



NMBU Veterinærhøgskolen
Institutt for sports- og familiedyrmedisin
Dyresykehuset - Hest

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Fordypningsoppgave 2020

Differensiering hest

Mild til moderat astma hos hest og cytologiske funn i lungene hos norske travhester undersøkt med bronkoalveolær lavage (BAL) ved Hesteklinikken NMBU 2014-2019

Mild to moderate asthma in Norwegian trotting horses
examined at NMBU Equine Clinic 2014-2019

Hedwig Norea Rebecka Hoem
Nancy Beate Sveen
Kull 15

Veileder:
Siv Hanche-Olsen
Hege Brun-Hansen

Innhold

Forord	6
Sammendrag	7
Definisjoner og forkortelser	8
Innledning	11
<i>Nomenklatur; fra bronkitt til mild astma</i>	11
<i>Hvorfor mild til moderat astma er viktig å diagnostisere, forebygge og behandle</i>	13
<i>Mild til moderat equine astma (mEA)</i>	13
Diagnostiske kriterier.....	14
Kliniske tegn	14
Patogenese.....	15
<i>Diagnostiske metoder av mild til moderat astma</i>	19
Endoskopi	19
Lungeskylleprøve og trakealskylleprøve	20
Lungefunksjonstest	21
Røntgen.....	22
Ultralyd	23
<i>Differensialdiagnoser til mild til moderat equine astma</i>	24
Alvorlig equine astma (sEA), tidligere RAO.....	24
Lungeblødning (exercise induced pulmonary hemorrhage, EIPH)	25
Øvre luftveislidelser.....	26
Bakteriell pneumoni og pleuropneumoni.....	27
Virusinfeksjoner.....	28
Lungeorm.....	29
Hjertefeil	30

Neoplasi	30
<i>Behandling av mild til moderat astma</i>	31
Miljøforbedring som behandling	31
Kortikosteroider	32
Bronkodilaterende preparater.....	37
Mukolytisk (slimløsende) behandling.....	41
Mastcellestabilisator	42
Interferon-alfa	42
Omega-3 tilskudd.....	43
Andre preparater	43
Formål	45
Materiale og metoder	45
<i>Innsamling av data</i>	45
<i>BAL prøveuttak</i>	46
<i>Preparering av BAL-prøven</i>	47
<i>Avlesning av celleutstryk fra BAL-prøver</i>	47
Resultater	49
<i>Studiepopulasjonen</i>	49
<i>Symptomer hos undersøkte hester</i>	49
<i>mEA diagnose</i>	50
<i>Tredemølleresultater</i>	51
<i>Endring i andel nøytrofile granulocytter</i>	52
<i>Endring i andel mastceller</i>	53
<i>Endring i andel eosinofile granulocytter</i>	54
<i>Økning av flere celletyper</i>	55

<i>Hester med kontrollprøver</i>	55
Diskusjon	57
<i>Symptomer</i>	57
<i>Tredemølleresultater og forekomsten av mEA</i>	58
<i>Cytologiske funn</i>	59
Nøytrofile granulocytter.....	59
Mastceller.....	61
Eosinofile granulocytter.....	62
Økning av flere cellepopulasjoner	63
<i>Bruk av forskjellige referanseverdier ved diagnostikk av mEA</i>	64
<i>Hester med kontrollprøver</i>	65
<i>Styrker og svakheter med studien</i>	65
Konklusjon	66
Takk til bidragsyttere	67
Summary	68
Referanser	69

Forord

Vår interesse for astma hos hest ble vekket av våre egne hester. Litt hosting innimellom er lett å overse, men når det ofte oppstår ved trening og hestens treningsvilje varierer er det ikke like lett. I hvert fall ikke når man er veterinærstudent og ønsker å finne årsakssammenheng. Da det ble presentert en fordypningsoppgave om astma hos travhester passet det fint med våre interesser.

