeft gehad op het verminderen van doofheid bij pups. In de eerste periode (1995 tot 2000) bleek 19% van de pups doof aan één of twee oren, terwijl in de laatste periode (2012 tot 2018) dit percentage is gedaald tot 10%. Van de pups zonder kopvlek bleek 17% geboren te zijn met erfelijke doofheid, bij pups met een kopvlek is dat 3%. Dit verschil is statistisch significant. Daarnaast blijken tevens vaker CCSD te hebben dan reuen. We konden geen associatie vaststellen tussen CCSD en de aanwezigheid van blauwe ogen.

Hoewel de incidentie van doofheid bij pups van het Dalmatische ras is gedaald sinds de instelling van het fokprogramma in 1995, had de daling mogelijk groter kunnen zijn. DNA-technieken zouden gebruikt kunnen worden om op basis van de genetische diversiteit (meer diversiteit is beter) tussen honden de optimale combinatie van de ouderdieren te maken voor het toekomstige nest. Een andere mogelijkheid om de daling

van de incidentie van doofheid te versnellen is door dieren met een bepaalde mate van een kopvlek ook toe te laten binnen het fokprogramma, omdat deze dieren minder risico hebben op doofheid.

Introductie

Erfelijke doofheid is al jaren een probleem bij Dalmatische honden (1-3), en wordt ook al jaren bestudeerd. In 1896 is er voor het eerst een link gevonden tussen het hebben van blauwe ogen en congenitale doofheid (2). Vooral fenotypische kenmerken zijn in die tijd bestudeerd. Later is uit onderzoek gebleken dat Dalmatische honden met blauwe ogen een 2.7 keer hoger risico hebben op erfelijke doofheid dan de honden met bruine ogen (4). Tegenwoordig is bekend dat erfelijke doofheid bij Dalmatische honden een vorm is van Canine Congenitale (cochleaire) Sensorineurale Doofheid (CCSD). Naast het wel of niet hebben van blauwe ogen zijn ook andere factoren betrokken bij het ontstaan van deze doofheid, zoals andere fenotypische kenmerken en genetische factoren (1, 4-7).

Bij Dalmatische pups met congenitale doofheid vindt er degeneratie van de cochlea plaats op 2 tot 4 weken leeftijd (1, 5). Voordat de cochlea begint te degenereren, lijkt het binnenoor normaal te zijn qua structuur en functie (1). Het is niet geheel duidelijk waardoor de degeneratie van de stria vascularis in de cochlea in gang wordt gezet, maar de afwezigheid van melanocyten lijkt de voornaamste factor te zijn. Als de melanocyten niet naar de cochlea migreren gedurende de embryonale ontwikkeling, kunnen zij niet differentiëren tot intermediaire cellen in het binnenoor en kunnen zij hun functie in de stria vascularis niet uitvoeren. Dit leidt tot sensorineurale doofheid (1, 4, 5). Naast degeneratie van de stria, kunnen er ook defecten worden gevonden in de haarcellen en in het endolymfe in de cochlea (3, 4). Op 1 tot 2 maanden leeftijd is deze degeneratie al in een gevorderd stadium (3).

Dit type doofheid bij honden heeft vaak een genetische achtergrond en is bekend onder de naam 'Canine Congenitale Sensorineurale Doofheid' (CCSD), ook bekend als 'Canine Erfelijke Sensorineurale Doofheid' (CHSD) (1, 4-7). Het wordt gevonden bij verschillende rassen, maar voornamelijk bij Engelse setters, bullterriërs, whippets, Australian cattle dogs, Engelse cocker spaniëls, Catahoula's, border collies, Jack Russel terriërs en, bovenal, Dalmatische honden (4-7). In 1992 was in de VS, Amerika 21.6% van de Dalmatische honden unilateraal doof, 8.1% bilateraal (in totaal 29.7%) (8). Verhorevoort heeft in Nederland prevalenties gevonden 15.9% voor unilaterale doofheid en 4.9% voor bilaterale doofheid (in totaal 20.8%) in de periode 1995-1998 (1). Een studie uit 2004, uitgevoerd door G.M. Strain, liet een prevalentie van 29.9% zien (unilateraal en bilateraal samen) in de VS, Amerika, waarbij data zijn gebruikt van in totaal 5333 honden uit een klinische setting of bij hondenshows, van eigenaren en fokkers. (7, 9). In het Verenigd Koninkrijk is in 1997 een prevalentie van 18.4% gevonden onder 1234 Dalmatische honden die door de nationale rasvereniging zijn getest op gehoorstatus (9, 10). Een studie in Duitsland met 1899 Dalmatische honden vanuit drie verschillende rasverenigingen, waarvan de gehoorstatus is bepaald met een BAER-test, liet een prevalentie zien van 19.7% in 2003 (11).

Om de gehoorstatus van een pup te bepalen, kan er een BAER-test (Brainstem Auditory-Evoked Response test) gebruikt worden (3, 12), zie figuur 1. Deze test wordt gebruikt om een oor als 'doof' of 'niet doof' te kunnen classificeren. In Nederland wordt deze test uitgevoerd door professionals, erkend door de Raad van Beheer (13). Deze test wordt echter wereldwijd gebruikt, hoewel de uitvoering per land in meer of mindere mate kan verschillen (3, 12, 14).



Fig. 1: Dalmatische pup die een BAER-test ondergaat

Net als in Nederland, zijn er ook in andere landen richtlijnen opgesteld voor het fokken met Dalmatische honden. Deze richtlijnen pogen onder andere om de incidentie van doofheid bij Dalmatische pups te laten dalen, hoewel de regels niet overal even streng zijn (15-18). De effectiviteit van de fokprogramma's op de incidenties van CCSD is nog grotendeels onbekend. Daarentegen lijkt er wel een duidelijk effect te zijn op het wel of niet toelaten van blauwe ogen in de fokkerij: de incidentie van erfelijke doofheid bij Dalmatische honden in de VS, waar blauwe ogen zijn toegestaan, is relatief hoog (29.9% vs. 20.8% in Nederland in 2008) (1, 7, 9).

Over het algemeen wordt aangenomen dat CCSD een genetische ziekte is, maar welke genen er precies betrokken zijn is al voor een lange tijd onduidelijk. De mechanismen die precies leiden tot het ontstaan van de doofheid zijn ook nog niet geheel opgehelderd, hoewel er nog altijd onderzoek naar gedaan wordt (4, 6). Een studie uit 2002 vond dat vrouwelijke Dalmatische honden en honden met blauwe ogen een groter risico hadden op doofheid dan andere Dalmatische honden (6), hoewel andere studies geen effect kunnen vinden van het geslacht van de hond (5). De afwezigheid van 'patches' – een vlek van donkere vacht die al zichtbaar is bij de geboorte – is in verschillende studies geassocieerd met een hoger risico op doofheid (5, 6). Over het algemeen lijkt er een defect te zijn in de genetische controle over melanoblastenmigratie en -differentiatie, waardoor de melanocyten de stria vascularis in de cochlea niet kunnen bereiken (5).

Verschillende studies hebben een significante associatie gevonden tussen oogkleur, aanwezigheid van 'patches', geslacht en gehoorstatus van de ouders en het risico op doofheid. Deze associaties zijn voornamelijk bestudeerd bij de Dalmatische hond (1-4, 6, 7, 19). De link tussen de blauwe ogen en CCSD kan verklaard worden door het 'extreme white piebald' allel s^w (5, 6, 20). De S-locus, geassocieerd met het distributiepatroon van gepigmenteerde en witte vlekken in de vacht, heeft vier allelen. Het geassocieerde gen is bekend als het MITF-gen (Microphthalmie-geassocieerde Transcriptiefactor). Het S allel is dominant en niet-gevekt, ofwel 'zelf'. Het s^i allel geeft 'Irish spotting': slechts een paar witte vlekken/gebieden op de thorax, het gezicht, het hoofd en/of de voeten. Het s^p allel staat voor 'piebald spotting' en geeft meer witte vlekken en/of grotere witte gebieden (ook op de poten). Het vierde allel, het s^w allel, staat voor 'extreme white piebald' en geeft de grootste mate van witte vacht, waarbij alleen kleine vlekken op de vacht gepigmenteerd zijn (5, 7). Dalmatische honden zijn meest waarschijnlijk allemaal homozygoot voor dit s^w allel, hoewel er veel variatie is in de mate van expressie van deze allelen. De aanwezigheid van 'patches' is in verband gebracht met een lagere expressie van het s^w allel (5-7, 20).

De M-locus, een vachtpigmentatie-locus die bekend staat als de 'merle'-locus, is een andere locus die een rol speelt bij erfelijke doofheid. Honden die homozygoot zijn voor het recessieve allel (mm) hebben een uniforme pigmentatie. Heterozygote honden (Mm) zijn 'dappled': in sommige gebieden is de vacht volledig gepigmenteerd, in andere gebieden is de vacht bleek of zelfs wit. Honden die homozygoot 'merle' zijn (MM), hebben (bijna) geheel een witte vacht, en hebben een sterk verhoogd risico op doofheid, blindheid en steriliteit. Het risico op doofheid bij heterozygote honden is mede afhankelijk van welke allelen er aanwezig zijn in andere genen die bepalend zijn voor mate van pigmentatie van de vacht (1, 6, 7). Bullterriërs, Australian cattle dogs, Engelse cocker spaniëls, Catahoula's en border kunnen heterozygoot zijn voor de M-locus en hebben daardoor een verhoogd risico op doofheid ten opzichte van andere rassen. Gecorrigeerd voor oogkleur, aanwezigheid van 'patches', geslacht en gehoorstatus van de ouders, werd de erfelijkheidsgraad van CCSD in 1996 geschat op 0.21 (19), wat veronderstelt dat er veel genetische variatie is. Dit zou betekenen dat selectief fokken de incidentie van CCSD binnen de populatie zou kunnen verminderen.

Naast de genen die geassocieerd zijn met fenotypische kenmerken, zijn er ook andere genen die een rol spelen bij het voorkomen van CCSD (6). Opvallend genoeg lijkt de vachtkleur zelf geen rol te spelen bij het ontstaan van doofheid (5-7, 19). Bij sommige andere rassen dan die hierboven zijn genoemd, zoals de Dobermannpincher en de Shropshire terriër, kan CCSD ook voorkomen zonder witte gebieden/vlekken in de vacht. Aan de andere kant wordt albinisme, waarbij de melanocyten voldoende aanwezig zijn, maar het pigment melanine niet goed kunnen produceren, niet geassocieerd met doofheid (7).