Sammendrag

Tittel: Mild til moderat astma hos hest og cytologiske funn hos travhester undersøkt med bronkoalveolær lavage (BAL) ved Hesteklinikken NMBU 2014-2019

Forfattere: Hedwig Norea Rebecka Hoem, Nancy Beate Sveen

Veileder: Siv Hanche-Olsen, Norges Miljø og Biovitenskapelige Universitet, Institutt for Sports- og familiedyr, Dyresykehuset hest.

Hege Brun-Hansen, Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet, Institutt for Sports- og Familiedyr, Dyresykehuset smådyr.

Målet med denne deskriptive, retrospektive studien har vært å vurdere prevalensen av mild til moderat astma hos norske varmblods- og kaldblodstravere undersøkt ved NMBU på grunn av luftveissymptomer og/eller prestasjonssvikt. Vi har også sett på det cytologiske cellebildet ved BAL-prøve ved ulik alder hos den samme populasjonen. Totalt 216 bronkoalveolær lavage (BAL) prøver fra 202 hester i tidsrommet 2014-2019 ble evaluert.

I denne studien hadde 86,6% av BAL-prøvene forandringer i cellepopulasjonen forenelig med mild til moderat equine astma, tidligere kjent som IAD. Av disse hadde 11,1% endringer i andel nøytrofile granulocytter, 73,6% hadde endringer i andel mastceller og 38,4% endringer i andel eosinofile celler sammenlignet med referanseverdier benyttet ved NMBU. Av disse hadde 30,5% en økning i flere enn en celletype.

Definisjoner og forkortelser

ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
ACC	Arytenoid Cartilage Collaps/ kollaps av arytenoidene
ADAF/MDAF	Axial/Medial Deviation of the Aryepiglottic Fold
AMP	Adenosinmonofosfat
BAL	Bronchoalveolær Lavage
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
COX	Cycklooxigenase
CpG	Cytosine-fosfat-guanosine oligonucleotider
CRP	C-reaktivt protein
DDSP	Dorsal Displacement of the Soft Palate
DHA	Docosahexaensyre
DLC	Dynamisk larynkskollaps
EA	Equine Asthma
mEA	Mild/moderate equine astma
sEA	Severe equine astma

EHV	Equint herpesvirus
EKG	Elektrokardiogram
EPA	Eikosapentaensyre
EIPH	Exercise Induced Pulmonary Hemorrhage
ERAV	Equint Rhinitis Virus A
ERBV	Equint Rhinitis Virus B
IAD	Inflammatory Airway Disease
Iv	Intravenøst
Kb	Kaldblodstravere
KOLS	Kronisk obstruktiv lungesykdom
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
MCV	Mean Corpuscular Volume
MDI	Metered Dose Inhaler
MGG	May-Grünwald-Giemsa
NSAIDs	Non-Steroid Anti-Inflammatory drugs
NMBU	Norges Miljø og Biovitenskapelige Universitet

PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PPID	Pituitary Pars Intermedia Dysfunction
Po	Per oral
RAO	Recurrent Airway Obstruction
RLN	Recurrent laryngeal neuropati ("strupepiping")
RT-qPCR	Reverse Transcripion quantitative Polymerase Chain Reaction
SAA	Serum amyloid A
SP-D	Surfaktant protein D
SPAOPD	Summer Pasture Associated Pulmonary Disease
TB	Toluidine Blue
Vb	Varmblodstravere
VFC	Vocal Fold Collaps
VSD	Ventrikulær septum defect

Innledning

Hesteklinikken ved veterinærhøgskolen NMBU undersøker årlig mange hester med prestasjonssvikt. Nedre luftveislidelser er i mange tilfeller årsak til hestens prestasjonssvikt. Vi har sett på data fra varmbloeds- og kaldblodstravere undersøkt ved NMBU som det har blitt utført bronkoalveolær lavage (BAL) på i tidsrommet 2014-2019. Indikasjonen for undersøkelse av disse hestene var dårlig prestasjon i løp, at de stoppet opp under trening, laget lyder fra øvre luftveier eller hostet. Totalt 216 BAL-prøver ble inkludert i vår studie. Mange av hestene fikk diagnosen mild til moderat astma og vi har derfor fokusert på denne tilstanden.

Nomenklatur; fra bronkitt til mild astma

Gjennom årene er det brukt mange ulike benevnelser relatert til kroniske lidelser i nedre luftveier hos hest, noe som har ført til mange misforståelser både blant hesteeiere og veterinærer (Bond et al., 2018). I år 2000 begynte et arbeid for å få en klarhet i fenotypene og terminologien brukt på lidelsen. Da samlet fagpersoner fra flere land seg til en internasjonal "workshop" ved Michigan State University, USA. Dette ble starten for å differensiere de ulike symptombildene som lå inn under de store sekkebetegnelse 'heaves' og Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) (Couetil et al., 2020). Med mere kunnskap, bedre rutiner og metoder for diagnostikk og analyse begynte man å avdekke mildere tilfeller, og det ble derfor nødvendig å finne nye benevnelser for de mildere formene for luftveislidelser (Robinson & Chairperson, 2001).

'Heaves' er den folkelige engelske benevnelsen som har blitt brukt om kroniske astmalignende luftveislidelser hos hest fra 1960-tallet og fram til midten av 2000-tallet. Den har i hovedsak blitt brukt når det har dreid seg om alvorlige tilfeller hos eldre hester (Bullone & Lavoie,

2020). Fra 1970 og fram til 2000 er det diagnosen COPD som har dominert. Dette er den engelskspråklige benevnelsen på det som i Norge beskriver symptomene på kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS) hos mennesker. KOLS er en kronisk, progressiv lidelse uten mulighet til forbedring, og er relatert til alder og påvirkning av støv, røyking, giftige gasser og andre allergener i aerosoler over tid. Med mer kunnskap innen obstruktive luftveislidelser både hos hest og menneske ble det klart at dette ikke er samme sykdom. 'Heaves' hos hest er en reversibel innsnevring av luftveiene som ligner mer på astma hos mennesker enn KOLS (Robinson & Chairperson, 2001). Samtidig som COPD ble brukt, var andre navn som 'Chronic emphysema' og 'Broken wind' også i bruk på de alvorlige tilfellene på 1960-'70-tallet. Av ulike navn på den mildere varianten kan nevnes 'Chronic bronchitis', 'Small airway disease' og 'Lower airway disease', som ble brukt henholdsvis på '70-, '80- og '90-tallet. Mot slutten av 1980-tallet ble også 'Summer pasture associated pulmonary disease' (SPAOPD) introdusert for astma som forekom om sommeren. Alle disse diagnosene har blitt brukt overlappende og om hverandre samtidig med COPD og 'heaves' (Bullone & Lavoie, 2020). I 2002 samlet igjen fagfolk seg og laget en rapport som oppsummerer det som ble diskutert i 2000. Det ble konkludert med at inflammasjonslidelser i luftveiene hos hest kan ha ulike årsaker og ha varierende alvorlighetsgrad. Det er derfor uegnet å bruke diagnosen COPD til alle variantene av syndromet. 'Heaves' ble videreført som folkelig begrep, men er i praksis det samme som Recurrent Airway Obstruction (RAO). Inflammatory Airway Disease (IAD) ble introdusert som benevnelse på ikke-infeksiøs lidelse i nedre luftveier, spesielt hos yngre hester. Hester med IAD kjennetegnes ved at de ikke har noen tegn til pustebesvær i hvile eller systemisk tegn på sykdom. Det ble konstatert at en hest med IAD ikke nødvendigvis vil utvikle RAO senere i livet (Robinson & Chairperson, 2001; Robinson, 2003). Under det 6. World Equine Airway Symposium (2017), var ett av hovedtemaene å se på hvordan begrepet 'equine asthma' passer biologisk med den allerede brukte terminologien

innen humanmedisin. Begrepene IAD og RAO/ 'heaves' var, og er, allerede utbredt blant folk, mye på grunn av at de beskriver godt sykdommen det gjelder. Det var derfor viktig at gyldigheten og begrensningene i begrepet 'equine asthma' ble diskutert nøye før det skulle avgjøres hvorvidt det skulle ta over for de etablerte navnene. Innen det foreslåtte nye begrepet 'equine asthma' er det mange faktorer når det kommer til kliniske tegn, patogenetisk utvikling og hyppigheten av tilbakefall som gjør det aktuelt å klassifisere begrepene i mild til moderat, og alvorlig astma, hvor mild/ moderat tilsvarer IAD og alvorlig astma tilsvarer RAO (Bond et al., 2018).