In een studie uit 2013, uitgevoerd in Duitsland, zijn er verschillende CCSD-geassocieerde genotypes (SNP's) gevonden (4). Vier van deze gevonden CCSD-loci bleken dichtbij genen te liggen waarvan bekend is dat ze de melanocytenmigratie en -differentiatie en het melanosomentransport beïnvloeden. Een aantal van de CCSD-loci waren vergelijkbaar met de loci die bij de mens zijn geassocieerd met gehoorverlies, hoewel meer onderzoek nodig is om uit te kunnen vinden wat dit precies inhoudt (4). In diezelfde studie is aangetoond dat wanneer een hond ten minste een van de CCSD-geassocieerde SNP's heeft, het risico op CCSD is verhoogd. Dalmatische honden met blauwe ogen lijken vaker (specifieke) CCSD-geassocieerde SNP's te hebben dan de honden met bruine ogen. Verder is gevonden dat bilateraal dove Dalmatische honden over het algemeen meer CCSD-geassocieerde SNP's hadden dan de unilateraal dove honden (4).

Vanwege de congenitale doofheid binnen het ras, is er door de rasverenigingen voor de Dalmatische hond in verschillende landen een fokbeleid opgezet. Deze zijn er mede op gericht om de incidentie per land van erfelijke doofheid onder Dalmatische honden naar beneden te krijgen (15-18). De Nederlandse Club voor Dalmatische honden (NCDH) heeft als fokbeleid dat alleen bilateraal horende honden, zonder blauwe ogen of kopvlek, gebruikt mogen worden voor de fokkerij (1, 13). Er wordt aan fokkers geadviseerd om bilateraal dove pups te laten euthanaseren (21).

Voor meer informatie over de anatomie van het oor, melanocytenmigratie, congenitale doofheid, welzijnsimplicaties, de BAER-test, DNA-onderzoek en de rasstandaard, zie Appendix V (Engelstalig).

Doel van het onderzoek

Het doel van het onderzoek is om de effectiviteit van het huidige fokprogramma van de Nederlandse Club voor Dalmatische Honden op de cumulatieve incidentie van doofheid bij pups van het Dalmatische ras over de periode 1995 tot 2018 te evalueren. Een tweede doel is om een schatting te geven voor de sterkte van associatie tussen de aanwezigheid van CCSD en verschillende fenotypische kenmerken zoals de aanwezigheid van een kopvlek, de oogkleur, de haarkleur en het geslacht.

Materiaal en Methoden

Gegevens over doofheid in pups van het Dalmatische ras zijn verzameld door de NCDH. Deze gegevens bevatten informatie van pups die geboren zijn vanaf 1989. De gegevens tot 31-12-1994 zijn onvolledig, vanaf 1-1-1995 zijn ze grotendeels compleet. Vanaf 1995 zijn niet alle BAER-test resultaten bekend (zie tabel 1). De variabelen in de dataset zijn gehoorstatus (tweezijdig horend, eenzijdig doof of tweezijdig doof), de fenotypische kenmerken kopvlek, haarkleur en blauwe ogen, nestgrootte en het registratienummer en het land van herkomst van de ouders. De gehoorstatus is bepaald op basis van de BAER-test. De BAER-test was niet verplicht vòòr 1995 en is niet standaard toegepast in die periode. Vanaf 1995 is de BAER-test verplicht voor alle pups die geboren zijn onder verantwoordelijkheid van de NCDH als onderdeel van het fokprogramma. De BAER-test wordt afgenomen door een erkende expert onder verantwoordelijkheid van de Raad van Beheer. Echter, bij 605 dieren is de BAER-test niet bekend (zie tabel 1), deze dieren behoorden vaak tot dezelfde nesten. Deze nesten zouden volgens de NCDH niet gefokt zijn onder de verantwoordelijkheid van de NCDH.

Tabel 1: BAER-test resultaten van puppy's van het Dalmatische ras geboren binnen de NCDH voor en na 1995.

BAER testresultaat	Voor 1995		1995 – 2018	
	Aantal	Proportie	Aantal	Proportie
<i>Tweezijdig horend</i>	157	0.84	3741	0.74
<i>Doof</i>	2	0.01	166	0.03
<i>Eenzijdig horend</i>	27	0.15	549	0.11
<i>Onbekend</i>	0	0.00	605	0.12

Pups van het Dalmatisch ras die geboren zijn voor 1995 zijn uitgesloten voor de analyse omdat de BAER-test resultaten niet compleet zijn (186) en alleen de dieren bevat die gebruikt zijn voor de fokkerij. Pups zonder een NHSB-nummer (28) en pups met een moeder zonder een NHSB-registratienummer zijn ook buiten de analyse gelaten omdat deze niet in Nederland binnen de NCDH gefokt zijn. Er zijn 5247 pups aanwezig in de originele dataset en daarvan zijn 4948 pups voor de gegevensanalyse gebruikt. In deze groep bleken 4362 pups een bekende BAER-test resultaat te hebben en zijn de andere 586 pups zonder BAER-test resultaat uitgesloten.

Voor de gegevensanalyse zijn de variabelen 'blauwe ogen' en 'kopvlek' gecodeerd als aanwezig of afwezig. De haarkleur is gecodeerd als 'zwart op wit', 'bruin op wit' of 'onbekend'. De categorie 'onbekend' bevat de kleuren 'lemon', 'tricolour' respectievelijk 'onbekend' omdat deze kleuren weinig honden bevatten en hierdoor de analyse beter kan worden uitgevoerd. De variabele 'geboortjaar' is gegroepeerd in cohorts van 5-6 aaneengesloten jaren: 1995 t/m 2000, 2001 t/m 2006, 2007 t/m 2012 en 2013 t/m 2018. Het geboortjaar 2018 in de laatste cohort beslaat echter niet het gehele jaar. De variabele nestgrootte is ingedeeld in de categorieën 'minder dan 9', '9 tot 11' en 'meer dan 11' waardoor in elke categorie ongeveer een gelijk aantal puppy's aanwezig zijn. De verdeling van de nestgrootte heeft bij benadering een normale verdeling.

Een mixed effect logistisch regressie model (22) is gebruikt voor het analyseren van de uitkomst "doof". Het resultaat van de BAER-test is gecodeerd in de variabele doof zijnde eenzijdig of tweezijdig doof (code 1) of tweezijdig horend (code 0). De verklarende variabelen die gebruikt zijn bij de analyse zijn geboortecohort gebaseerd op de geboortejaren, het geslacht, de aanwezigheid van een kopvlek, de aanwezigheid van blauwe ogen, de haarkleur en de nestgrootte. Het effect van de moeder en de vader op de gehoorstatus van de pup is in het model opgenomen als een random effect. Allereerst is per verklarende variabele een univariabele logistische regressie voor onafhankelijke waarnemingen uitgevoerd en daarbij een odds ratio geschat voor elke afzonderlijke variabele. Vervolgens is een univariabele logistische regressie gebruikt inclusief random effecten voor de moeder en de vader omdat pups binnen een nest meer op elkaar lijken dan pups van verschillende nesten. De laatste analyse was een multivariabele logistische regressie waarin alle variabelen tezamen zijn opgenomen waarbij de gecorrigeerde odds ratio's zijn berekend. Odds ratio's en bijbehorende 95% betrouwbaarheidsintervallen zijn een schatting voor de sterkte van de associatie tussen de uitkomst (doof) en de verschillende verklarende variabelen.

Bij 61 honden was het geslacht onbekend. Van deze honden waren 60 honden tweezijdig doof. Om deze honden toch te kunnen gebruiken in de analyse is willekeurig een geslacht aan deze honden toegewezen in dezelfde ratio als de teef/reu ratio bij de dove honden (14:12). Na deze aanpassing kon het multivariabele model niet worden toegepast met alle variabelen tezamen. De variabelen 'vachtkleur' en 'nestgrootte' zijn uit het model weggelaten, omdat deze van ondergeschikte interesse zijn.

De gegevens zijn geanalyseerd met het programma R versie 3.4.2 (22).

Resultaten

Van de 4362 pups die zijn geanalyseerd (Tabel 1), zijn de meeste pups geboren in de periode 1995 tot en met 2000 (zie Figuur 2). Over het algemeen is er een daling zichtbaar in de proportie dove pups per jaar over de jaren heen (zie Figuur 3), van een proportie dove pups van 0.19 in 1995 tot een proportie van 0.08 in 2017. Een afname in de cumulatieve incidentie van doofheid is ook zichtbaar voor unilaterale doofheid (zie Figuur 4), maar is minder duidelijk zichtbaar voor bilaterale doofheid, vanwege een piek in 2015 (zie Figuur 5).

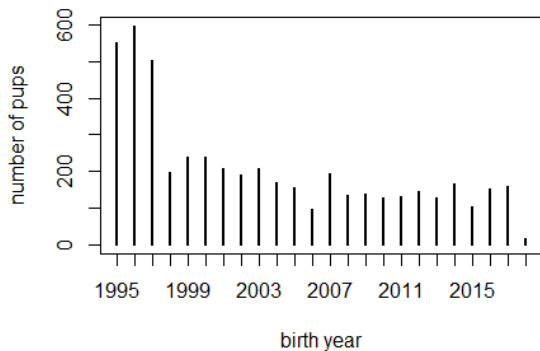


Fig. 2: Aantal pups dat per jaar wordt geboren

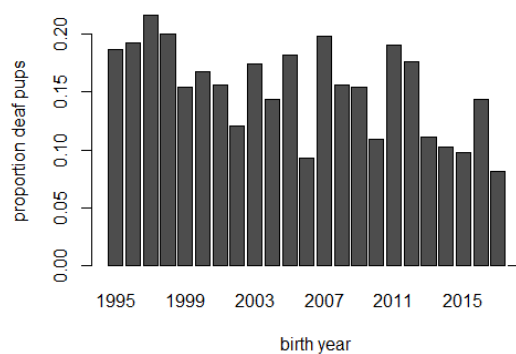


Fig. 3: Proportie dove pups (uni- en bilateraal) per geboortjaar

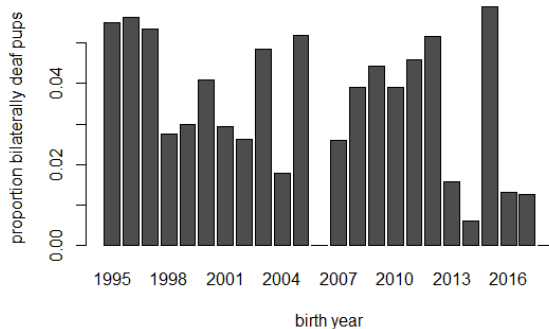


Fig. 4: Proportie unilateraal dove pups per geboortjaar

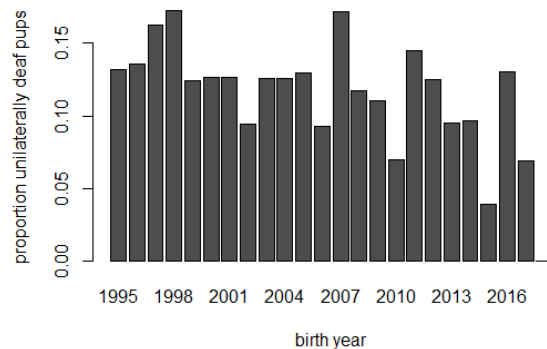


Fig. 5: Proportie bilateraal dove pups per geboortjaar

Tabel 2 geeft een samenvatting van doofheid in de verschillende categorieën van mogelijke risicofactoren. Het percentage pups dat unilateraal of bilateraal doof is, is in de eerste geboorteperiode (1995 tot en met 2000) ongeveer 19%. In de laatste geboorteperiode is dit 11%. Ongeveer 16% van de vrouwelijke pups is doof, tegenover ongeveer 13% van de mannelijke pups. Ongeveer 4% van alle pups heeft blauwe ogen en ongeveer 8% heeft een kopvlek. De meeste pups hebben een zwart op witte vachtkleur (74%), terwijl de kleurvarianten lemon en driekleur zeldzaam zijn (afgerond 0%). De meeste pups komen uit een nest van 9 tot 11 pups (40%).

Tabel 2: Kruistabellen en odds ratio's van het univariabele model dat doofheid associeert met de mogelijke risicofactoren geboorteperiode, geslacht, kopvlek, blauwe ogen, vachtkleuren en nestgrootte, waarbij gebruikt is gemaakt van een logistisch regressiemodel.

	Percentage per categorie*		Bilateraal horend		Unilateraal horend		Bilateraal doof		Doof (eenzijdig of tweezijdig)		
									Odds Ratio	95% Betrouwbaar- heidsinterval	
							Onder- grens	Boven- grens			
	%	n	%	n	%	n	%	n			
Geboorteperiode											
1995 – 2000	47	(1769)	81	(1434)	14	(250)	5	(85)	1	Ref	
2001 – 2006	24	(1020)	85	(868)	12	(120)	3	(32)	0.8	0.6	0.9
2007 – 2012	19	(851)	83	(709)	13	(108)	4	(34)	0.8	0.7	1.1
2013 – 2018	17	(722)	89	(646)	9	(63)	2	(13)	0.5	0.4	0.7
Geslacht											
Mannelijk	52	(2248) ²	86	(1944) ¹	11	(250) ¹	2	(54) ¹	1	Ref	
Vrouwelijk	47	(2053) ²	83	(1712)	14	(291)	2	(50)	1.3	1.1	1.5
Onbekend	1	(61) ²	2	(1)	0	(0)	98	(60)	383.7	84.2	6793.2
Kopvlek											
Niet aanwezig	92	(4030)	83	(3337)	13	(530)	4	(163)	1	Ref	
Aanwezig	8	(332)	96	(320)	3	(11)	0	(1)	0.2	0.1	0.3
Blue eyes											
Niet aanwezig	96	(4205)	84	(3532)	12	(512)	4	(161)	1	Ref	
Aanwezig	4	(157)	80	(125)	18	(29)	2	(3)	1.3	0.9	2.0
Vachtkleur											
Zwart op wit	74	(3224)	85	(2748)	13	(418)	2	(58)	1	Ref	
Bruin op wit	23	(1012)	86	(870)	12	(122)	2	(20)	0.9	0.8	1.2
Lemon	0	(17)	88	(15)	6	(1)	6	(1)	0.8	0.1	2.7
Driekleur	0	(1)	100	(1)	0	(0)	0	(0)	**		
Onbekend	2	(108)	21	(23)	0	(0)	79	(85)	21.4	13.6	34.9
Nestgrootte											
Minder dan 9	28	(1205)	82	(987)	15	(183)	3	(35)	1	Ref	
9 tot 11	44	(1922)	85	(1635)	11	(217)	4	(70)	0.8	0.7	0.96
Meer dan 11	28	(1234)	84	(1034)	11	(141)	5	(59)	0.9	0.7	1.1
Onbekend	0	(1)	100	(1)	0	(0)	0	(0)	**		

¹ som van de percentages van doofheid binnen een categorie van een risicofactor is 1

² som van de percentages per categorie binnen een risicofactor is 1

* = proportie binnen een factor

Ref = Referentiecategorie

** = niet berekend door gebrek aan data

Resultaten van het univariabele model (Tabel 2) laten zien dat geboorteperiode een effect heeft op de proportie dove pups: voor de periodes 2001 tot en met 2006 (OR= 0.8, 95%BI: 0.6; 0.9) en 2013 tot en met 2018 (OR=0.5, 95%BI: 0.4; 0.7) is dit significant lager dan in de eerste geboorteperiode. Vrouwelijke pups hebben een 1.3 keer hoger risico (95%BI 1.1; 1.5) op doofheid dan mannelijke pups. Verder heeft een pup met een kopvlek 0.2 keer het risico op doofheid dan een pup zonder kopvlek, wat significant minder is (OR=0.2, 95%BI: 0.1; 0.3). Blauwe ogen en vachtkleur lijken geen aantoonbaar effect te hebben op het risico op doofheid. Pups van een gemiddelde nestgrootte (9 tot 11 pups) lijken minder risico te hebben op doofheid dan

pups van kleine nesten (OR=0.8, 95%BI: 0.7; 0.96). De data over de nestgrootte waren echter in sommige gevallen niet compleet of niet accuraat (zie Appendix IV).

Tabel 3: Aanwezigheid van een kopvlek

Kopvlek			
Aanwezig (zijde onbekend)	Beiderzijds	Links	Rechts
178	21	68	66

Tabel 4: Aanwezigheid van blauwe ogen

Blauwe ogen			
Aanwezig (zijde onbekend)	Beiderzijds	Links	Rechts
78	12	42	27

Tabel 5: Resultaten van het univariabele model dat doofheid associeert met geboorteperiode, geslacht, kopvlek, blauwe ogen, vachtkleur en nestgrootte, respectievelijk, inclusief random effecten voor de vader en moeder, waarbij er gebruik is gemaakt van een lineair mixed effects logistisch regressiemodel.

	Odds Ratio	95% Betrouwbaarheidsinterval	
		Ondergrens	Bovengrens
Geboorteperiode			
1995 – 2000 (Ref)	1		
2001 – 2006	0.7	0.5	1.1
2007 – 2012	0.8	0.5	1.2
2013 – 2018	0.5	0.3	0.8
Geslacht			
Mannelijk (Ref)	1		
Vrouwelijk	1.3	1.1	1.6
Kopvlek			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.2	0.1	0.4
Blauwe ogen			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	1.3	0.8	2.0
Vachtkleur			
Zwart op wit (Ref)	1		
Bruin op wit	1.0	0.8	1.3
Anders	**		
Nestgrootte			
Minder dan 9 (Ref)	1		
9 tot 11	0.8	0.6	1.01
Meer dan 11	0.8	0.5	1.1

Ref = referentiecategorie

** = niet berekend vanwege onnauwkeurige schatting

Van ongeveer de helft dan de honden die een kopvlek hebben, is onbekend aan welke kant(en) de kopvlek aanwezig is (178 van 332 honden, zie Tabel 3 en 5). Van de honden waarbij de zijde van de kopvlek wel bekend is (155), zijn er ongeveer evenveel honden met de kopvlek rechts als met de kopvlek links (42.6% en 43.9%, respectievelijk). Een kopvlek aan beide kanten komt minder vaak voor (13.5%). Bij ongeveer de helft van de honden met blauwe ogen (78 van de 157 honden, zie Tabel 4 en 5), is de kant van het blauwe oog (of de blauwe ogen) onbekend. Van de honden waarbij de kant wel bekend is, is een blauw oog links het meest voorkomend (51.9% links vergeleken met 33.3% rechts). Twee blauwe ogen komt minder vaak voor (14.8%).

Tabel 5 laat de resultaten zien van een univariabel model waar de random effecten van de ouders in verwerkt is. In dit model gold alleen voor de geboorteperiode 2013 tot en met 2018 dat het risico op doofheid significant is verminderd ten opzichte van de eerste periode. Vrouwelijk pups hebben een 1.3 keer hoger risico op doofheid dan mannelijke pups (OR=1.3, 95%BI: 1.1; 1.6) en pups met een kopvlek hebben 5 keer minder risico op doofheid dan pups zonder kopvlek (OR=0.2, 95%BI: 0.1; 0.4). Blauwe ogen, vachtkleur en nestgrootte hebben geen significant effect op het risico op doofheid in dit model.

Tabel 6: Samenvatting van de resultaten van het multivariabele model dat doofheid associeert met geboorteperiode, geslacht, kopvlek en blauwe ogen, inclusief random effecten van de vader en moeder, waarbij gebruik is gemaakt van een lineair mixed effects logistisch regressiemodel.

	Odds Ratio	95% Betrouwbaarheidsinterval	
		Ondergrens	Bovengrens
Geboorteperiode			
1995 – 2000 (Ref)	1		
2001 – 2006	0.8	0.5	1.1
2007 – 2012	0.8	0.5	1.3
2013 – 2018	0.5	0.3	0.8
Geslacht			
Mannelijk (Ref)	1		
Vrouwelijk	1.3	1.1	1.5
Kopvlek			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.2	0.1	0.4
Blauwe ogen			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.9	0.5	1.4

Ref = referentiecategorie

In een multivariabel model, inclusief random effecten van de vader en moeder en de hercodeerde variabele 'geslacht', is er in de laatste geboorteperiode een significant lager risico op doofheid bij pups dan in de eerste periode (OR=0.5, 95%BI: 0.3; 0.8) en zorgt de aanwezigheid van een kopvlek bij de pup voor een 5 keer lager risico op doofheid dan bij pups zonder kopvlek (OR= 0.2, 95%BI: 0.1; 0.4) (zie Tabel 6). Vrouwelijke pups hebben een hoger risico op doofheid dan mannelijke pups (OR=1.3, 95%BI: 1.1; 1.5). Blauwe ogen lijken geen significant effect te hebben op het risico op doofheid.

De geschatte waardes voor de random effecten van de vaders en moeders uit het multivariabele model zijn gepresenteerd in Figuur 6 en 7, respectievelijk. De geschatte random effecten geven een indicatie voor het risico op doofheid dat een pup heeft vanwege de moeder en vader, gebaseerd op de cumulatieve incidentie van doofheid onder hun andere pups. Een positieve waarde geeft aan dat er een hoger risico is op doofheid bij

hun nakomelingen, een waarde van ongeveer 0 geeft aan dat er een gemiddeld risico is op doofheid bij de nakomelingen en een negatieve waarde geeft aan dat de nakomelingen een lager risico hebben op doofheid. Een lijst van de random effecten voor teven en reuen geboren na 2012 is te vinden in Appendix II.