Hvorfor mild til moderat astma er viktig å diagnostisere, forebygge og behandle

Etter muskel- og skjelettplager er luftveisplager den vanligste prestasjonshemmende sykdommen hos hester (Bayly et al., 2018 s. 313), etterfulgt av hjerteproblemer (Bayly et al., 2018 s. 387).

Alvorlig equine astma rammer omtrent 14-17% av hester i nordlig, kjølig klima. Om lag 68-77% av selskapshester og opp mot 80% av løpshester har tegn på mild til moderat astma ved BAL-prøve (Couetil et al., 2020). Det er av dyrevelferdsmessige hensyn, økonomiske hensyn og for sportens del av interesse å diagnostisere, forebygge og behandle mild/ moderat equine astma.

Mild til moderat equine astma (mEA)

Mild til moderat astma kan ramme både løpshester og ikke-løpshester. Hestene kan være i alle aldre, men sykdommen rapporteres hyppigst hos unge hester. Klinikken inkluderer ofte dårlig prestasjon, uvillighet til å arbeide og/eller kronisk, tilfeldig hosting. mEA gir vage symptomer og har ingen innvirkning på respirasjonen i hvile. Det er derfor nødvendig med sensitive

diagnostiske metoder. Symptomene kommer fram under hardere anstrengelser, og det kan være grunnen til at det ofte oppdages hos unge løpshester. Disse er tidlig i gang med hard trening og løp, og dermed vil symptomer på luftveislidelser tydeligere komme frem (Couëtil et al., 2016).

Diagnostiske kriterier

For å sette diagnosen mild til moderat astma er det flere kriterier som må være til stede.

- 1) Kliniske tegn på sykdom i nedre luftveier, det vil si nedsatt prestasjon og/eller hoste.
- 2) Inflammasjonsbilde i nedre luftveier basert på slim i luftrøret sett ved endoskopi og cytologisk vurdering av en BAL-prøve.
- 3) Utelukkelse av alvorlig equine astma, infeksjon og andre respiratoriske lidelser.

(Couëtil et al., 2016).

Kliniske tegn

Mild til moderat equine astma er en multifaktoriell sykdom hvor symptomene er diffuse.

Nedsatt prestasjon, hoste, slim fra luftveiene, lang restitusjonstid og/eller anstrengt respirasjonen under trening er vanlige symptomer. Ute i felt blir det å utelukke andre tilstander og tegn på sykdom som feber, nedsatt matlyst, letargi og avvik på hematologi en viktig del av diagnostikken (Couëtil et al., 2001; Couëtil et al., 2016).

Motstanden i lungene er høyere og ekspirasjonsvolumet mindre hos hester med mild astma sammenlignet med friske hester (Couëtil et al., 2001). Hos hester med mEA som går i hard trening, blir nedsatt oksygenopptak en begrensende faktor for prestasjonen og fører til treningsindusert hypoksemi og økt konsentrasjon av laktat i blodet. En økning av laktat er i seg selv ikke spesifikt for astma, men et generelt tegn på for lite oksygen til musklene (Couëtil et al., 2016).

Hoste regnes som kronisk ved varighet over 3 uker, og kan brukes som indikator for luftveisinflammasjon. Hoste kan oppstå i hvile, men sees som regel ved trening (Couëtil et al., 2016).

Auskultasjon av luftveiene alene kan ikke brukes som diagnostikk av mEA, da dette ikke gir spesifikke funn. Enkelte hester kan ha forøket respirasjonslyder og hveselyder ved 'rebreathing-test' (Knævelsrud, 2010).