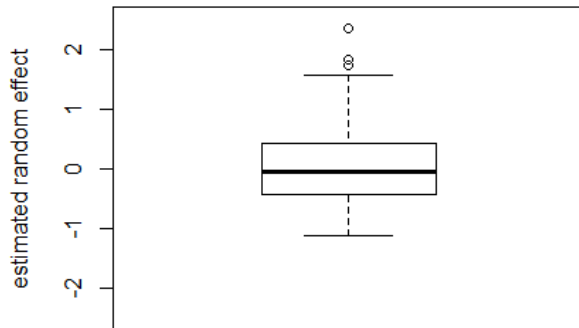


Fig. 6: Boxplot van de geschatte random effecten op een log odds schaal voor reuen

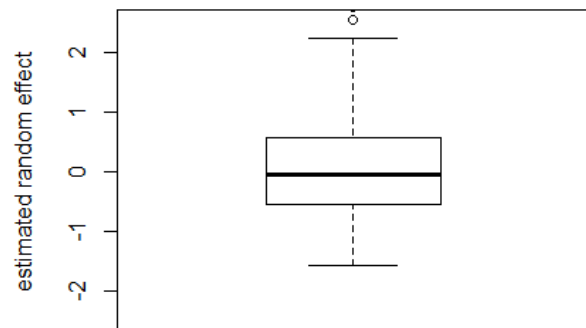


Fig. 7: Boxplot van de geschatte random effecten op een log odds schaal voor teven

Met de random effecten van de vaders en moeders kan een schatting gemaakt worden voor het risico op doofheid bij (potentiële) pups van een bepaalde oudercombinatie. Pups zonder kopvlek van een combinatie van twee hoog-risico ouders hebben een waarschijnlijkheid van meer dan 30% om doof te zijn, terwijl pups zonder kopvlek van twee laag-risico ouder een waarschijnlijkheid van doofheid heeft van minder dan 3% (zie Appendix III). Pups met een kopvlek hebben een waarschijnlijkheid van 9 tot 12% om doof te zijn bij een combinatie van twee hoog-risico ouder, terwijl dat bij een combinatie van twee laag-risico ouders minder is dan 1%.

Discussie

In deze studie is een grote dataset gebruikt om de cumulatieve incidentie van doofheid over de tijd te bestuderen en om de sterkte van de associatie tussen doofheid en verschillende risicofactoren bij de Dalmatische hond te bepalen. In grote lijnen is er een afname van de cumulatieve incidentie van doofheid over de jaren van 19% in de eerste jaren tot 10% in de laatste jaren. Een vergelijkbare trend is gevonden voor unilaterale en bilaterale doofheid apart (zie Appendix I). In alle modellen was deze afname significant voor de laatste geboorteperiode (2013 tot en met 2018). Het risico op doofheid is voor vrouwelijke pups groter dan voor mannelijke pups. Verder heeft een kopvlek een duidelijk risico verlagend effect op doofheid: het risico op doofheid is ongeveer 5 keer zo klein als voor pups zonder kopvlek. Dit effect is significant in alle modellen. Blauwe ogen lijken daarentegen geen significant effect te hebben op het risico op doofheid, gelijk voor alle modellen.

De afname in cumulatieve incidentie van doofheid bij Dalmatische honden was verwacht, omdat in 1995 de BAER-test verplicht is gemaakt voor pups, als onderdeel van het nieuwe fokbeleid (13, 23). In dit onderzoek is een daling in de cumulatieve incidentie van doofheid gevonden voor iedere onderzochte geboorteperiode, wat duidt op een gunstig effect van het nieuwe fokbeleid, waarbij alleen gefokt mag worden met honden die volgens de BAER-test bilateraal horend zijn. Het effect had echter groter kunnen zijn, als een kopvlek

toegelaten zou zijn geweest in de fokkerij. Volgens de FCI-standaard zijn kopvlekken 'niet gewenst' (24). Doofheid daarentegen wordt gezien als 'diskwalificerende eigenschap'. Het toelaten van een kopvlek in de fokkerij zou tot een verdere daling van de cumulatieve incidentie van doofheid bij Dalmatische honden kunnen leiden, wat een van de voornaamste doelen is van het fokprogramma.

In deze studie is gevonden dat het geslacht een significant effect heeft op het risico op doofheid, hoewel in andere studies alleen een trend is gevonden (niet significant) (1-7, 19). In dit onderzoek is een cumulatieve incidentie van doofheid bij vrouwelijke dieren gevonden die 3% hoger is dan bij mannelijke dieren. Er is een relatief grote groep honden onderzocht, wat een verklaring zou kunnen zijn waardoor er in deze studie wel een significant effect is gevonden en in andere niet, waarbij minder honden hebben gebruikt en mogelijk te maken hebben gehad met een selectie-bias. Van 61 honden was het geslacht onbekend, deze honden hebben willekeurig een geslacht toegewezen gekregen, gebaseerd op de verhouding in doofheid tussen reuen en teven. Dit kan een effect hebben gehad op de geschatte odds ratio voor geslacht. Het kan zijn dat de verhouding reuen en teven in de groep honden met onbekend geslacht (waarvan er 60 doof waren) anders was dan de verhouding doofheid in honden waarvan het geslacht bekend was (informatie-bias). Dit zou kunnen betekenen dat vrouwelijke dieren een nog hoger risico hebben op doofheid (als er meer vrouwelijke dieren in de groep zaten dan geschat), maar kan ook betekenen dat er in werkelijkheid geen geslachtspredispositie is (als er meer mannelijke dieren in de groep zaten dan geschat).

De aanwezigheid van een kopvlek en blauwe ogen zijn beide vanuit de literatuur bekend dat ze een effect hebben op het risico op doofheid (1, 5-7, 19). Hoewel dat in deze studie voor de kopvlek ook gevonden is, is er geen significant effect van blauwe ogen gezien. Dit kan zijn door de lage prevalentie van blauwe ogen of door de correlatie tussen blauwe ogen en de kopvlek, waarbij geldt dat de kans op blauwe ogen lager is bij de aanwezigheid van een kopvlek (1-4, 6, 7, 19, 20). Blauwe ogen kunnen wijzen op een gebrek aan melanocyten in de regio van het hoofd, terwijl een kopvlek juist kan wijzen op een grote hoeveelheid melanocyten in die regio. Wanneer er veel melanocyten zijn in de regio van het hoofd, is de kans dat de melanocyten ook naar het binnenoer zijn gemigreerd groter dan wanneer er in die regio weinig melanocyten aanwezig zijn. De pathogenese van erfelijke doofheid bestaat uit het gebrek aan migratie van melanocyten naar het binnenoer. Dit komt overeen met risico verlagende effect dat een kopvlek heeft, zoals ook gevonden in deze studie.

Bij Australian cattle dogs is er een significant effect gevonden van de kant van de kopvlek of een blauw oog en de kant van de doofheid bij unilaterale doofheid. In dit onderzoek kon deze associatie echter niet worden getest, vanwege het gebrek aan data over de kant van de kopvlek en de kant van het blauwe oog (wanneer eenzijdig aanwezig).

Bij het schatten van de random effecten van de vaders en moeders valt op dat sommige ouders een kleiner risico lopen op krijgen van dove pups dan de gemiddelde ouder (negatieve waarde), terwijl andere ouders een groter risico lopen dan gemiddeld (positieve waarde). Uit literatuur blijkt dat de gehoorstatus van de ouders effect heeft op het risico op doofheid bij de pups (1-4, 6, 7, 19). Omdat het ras van de Dalmatische hond een relatief klein ras is (ongeveer 20 nesten per jaar), zijn er relatief weinig Nederlandse honden die gebruikt worden voor de fok. Dit leidt tot een kleine genetische basis bij de teven, aangezien teven minder vaak dan reuen uit het buitenland worden geïmporteerd. Er is echter weinig bekend over hoe de incidenties van doofheid was bij de pups van buitenlandse reuen. Deze reuen kunnen een (positief of negatief) effect hebben op de cumulatieve incidenties van doofheid bij Nederlandse Dalmatische pups.

De Nederlandse Club voor Dalmatische Honden (NCDH) adviseert fokkers om bilateraal dove pups in te laten slapen. Zij beweren dat bilateraal dove honden een substantieel minder goed welzijn hebben dan horende honden (21). Dove honden hebben een hogere kans op verwonden en schrikken sneller dan horende honden, wat kan resulteren in ongewenst, angstig gedrag. Daarnaast kan het euthanaseren van een dove pup erg belastend zijn voor zowel de eigenaar als de betrokken dierenarts, vooral omdat deze pups over het algemeen verder geheel gezond zijn. Verder geldt dat hoewel het erg waarschijnlijk is dat dove honden een verminderd welzijn hebben ten opzichte van horende honden, er geen bewijs te vinden is in de literatuur dat dit zo zou zijn,

of in welke mate. Dit onderstreept het belang van een goed fokbeleid dat erop is gericht om doofheid bij pups zo veel mogelijk te voorkomen.

Hoewel de gehele Nederlandse populatie van Dalmatische honden die bij de NCDH zijn geregistreerd is meegenomen in deze studie, ontbraken er een aantal data en waren sommige data inaccuraat. Voor 1995 was de BAER-test nog niet verplicht, maar ook na 1995 zijn er van een aantal pups geen BAER-testresultaten opgenomen in de dataset. Het valt op dat dit vooral pups zijn uit nesten van de eerste paar jaar na het invoeren van het nieuwe fokbeleid. Uit persoonlijke communicatie met de NCDH bleek dat de pups waarvan de BAER-testresultaten niet in de dataset staan, gefokt zijn door fokkers die niet aangesloten waren bij de NCDH. Echter geldt wel dat, omdat er vooral BAER-testresultaten missen van pups die net na 1995 geboren zijn, er mogelijk sprake is van een informatie-bias in deze studie (grotere afname in het risico op doofheid gevonden dan die er werkelijk is). Verder kan de voor sommige pups incomplete of inaccurate data over de nestgrootte implicerend zijn voor de kwaliteit van de dataset. Deze onregelmatigheden kunnen deels verklaard worden door de manier waarop de pups worden geregistreerd: het aantal pups dat in een nest wordt geboren kan, vanwege mortaliteit in de eerste zes weken, hoger zijn dan het aantal pups per nest dat wordt aangeboden voor een BAER-test (zie Appendix IV).

Het laatste model (zie Tabel 6) kon niet worden uitgebreid met de variabelen 'vachtkleur' en 'nestgrootte'. In de andere modellen is maar een klein effect gevonden van de nestgrootte op het risico op doofheid en is er geen effect gevonden van de vachtkleur. In de literatuur kon geen bewijs gevonden worden voor een mogelijke associatie tussen nestgrootte en vachtkleur en het risico op doofheid (5-7, 19).

Om het risico op doofheid bij Dalmatische pups verder te verlagen kan er gebruikt gemaakt worden van DNA-technieken gebaseerd op genetische variatie. DNA-monsters zouden van iedere potentiële ouderhond genomen kunnen worden om op basis van deze technieken een goede match te kunnen maken tussen reu en teef. Dit zou tot meer genetische variatie in de populatie kunnen leiden, wat weer zou kunnen leiden tot een verdere afname van het risico op CCSD bij de pups. In de toekomst kunnen mogelijk genetische tests gebaseerd op SNP's een rol gaan spelen. In dat geval kunnen potentiële ouderdieren worden gescreend op de aanwezigheid van CCSD-geassocieerde SNP's en kan er op basis van het aantal en de genetische plaatsen van deze SNP's een match gemaakt worden.

Conclusie

Sinds het nieuwe fokbeleid van de NCDH (waarbij iedere pup een BAER-test moet ondergaan), is de cumulatieve incidentie van CCSD bij Dalmatische honden afgenomen van ongeveer 19% tot 10%. Voor unilaterale en bilaterale doofheid apart is ook een significante afname gevonden. Het fokbeleid heeft dan ook bewezen effectief te zijn. Het risico op doofheid had echter nog verder verlaagd kunnen worden, als de aanwezigheid van (een bepaalde mate van) een kopvlek toegestaan zou zijn in de fokkerij.

Om de cumulatieve incidentie van doofheid bij Dalmatische honden in de toekomst verder naar beneden te laten gaan, moeten er aanvullende maatregelen genomen worden. Om reuen en teven te kiezen voor de fok die onderling zo veel mogelijk genetisch verschillend zijn, kan er gebruikt gemaakt worden van genetische tests die de genetische variatie (in teeltcoëfficiënt) bepalen. De fokwaardes van de ouders (waarvan de geschatte random effecten in deze studie een zeer ruwe vorm zijn) kunnen ook worden gebruikt. In de toekomst kunnen er mogelijk tests gebaseerd op CCSD-geassocieerde SNP's worden gebruikt en kan er op die manier een match worden gemaakt tussen bepaalde ouderdieren. Een andere maatregel die het risico op doofheid verder zou verlagen, is het toelaten van (een bepaalde mate van) een kopvlek in de fokkerij, omdat honden met een kopvlek een duidelijk lager risico op doofheid hebben dan honden zonder.

Gebruikte literatuur

Referenties

1. Verhorevoort, A. J. M. M. Doofheid bij Dalmatische honden. Vakgroep Geneeskunde van Gezelschapsdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht. 1999.
2. Rawitz B. Gehörorgan und Gehirn eines weissen Hundes mit blauen Augen. Morphologische Arbeiten. 1896 Jan; 6(3):545-54.
3. Mair IW. Hereditary deafness in the dalmatian dog. Archives of oto-rhino-laryngology. 1976 Feb; 212(1):1-14.
4. Susanne Kluth, Ottmar Distl. Congenital Sensorineural Deafness in Dalmatian Dogs Associated with Quantitative Trait Loci. PLoS One. 2013 Dec; 8(12): e80642.
5. Susan F Sommerlad, John M Morton, Mekonnen Haile-Mariam, Isobel Johnstone, Jennifer M Seddon, Caroline A O'Leary. Prevalence of congenital hereditary sensorineural deafness in Australian Cattle Dogs and associations with coat characteristics and sex. BMC Veterinary Research. 2012 Jan; 8(1):202.
6. Juraschko K, Meyer-Lindenberg A, Nolte I, Distl O. Analysis of systematic effects on congenital sensorineural deafness in German Dalmatian dogs. The Veterinary Journal. 2002; 166(2):164-9.
7. Strain GM. Deafness prevalence and pigmentation and gender associations in dog breeds at risk. The Veterinary Journal. 2004; 167(1):23-32.
8. Strain GM, Kearney MT, Gignac IJ, Levesque DC, Nelson HJ, Tedford BL, et al. Brainstem auditory-evoked potential assessment of congenital deafness in Dalmatians: associations with phenotypic markers. Journal of veterinary internal medicine. 1992 May; 6(3):175-82.
9. Rak SG, Distl O. Congenital sensorineural deafness in dogs: a molecular genetic approach toward unravelling the responsible genes. The Veterinary Journal. 2005; 169(2):188-96.
10. Wood JLN, Lakhani KH. Prevalence and prevention of deafness in the Dalmatian—Assessing the effect of parental hearing status and gender using ordinary logistic and generalized random litter effect models. The Veterinary Journal. 1997; 154(2):121-33.
11. Juraschko K, Meyer-Lindenberg A, Nolte I, Distl O. A regressive model analysis of congenital sensorineural deafness in German Dalmatian dogs. Mamm Genome. 2003 Aug; 14(8):547-54.
12. Wilson WJ, Mills PC. Brainstem auditory-evoked response in dogs. American Journal of Veterinary Research. 2005 Dec; 66(12):2177-87.
13. Nederlandse club voor Dalmatische honden (since 1974); [Internet]; 2014 [cited 02-07-2018]. Available from: <http://www.ncdh.nl>.
14. Gonçalves R, Freeman J, Penderis J. The Use of Contralateral Masking Noise in the Detection of Unilateral Deafness in Dalmatian Puppies. Journal of Veterinary Internal Medicine. 2008 Jan; 22(1):234-7.
15. The British Dalmatian Club; [Internet]. 2018 [cited 10-07-2018]. Available from: <http://www.britishdalmatianclub.org.uk/>.

16. Deutscher Dalmatiner Club; [Internet]. [cited 10-07-2018]. Available from: <http://www.dalmatiner-ddc.de/>.
17. The Dalmatian Club of America Foundation (DCAF); [Internet]; [cited 10-07-2018]. Available from: <http://www.dcaf.org>.
18. The Dalmatian Club of Victoria, Australia; [Internet]; 2010 [cited 10-07-2018]. Available from: <http://dalmatian.asn.au/>.
19. Famula TR, Oberbauer AM, Sousa CA. A threshold model analysis of deafness in Dalmatians. *Mammalian genome: official journal of the International Mammalian Genome Society*. 1996 Sep; 7(9):650-3.
20. Liesbeth Sikken, Roos Vogelzang. Congenital Sensorineural Deafness in Dalmatian Dogs. Case companion animals. 2008.
21. Rollin BE, Lunetta L. An ethicist's commentary on euthanizing deaf Dalmatian puppies. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*. 2000 Jun; 41(6):438.
22. Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*. 2015; 67(1):1-48.
23. Lahaye JA, Kerssemeijer C, inventors; Werkgroep Fokkerij & Gezondheid, Nederlandse Club voor Dalmatische Honden, assignee. Format Verenigingsfokreglement. 2013 January
24. FCI-Standard Nr. 153 Dalmation [Internet]; 2011 [updated 30-5-2019; cited 11-11-2019]. Available from: <http://www.fci.be/Nomenclature/Standards/153g06-en.pdf>.
25. Harvey RG, ter Haar G. Ear, Nose and Throat Diseases of the Dog and Cat. Milton: CRC Press; 2016.
26. Cunningham JG, Klein BG. Cunningham's textbook of veterinary physiology. 5. ed. ed. St. Louis, Mo: Elsevier/Saunders; 2013.
27. Hyttel P, Sinowatz F, Vejlsted M. Essentials of Domestic Animal Embryology. GB: Elsevier Health Science; 2010.
28. Tachibana M. Cochlear Melanocytes and MITF Signaling. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2001 Nov; 6(1):95-8.
29. Sandøe P, Corr S, Palmer C. Companion Animal Ethics. GB: Wiley-Blackwell; 2016.
30. Strain GM, Courtesy of Don W. Fawcett, MD. Canine Deafness. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2012 Nov; 42(6):1209-24.
31. Cole LK. Anatomy and physiology of the canine ear. *Veterinary dermatology*. 2009 Oct; 20(5-6):412-21.

Appendix I: Unilaterale en bilaterale doofheid

Unilaterale doofheid

Tabel 7: Samenvatting van de resultaten van het univariabele model dat unilaterale doofheid met geboorteperiode, geslacht, kopvlek, blauwe ogen, vachtkleur en nestgrootte associeert, inclusief random effecten van de vader en moeder, waarbij er gebruik is gemaakt van een lineair mixed effects logistisch regressiemodel.

	Odds Ratio	95% Betrouwbaarheidsinterval	
		Ondergrens	Bovengrens
Geboorteperiode			
1995 – 2000 (Ref*)	1		
2001 – 2006	0.6	0.4	0.9
2007 – 2012	0.8	0.5	1.2
2013 – 2018	0.3	0.1	0.6
Geslacht			
Mannelijk (Ref)	1		
Vrouwelijk	1.4	1.1	1.7
Kopvlek			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.3	0.1	0.5
Blauwe ogen			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	1.2	0.7	1.9
Vachtkleur			
Zwart op wit (Ref)	1		
Bruin op wit	1.0	0.8	1.3
Anders	0.2	0.0	1.8
Nestgrootte			
Minder dan 9 (Ref)	1		
9 tot 11	0.7	0.6	0.9
Meer dan 11	0.7	0.6	0.9

* Ref = referentie categorie

Tabel 8: Samenvatting van de resultaten van het multivariabele model dat unilaterale doofheid met geboorteperiode, geslacht, kopvlek en blauwe ogen associeert, inclusief random effecten van de vader en moeder, waarbij er gebruik is gemaakt van een lineair mixed effects logistisch regressiemodel.

	Odds Ratio	95% Betrouwbaarheidsinterval	
		Ondergrens	Bovengrens
Geboorteperiode			
1995 – 2000 (Ref*)	1		
2001 – 2006	0.8	0.5	1.2
2007 – 2012	0.9	0.6	1.3
2013 – 2018	0.6	0.4	0.95
Geslacht			
Mannelijk (Ref)	1		
Vrouwelijk	1.4	1.1	1.7
Kopvlek			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.3	0.1	0.5
Blauwe ogen			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	1.3	0.8	2.0

* Ref = referentie categorie

Bilateral deafness

Tabel 9: Samenvatting van de resultaten van het univariabele model dat bilaterale doofheid met geboorteperiode, geslacht, kopvlek, blauwe ogen, vachtkleur en nestgrootte associeert, inclusief random effecten van de vader en moeder, waarbij er gebruik is gemaakt van een lineair mixed effects logistisch regressiemodel.

	Odds Ratio	95% Betrouwbaarheidsinterval	
		Ondergrens	Bovengrens
Geboorteperiode			
1995 – 2000 (Ref*)	1		
2001 – 2006	0.6	0.4	0.9
2007 – 2012	0.8	0.5	1.2
2013 – 2018	0.3	0.2	0.6
Geslacht			
Mannelijk (Ref)	1		
Vrouwelijk	1.1	0.8	1.6
Kopvlek			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.1	0.0	0.3
Blauwe ogen			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.5	0.1	1.4
Vachtkleur			
Zwart op wit (Ref)	1		
Bruin op wit	1.1	0.7	1.8
Anders	**		
Nestgrootte			
Minder dan 9 (Ref)	1		
9 tot 11	1.2	0.8	1.8
Meer dan 11	1.6	1.1	2.5

* Ref = referentie categorie

** = niet berekend vanwege onnauwkeurige schatting

Table 10: Samenvatting van de resultaten van het multivariabele model dat bilaterale doofheid met geboorteperiode, geslacht, kopvlek en blauwe ogen associeert, inclusief random effecten van de vader en moeder, waarbij er gebruikt is gemaakt van een lineair mixed effects logistisch regressiemodel.