Rennende nese har ikke noen kjent sammenheng med mild astma, men en sammenheng kan ikke sikkert utelukkes (Couëtil et al., 2016).

Patogenese

Patogenesen for equine mild til moderat astma er ikke fullt kartlagt. Flere etiologiske faktorer spiller inn. Disse faktorene henger sammen med hestens miljø i forbindelse med oppstalling, fôring, trening og variasjon i værforhold gjennom året. Ikke-infeksiøse faktorer er sannsynligvis sentrale i utviklingen av mild astma. Hester som er oppstallet innendørs kan utsettes for store mengder støv, og oppstalling er en risikofaktor for utvikling av mild astma. Støv er i denne sammenhengen et samlebegrep for partikler i luften forårsaket av sopp, mugg, endotoksin, β -D-glukan, ultrasmå partikler (<100 nm i diameter), mikroorganismer, middrester, vegetativt materiale, ikke-organisk støv, men også skadelige gasser (Ivester et al., 2014b).

Mengden støv hester blir utsatt for avhenger mye av type oppstalling. I et forsøk utført i England fant man klare forskjeller mellom ulike oppstallingsmiljøer. Første miljøet var en tradisjonell engelsk en-hests stall (mål 3,4x2,8 m) med åpent vindu, tradisjonelt strø i form av halm og fôring med høy. Det andre miljøet var hest i en lav-støv stall uten høy eller halm og isteden med flis og høyensilasje, og det tredje miljøet var på beite. Den tradisjonelle oppstallingen hadde høyere nivåer av støv og endotoksiner sammenlignet med lav-støv stall

og beite. Støvmengden var også høyere i lav-støv stallen i forhold til beitet, men endotoksinnivået var likt i disse (McGorum et al., 1998).

Cytologisk undersøkelse av materiale fra nedre luftveier viser forandringer hos hester med mild til moderat astma. Dette er definert i ACVIM IAD revised consensus statement (Couëtil et al., 2016) som "mild økning i prosentandel nøytrofile granulocytter, eosinofile granulocytter og/eller mastceller".