	Odds Ratio	95% Betrouwbaarheidsinterval	
		Ondergrens	Bovengrens
Geboorteperiode			
1995 – 2000 (Ref*)	1		
2001 – 2006	0.6	0.3	1.2
2007 – 2012	0.8	0.4	1.7
2013 – 2018	0.3	0.1	0.7
Geslacht			
Mannelijk (Ref)	1		
Vrouwelijk	1.2	0.8	1.7
Kopvlek			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.1	0.0	0.7
Blauwe ogen			
Niet aanwezig (Ref)	1		
Aanwezig	0.2	0.1	0.8

*Ref = referentie categorie

Samenvatting

De cumulatieve incidentie van zowel unilaterale als bilaterale doofheid neemt af over de jaren, significant voor de periodes 2001 tot en met 2006 en 2013 tot en met 2018. Teven zijn 1.4 keer meer waarschijnlijk om unilateraal doof te zijn en 1.1-1.2 keer zo waarschijnlijk om bilateraal doof te zijn als reuen. Blauwe ogen lijken geen significant effect te hebben op unilaterale of bilaterale doofheid. Het hebben van een kopvlek maakt het significant minder waarschijnlijk om unilateraal of bilateraal doof te zijn. De nestgrootte lijkt geen significant effect te hebben op bilaterale doofheid, maar lijkt wel een significant effect te hebben op unilaterale doofheid: in een groter nest lijken de pups minder waarschijnlijk unilateraal doof te zijn.

Appendix II: Geschatte random effecten van de ouders van pups geboren na 2012

In de tabellen 11 en 12 staan de geschatte random effecten voor de reuen en teven die pups hebben gehad na 1-1-2012. Een positieve waarde geeft aan dat er een hoger risico is op doofheid bij hun pups, een waarde van ongeveer 0 geeft een gemiddeld risico op doofheid bij de pups aan en een negatieve waarde geeft aan dat er een lager risico is op doofheid bij de pups. In dit geval geldt: hoe negatiever de waarde, hoe voordeliger het is wat betreft het risico op doofheid bij de pups.

Tabel 11: Geschatte random effecten voor de moeders van pups geboren na 1-1-2012. Een negatievere waarde betekent een lager genetisch risico op doofheid en een positievere waarde betekent een hoger genetisch risico op doofheid.

Registratienummer					Moeders
Geschatte Random effect					
NHSB25*	NHSB25	NHSB26	NHSB26	NHSB26	NHSB26
0.53284840	1.13715924	-0.57136545	0.38159955	0.35759594	0.33327828
NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27
1.74570437	0.24533048	-1.06946406	-0.19263673	0.81136020	-0.95571025
NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27
0.84585793	-0.78429624	-0.43986116	-0.27354224	0.57725075	0.91092572
NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27
-0.19363335	-0.33891393	-0.71434439	-1.60675286	-0.11142761	-0.55426114
NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB28	NHSB28
-0.84109603	0.21612478	0.56187341	0.32472605	-0.37802975	-1.33434217
NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28
-0.13316289	-0.55166730	-0.43704579	0.34241658	0.13480442	-0.48131778
NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28
0.33440686	-0.66413519	-0.74554196	1.07953711	-0.56744624	0.46385336
NHSB28	NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB29
-0.47361078	0.11940568	-0.36812582	-0.55903540	-0.78196116	-0.05973976
NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB29
-0.77358950	0.09000131	0.20467992	-0.42231459	0.87157489	0.52957162
NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB29
-0.47379810	-0.23052326	-0.56050879	-0.51538855	-0.55209559	-0.32422763

NHSB30					
0.68985589					

**Om privacy-redenen wordt niet het gehele registratienummer getoond: de laatste 5 cijfers zijn weggelaten*

Tabel 12: Geschatte random effecten voor de vaders van pups geboren na 1-1-2012. Een negatievere waarde betekent een lager genetisch risico op doofheid en een positievere waarde betekent een hoger genetisch risico op doofheid.

Registratienummer				Vaders
Geschatte random effect				
AKCNM89*	CLP/DA	CLP/DA	DK111	DKK60
-0.085734842	0.086050910	-0.141418827	0.074285059	-0.391829971
DKK81	DZB28	DZB29	HR120	KCRAQ03
-0.256234049	-0.105281453	-0.141791551	-0.212397169	-0.125027249
LOSH11	N0359	N0373	NHSB25	NHSB26
-0.112532815	0.084309193	0.136762203	0.141516566	-0.033686131
NHSB26	NHSB27	NHSB27	NHSB27	NHSB27
0.054682667	0.008708271	0.083680524	-0.149652327	-0.062467721
HSB279	NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28
0.087881362	0.084968801	0.302317124	-0.230028927	0.097578674
NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28	NHSB28
-0.002059000	-0.446183154	-0.363433678	-0.084582676	0.515446701
NHSB29	NHSB29	NHSB29	NHSB30	RKF305
-0.376124622	0.112515080	-0.137175634	-0.106832652	0.003116062
S44942	SE22343	SE48214	VDH/CDF3	VDH/DV
0.146026754	-0.167487327	-0.132389947	-0.110265114	-0.095629945
VDH/DV	VDH/DZ	VDH/DZB	VDH/DZB	
0.390174100	-0.107916823	0.193339304	-0.064912765	

**Om privacy-redenen wordt niet het gehele registratienummer getoond: de laatste 5 cijfers zijn weggelaten*

Appendix III: Waarschijnlijkheid van doofheid bij de pup bij bepaalde oudercombinaties

Door de geschatte random effecten voor de reuen en teven te gebruiken, kan de waarschijnlijkheid op doofheid bij de pup voor verschillende oudercombinaties worden uitgerekend (zie Tabel 13). Twee ouders met allebei een hoog risico (positief random effect), twee ouders met een gemiddeld risico (random effect van ongeveer 0) en twee ouders met een laag risico (negatief random effect) op het krijgen van dove pups zijn in de tabel opgenomen. Tabel 13 laat zien dat hoe lager het risico van de ouders op het krijgen van dove pups (hoe lager de random effecten), hoe lager de waarschijnlijkheid dat de pup geboren wordt met CCSD. Het is minder waarschijnlijk voor een mannelijke pup om CCSD te hebben dan voor een vrouwelijke pup en het is minder waarschijnlijk dat een pup met kopvlek CCSD heeft dan een pup zonder kopvlek. Dit komt overeen met de uitkomsten van de univariabele en multivariabele modellen (zie sectie 'Resultaten').

Tabel 13: Waarschijnlijkheid van doofheid bij de pup met of zonder risicofactor 'kopvlek' voor bepaalde oudercombinaties met verschillende risicoprofielen.

Kopvlek	Vader	Moeder	Waarschijnlijkheid van doofheid bij de pup	
			Reu	Teef
Niet aanwezig	VDH/DV (Hoog risico)	NHSB25 (Hoog risico)	30.5%	36.7%
Niet aanwezig	NHSB28 (Gemiddeld risico)	NHSB27 (Gemiddeld risico)	9.0%	11.7%
Niet aanwezig	NHSB28 (Laag risico)	NHSB27 (Laag risico)	1.8%	2.4%
Aanwezig	VDH/DV (Hoog risico)	NHSB25 (Hoog risico)	9.3%	12.0%
Aanwezig	NHSB28 (Gemiddeld risico)	NHSB27 (Gemiddeld risico)	2.3%	3.0%
Aanwezig	NHSB28 (Laag risico)	NHSB27 (Laag risico)	0.4%	0.6%

Appendix IV: Nestgrootte volgens de dataset vs. frequentie van Nest-ID's

In de originele dataset staat een kolom met daarin, per pup, wat de grootte was van het nest waar de pup uit komt. Om te controleren of de nestgrootte die aangegeven is in deze column klopt met hoeveel pups er van dat nest in de dataset aanwezig zijn, heeft ieder nest een 'nest-ID' Gekregen. Het nest-ID bevat het registratienummer van de moeder, het registratienummer van de vader en de geboortedatum van het nest. Figuur 11 laat de correlatie zien tussen de genoteerde nestgrootte in de dataset en de frequenties van de nest-ID's en geeft aan dat voor sommige nesten, deze twee niet overeenkomen. Sommige nesten bevatten meer pups dan genoteerd in de kolom 'nestgrootte' en sommige nesten bevatten minder pups dan genoteerd in die kolom. Dit kan gedeeltelijk worden verklaard door hoe de pups worden geregistreerd: het aantal pups dat in een nest wordt geboren kan hoger zijn dan het aantal pups dat aangeboden wordt voor een BAER-test, vanwege mortaliteit (sterfte) in de eerste zes weken.

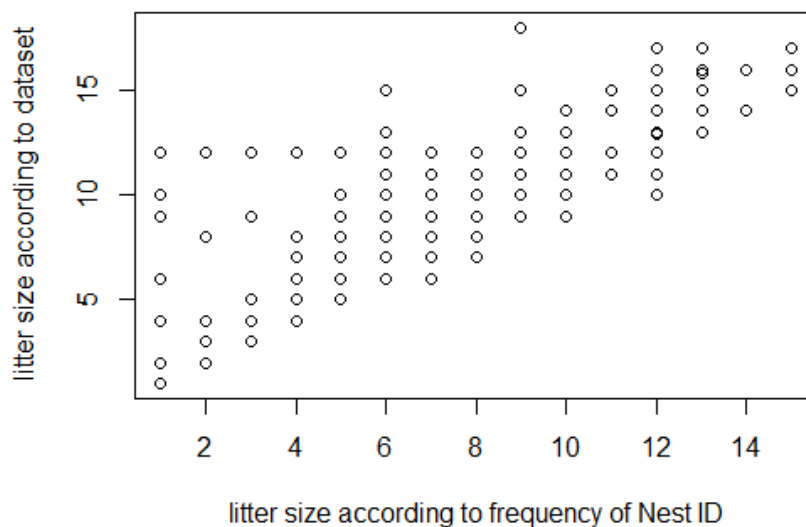


Fig. 11: De nestgrootte volgens de dataset (y-as) weergegeven tegen de berekende nestgrootte op basis van de frequentie van nest-ID's (registratienummer moeder, registratienummer vader, geboortedatum van het nest) (x-as)

Appendix V: Hearing, congenital deafness and BAER testing

Hearing

The ear is divided into the external ear, middle ear and inner ear. The external ear in the dog contains the pinna and the external ear canal or auditory meatus. The shape of the pinna varies widely among dog breeds (25, 26).

The middle ear contains the tympanum (eardrum), the ossicles, the auditory (Eustachian) tube and, behind the tympanum, the tympanic cavities (see figure 8). The middle ear is lined with secretory epithelium, which creates a slight negative pressure. The tympanum is kept in place by the tensor tympani muscle, innervated by the mandibular branch of the trigeminal nerve. Directly behind the tympanum lie the ossicles – malleus, incus and stapes, inside the tympanic cavity. The auditory tube forms a connection between the middle ear and the nasopharynx, which keeps the pressure inside the middle ear approximately equal to the pressure in the atmosphere (25-27).

The inner ear contains the cochlea, the semi-circular canals and the vestibulum, embedded in tubular and spiral cavities in the petrous temporal bone, called the labyrinth (see figure 8). The cochlea is a very long organ that is coiled like a snail shell. It has two membranes in it, the basilar membrane and Reissner's membrane (vestibular membrane). These membranes both cover the length of the cochlea and divide it into scalae (see figure 9). The middle scala contains endolymph, a fluid with a unique ionic composition, containing mostly potassium (K) and sodium (Na). The outer scalae contain perilymph, which has a more negative electric potential than endolymph, as it contains more sodium than potassium. On top of the basilar membrane, which forms the floor of the middle scala, lies the organ of Corti. This is a hair cell receptor organ. On top of it lies the tectorial membrane, a gel-coated ridge that is anchored to the spiral limbus (1, 25, 26). When a sound wave – air vibration – hits the ear, it is first funnelled by the external ear into the ear canal. From there, it travels to the tympanic membrane (eardrum). There, the wave is transferred to the middle ear, where the ossicles pass on the vibration while amplifying it so that it becomes strong enough to move through the endolymph of the

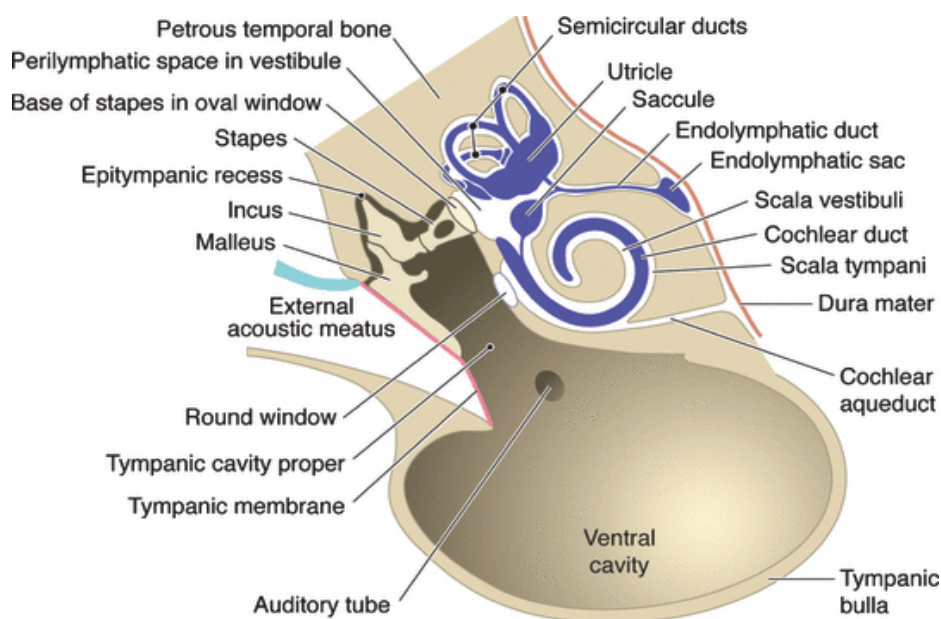


Fig. 8: The external acoustic meatus, middle ear and inner ear (31)

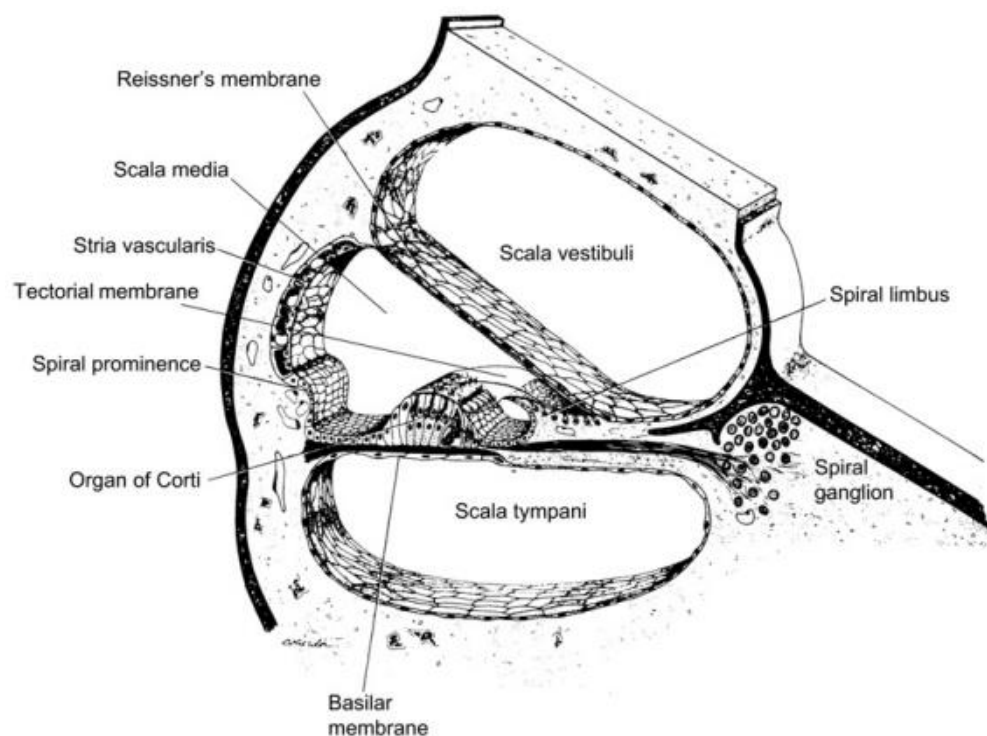


Fig. 9: Cross-section through the mammalian cochlea (30)

cochlea. Through the oval window – a membrane between the middle and inner ear, the vibration is passed on the auditory part of the inner ear: the cochlea. In there, the vibration causes the basilar membrane with the organ of Corti on it to move against the tectorial membrane. Because the tectorial membrane is anchored and cannot move, the hairs of the organ of Corti bend when they are pushed against it. Once they bend, the hair cells change their release of neurotransmitters to the auditory nerves. In their turn, these nerves change their action potential firing rates. These action potentials are passed on to the brain (1, 25, 26).

The frequency of the soundwave determines where in the cochlea the basilar membrane moves: each part of the cochlea represents a specific pitch of sound. At the spot where the basilar membrane moves and hair cells bend, specific auditory nerves are affected and change their action potential firing rate. In the brain, this is translated into the pitch of the sound. The loudness of the sound is determined by the amplitude of the sound wave. A higher amplitude causes the basilar membrane to move more fiercely, which leads to a bigger change in action potential firing rate of the concerned auditory nerves. This is translated to a louder sound in the brain (26).

Melanocytes

Melanocytes are cells that can produce melanin. They are commonly known as pigment cells in the skin, hair follicles and eyes, but are also present in other parts of the body, including the cochlea (5, 28).

During early embryological development, a neural plate is formed on the dorsal side of the embryo. This plate consists of ectoderm. This plate gives rise to the neural folds, which elevate and close dorsally to form the neural tube. While this happens, cells of the lateral border or neural crest (also called the crest of the neuroepithelium) actively migrate from the neur ectoderm to the underlying mesoderm. These neural crest cells migrate to a specific place depending on their region of origin. Cells from the trunk neural crest, which extends from the sixth somite to the most posterior somites, migrate in three main ways. One of these ways is

the dorsolateral pathway, in which the cells migrate between the ectoderm and the somites. The migrating cells enter this space as melanoblasts, later they differentiate to melanocytes (5, 27). From there, they migrate further to their final destinations.

One of the destinations that melanocytes migrate to, is the cochlea. There they play a role as intermediate cells in the stria vascularis (see figure 9), which occupies a part of the lateral wall of the cochlear duct. The stria intermediate cells are important for normal cochlear function, as they help maintain the right ionic milieu by using their Na^+/K^+ -ATPase and potassium channels. The stria vascularis secretes endolymph, giving the middle scala of the cochlea a potential of +90mV in mammals. This potential is called the endocochlear potential, or EP. This potential is necessary for the cochlea to work properly and thus for the animal to hear (5, 28).

Congenital deafness in Dalmatians

Dalmatian pups with congenital deafness show cochlear degeneration after 2 to 4 weeks of age (1, 5). Before degeneration of the cochlea, the inner ear seems to be normal in structure and function (1). It is not entirely clear what causes the stria degeneration, but the absence of melanocytes seems to be a main factor. When melanocytes do not migrate to the cochlea, they cannot differentiate into intermediate cells and perform their function in the stria vascularis. The right ionic milieu that is needed in order for the cochlea to function cannot be maintained when there are no intermediate cells, thus the stria vascularis degenerates. In some cases, a lack of melanocytes or disturbed migration is visible externally in fur and eye colour, but a disturbed migration of melanocytes to the cochlea does not necessarily mean a disturbed migration to other places (1, 4, 5).

In the process of cochlear degeneration, an initial destruction of the lateral wall of the middle scala (stria vascularis) of the cochlea has been found: cochlea-saccular degeneration of type Scheibe. This is followed by degeneration of the organ of Corti, which starts with vacuolisation of the external sulcus cells (3). After the degeneration of the organ of Corti, Reissner's membrane collapses and finally the cochlear duct collapses as well (1, 3, 4). At 1 to 2 months of age, this degeneration is already well advanced. The hair cells, supporting cells and lastly the pillar cells in the cochlea degenerate and eventually disappear. The number of spiral (cochlear) ganglion cells decreases with age: after 36 months, the number of cells has decreased by 50% (3).

The degeneration and disappearance of these structures in the inner ear lead to a perception deafness: sound waves transferred to the cochlea can no longer be translated into neural activity. This type of deafness in dogs generally has a genetic background and is called Canine Congenital Sensorineural Deafness (CCSD), also known as Canine Hereditary Sensorineural Deafness (CHSD) (1, 4-7). It is found in several dog breeds, but mostly in English setters, Bull terriers, Whippets, Australian cattle dogs, English Cocker spaniels, Catahoula Leopard dogs, Border collies, Jack Russel terriers and above all Dalmatian dogs (4-7). In 1992 in the USA, 21.6% of Dalmatian dogs showed unilateral deafness, whereas 8.1% showed bilateral deafness (overall 29.7%) (8). Verhorevoort found that in the Netherlands in the period 1995-1998, of the NDHC Dalmatian pups, 15.9% showed unilateral deafness and 4.9% bilateral deafness (overall 20.8%) (1). In 2008, the prevalence of deafness in Dalmatian dogs (unilateral and bilateral) in the USA was 29.9%, in Switzerland 16.5% and in the Netherlands 16.8% (20).

It is generally assumed that CCSD is a genetic disease, but which genes exactly are responsible for the development of CCSD has been unclear for a long time. The mechanisms leading to deafness have not completely been clear either, and a lot of research is still being done on this subject (4, 6). A study in 2002 found that female Dalmatians and blue-eyed Dalmatians were more often affected than other Dalmatians (6), though other studies could not find a sex effect (5). The absence of patches – a spot of dark fur that is already visible at birth – was associated with a higher prevalence of CCSD in several studies (5, 6). Generally, there seems to be a defect in genetic control of melanoblasts differentiation and/or migration, due to which the melanocytes do not reach the stria vascularis in the cochlea (5).

Several studies have found significant associations between eye colour, presence of patches, sex and parental hearing status, and deafness. These associations have mostly been studied in Dalmatian dogs (1-4, 6, 7, 19).

The link between blue eyes and CCSD may be explained by the 'extreme white piebald' allele s^w (5, 6, 20). The S locus, associated with the distribution pattern of pigmented and white spots, has four different alleles. The associated gene is called the MITF gene (Microphthalmia-associated Transcription Factor). The S allele is dominant and is non-spotted, or 'self'. The s^i allele produces Irish spotting: generally, only a few white spots/areas on the thorax, face, head or feet. The s^p allele stands for piebald spotting, which gives more white spots and/or bigger white areas than the s^i allele: dogs with the s^p allele may have white spots on their limbs as well. Lastly, the s^w allele, the extreme white piebald allele, gives the greatest extent of white pigmentation, leaving only small spots on the coat pigmented (5, 7). Dalmatian dogs are most likely all homozygous for this allele, but there is much variation in expression level among Dalmatian dogs. The presence of patches has been associated with a lower expression of the s^w allele (5-7, 20).

The M locus, a pigmentation locus known as the 'merle' locus, is another locus that plays a role in hereditary deafness. Dogs homozygous for the recessive allele m have a uniform pigmentation, whereas dogs with Mm are dappled: they have body areas that are fully pigmented and areas that are pale or even white. Homozygous merle – MM – produces an almost completely white coat and is associated with deafness, blindness and sterility. Heterozygous dogs may vary in their likelihood of being deaf, depending on the present alleles for other genes associated with pigmentation (1, 6, 7). Bull terriers, Australian cattle dogs, English Cocker spaniels, Catahoula Leopard dogs, Border collies can be heterozygous and are thus more likely to be deaf than other breeds. When corrected for eye colour, presence of patches, sex and parental hearing status, the heritability for deafness has been found to be 0.21 in 1996 (19), implying that there is much genetic variation. This would mean that selective breeding could have negative effect on the incidence of congenital deafness in the population.

Nonetheless, there are other genes beside the ones associated with the phenotypical traits that contribute to the occurrence of CCSD (6). Furthermore, coat colour does not seem to contribute to the occurrence of CCSD (5-7, 19). In some other breeds than mentioned above, such as the Doberman Pincher and the Shropshire Terrier, CCSD can be found without white pigmentation. On the other hand, albinism, in which melanocytes are sufficiently present but cannot properly produce melanin, is not generally associated with deafness (7).

A study in 2013 performed in Germany (4) has found several CCSD-associated genotypes (CCSD-associated SNPs). Four of these CCSD-loci were found close to genes that are known to influence melanocyte migration and melanosome transport. Several of the CCSD-loci that were found are similar to the loci in humans associated with hearing loss, but more research is needed to fully understand the implications of this (4). It was shown in this same study that when a dog has at least one CCSD-associated SNP, the risk of developing CCSD increases. Dalmatian dogs with blue eyes seem to have (specific) CCSD-associated SNPs more often than brown-eyed Dalmatians. Furthermore, it was found that bilaterally deaf dogs generally had more CCSD-associated SNPs than unilaterally hearing dogs (4).

Several studies have found significant associations between eye colour, presence of patches, sex and parental hearing status and deafness. These associations have mostly been studied in Dalmatian dogs (1-4, 6, 7, 19), but have been found in the other breeds susceptible to CCSD as well (1, 6, 7). A study on CCSD in Australian Cattle dogs found higher odds of females to have CCSD (1.6-1.9 times higher than for males), an association between hearing status of the parents and hearing status of the pups and an association between the presence of patches and the development of CCSD (for all $p < 0.05$). In unilaterally deaf dogs with a head spot, a significant link between the side of the head spot and the side of deafness has not been found (5).

There seem to be some differences between the different breeds in which factors play the most important role in the development in CCSD, but more research is needed to verify this and, if this is indeed the case, which factors are most important for which breed.

Deafness and welfare

Deafness in dogs is taken as a serious welfare issue by Dalmatian Dog Clubs internationally (13, 15-18). Deaf dogs have a higher chance of getting injured, for example by cars that they cannot hear coming, and get startled more easily, which can result in unwanted (anxious) behaviour. They need specialized training from an expert and can sometimes become quite noisy, as they cannot hear themselves. However, there is no evidence that a deaf dog's welfare is significantly impaired. Bilaterally deaf Dalmatian pups are euthanised as part of the policy of several Dalmatian clubs, which is based on welfare implications (21, 23).

However, it can be very straining for a breeder to have to put down their deaf pups that are otherwise healthy (21). It can also be difficult for the veterinarian involved. Veterinarians can refuse a request for euthanasia, but will in many cases comply to the owners wishes, regarding deaf Dalmatian pups: as the breeder, they are often concerned about what might happen to the animal otherwise (29).

BAER test

A BAER test (Brainstem Auditory-Evoked Response test) can be performed to assess hearing in dogs (3, 12) (see figure 10). This test can determine unilateral or bilateral deafness (qualifies an ear as 'deaf' or 'not deaf'). This test is relatively easy and more reliable than a test based on behaviour, which can be influenced by visionary stimuli, vibratory stimuli and mental state. In the BAER test, repetitive acoustic stimuli are given. Activity in the cranial nerve VIII

(Vestibulocochlear nerve) and the auditory part of the brainstem is measured at the same time to assess the reaction of the brain to the acoustic stimuli (3, 12, 25). Three small needles are subcutaneously inserted into the dog's head to measure response: a recording electrode, a reference electrode and a ground electrode. Headphones or ear inserts can be used to give the acoustic stimulations. The stimulations are given at various frequencies, intensities and rates of delivery (number of stimulations per second).



Fig. 10: Dalmatian pup undergoing a BAER test

Several areas in the brainstem respond to the auditory stimuli, which is made visible by the various amplitudes in time in the BAER test result (a line graph that shows the amount of activity measured versus time). However, when a dog is deaf due to cochlea abnormalities, recognisable amplitudes are completely absent (25).

Although the BAER test is used in dogs, its clinical relevance has not been validated: the sensitivity and specificity of this test in dogs have not yet been determined. Furthermore, a masking noise should be used to prevent a cross-over effect (14, 25), but the precise effective levels of masking noise in dogs are unclear. This is especially important in dogs with unilateral deafness (12, 14). Gonçalves et. al. (2008) found that using a contralateral masking noise of 30 dB could largely prevent the cross-over effect (14).

This test is used by the NCDH to determine the hearing status of pups. In the Netherlands, this test is performed by professionals acknowledged by the Board of Management of Cynological Affairs in the Netherlands (Raad van Beheer) (13). The test however is used worldwide, although performed differently in each of these countries (3, 12, 14).

DNA research

The genealogy of a pup can give an indication of the chance whether or not that pup is deaf (1). However, more accurate results can be retrieved from using DNA techniques such as PCR and electrophoresis, which could determine the presence of genes that lead to deafness (1). At this point this could prove difficult, because not everything regarding the genetic background of hereditary deafness is clear yet. CCSD-associated SNPs may be used in the future to determine the presence of CCSD (unilaterally or bilaterally) at an early stage of the pup's life, but further research is needed before this can be brought into practice (4). However, DNA techniques can already be used on the sire and dam: choosing a sire and dam based on the most genetic variation between them may lead to decreased odds at deafness in the pups.

Breeding standards

In the Netherlands, the NCDH has set rules for breeding Dalmatian pups regarding genetic diversity and prevention of hearing problems (1, 13, 23). A bitch cannot be bred with her grandfather, father, brother, son or grandson. Furthermore, a certain parent combination can only be used twice. The stud dog must be at least 12 months old and can be bred successfully a maximum of 5 times per calendar year. Both parents must have participated in exposition regulated by the Board of Management of Cynological Affairs in the Netherlands (Raad van Beheer) and/or the International Cynological Federation (Fédération Cynologique Internationale; FCI). Foreign stud dogs can be used, but must also comply to the rules and standards set for Dutch Dalmatian breeding dogs or rules and standards similar to these (23).

Only bilaterally hearing dogs without (partially) blue eyes or a headspot may be used to breed. A small coloured edge on the ear however is allowed (1, 13, 23). Other disqualifying traits are a coat type other than shorthair and a coat colour other than black on white or brown on white (23). Since 1995, the BAER test has become a standard test for each Dalmatian pup born in the Netherlands registered by the NCDH. This test is performed at 8 weeks of age and is performed in a standardised method. This test was needed in order to exclude unilaterally hearing dogs from the breeding programme. The effect of the consistent use of this test is still unclear (1, 13). Bilaterally deaf pups are euthanised. The latest version of the Dutch breeding regulations, containing the regulations mentioned above, has been effective since the first of Januari 2014 (23).

Besides the Netherlands, there are guidelines for breeding Dalmatian dogs in various other countries. These rules are partly set to try to decrease the prevalence of deafness in Dalmatian pups, though they are not evenly strict everywhere (15-18). The effectiveness of the breeding programs on the incidence of CCSD is unclear. However, there seems to be a clear effect of allowing blue eyes: the prevalence of deafness in Dalmatian dogs in the USA, where blue eyes are allowed, is relatively high (29.9% in the USA vs. 16.8% in the Netherlands in 2008) (20).

DISCLAIMER

De grootst mogelijke zorgvuldigheid is betracht bij het samenstellen van dit document. Echter voor onjuistheden en onvolledigheden met betrekking tot de teksten en de informatievoorziening, op welke grond dan ook, kunnen de N.C.D.H. en/of de samenstellers daarvan op geen enkele wijze verantwoordelijk worden gesteld. Geen enkele aansprakelijkheid wordt aanvaard.

Op de inhoud en de presentatie van dit document berust een copyright. Niets mag door derden worden gebruikt zonder dat schriftelijke toestemming van de N.C.D.H. is verkregen. Niets uit deze uitgave mag zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever worden openbaar gemaakt of verveelvoudigd, waaronder begrepen het reproduceren door middel van druk, offset, fotokopie of microfilm of in enige digitale, elektronische, optische of andere vorm of (en dit geldt zonodig in aanvulling op het auteursrecht) het reproduceren (i) ten behoeve van een onderneming, organisatie of instelling of (ii) voor eigen oefening, studie of gebruik.