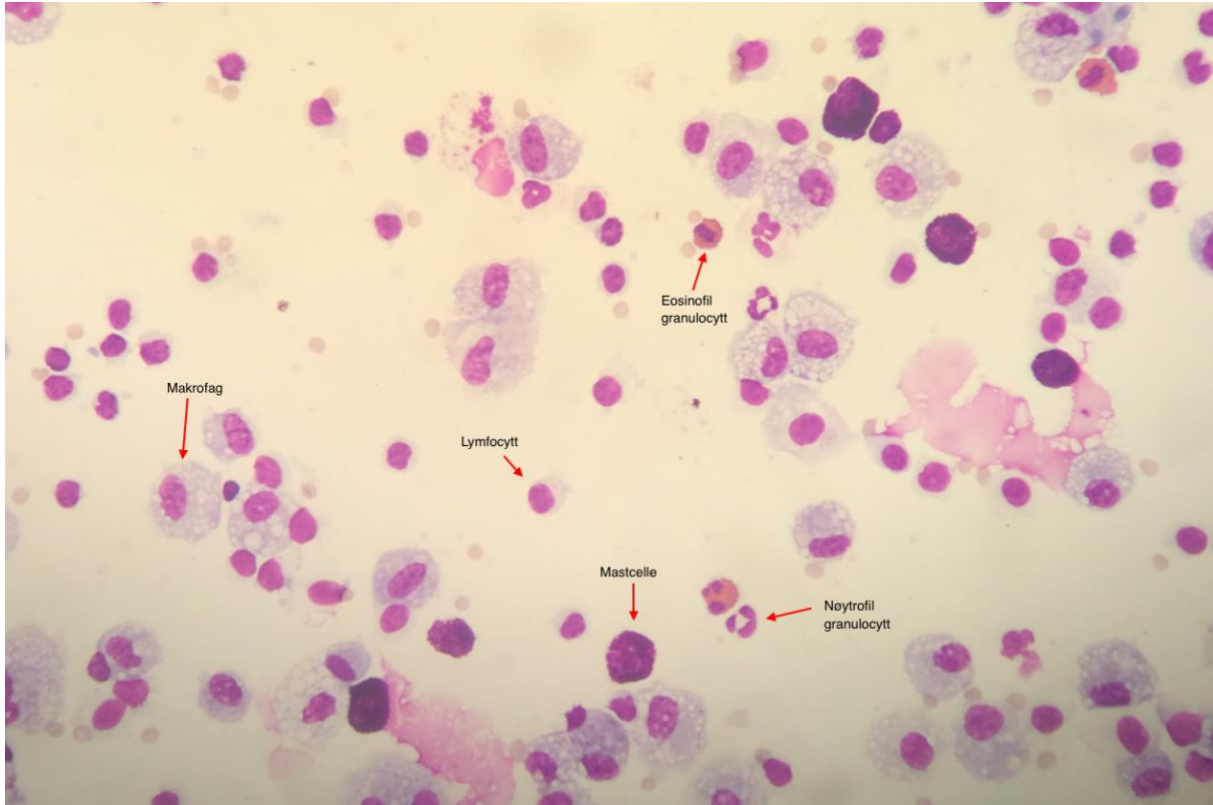
Forskjellige prøvetakningsprosedyrer og referanseverdier i publiserte studier gjør det vanskelig å sammenligne disse og etablere felles referanseverdier. Faktorer som kan gi variasjon i resultatet er mengden fysiologisk natriumklorid som brukes for prøvetaking, hvor i lungene prøven blir tatt, mengden som bearbeides videre, behandling av prøven og antallet celler som blir talt. Uavhengig av prøvetakningsprosedyre, slår man fast at en definitiv diagnose stilles ved verdier $>10\%$ nøytrofile granulocytter, $>5\%$ mastceller og/eller $>5\%$ eosinofile granulocytter (Couëtil et al., 2016). Ved bruk av 250 ml steril fysiologisk natriumkloridløsning og telling av over 500 celler, har man satt verdier for friske hester ved $\leq 5\%$ nøytrofile granulocytter, $\leq 2\%$ mastceller og $\leq 1\%$ eosinofile granulocytter (Couëtil et al., 2016).

Prøvesvar må alltid vurderes ut fra teknisk utførelse og diagnose må settes i sammenheng med det kliniske bildet av hesten (Couëtil et al., 2016).

Ved NMBU har referanseverdier på $>5\%$ nøytrofile granulocytter, $>2\%$ mastceller og $>0,2$ eosinofile granulocytter blitt brukt for å stille diagnose.

Endelige referanseverdier for diagnose mEA er per dags dato ikke satt. Man forventer at disse verdiene kan komme til å endres med mer standardisert prøvetaking, behandling av prøvene og differensialtelling av cellene.

Til sammenligning settes diagnosen alvorlig astma ved nøytrofile granulocytter over 25% (Couëtil et al., 2016).



Bilde 1. Bilde av de ulike celletypene fra en BAL-prøve. (Fotografert av Norea Hoem).

Når man har sett på de ulike cellepopulasjonene i sammenheng med kliniske symptomer, ser man at en økning i andel nøytrofile ofte forekommer hos hester med hoste og sekret i trakea, mens mastceller ofte forekommer hos hester der hovedproblemet er treningsintoleranse (Bedenice et al., 2008; Couëtil et al., 2016).

Økning i eosinofile granulocytter sees i høyere utstrekning hos yngre hester under 5 år, mens økning av nøytrofile granulocytter sees mer hos hester over 7 år. Mild astma med økning av eosinofile granulocytter er mindre vanlig enn nøytrofil- og mastcelledominert mEA, og ser ut til å være forbundet med støv og ikke parasitter hos unge individer (Couëtil et al., 2016; Hare & Viel, 1998).

Rollen til infeksjose agens hos hester med mild astma er fortsatt uklar (Couëtil et al., 2016).

En kobling mellom bakterieholdig slim fra trakealskylleprøve og mEA har blitt sett i en studie av unge løpshester i Storbritannia. Bakterier som har blitt påvist ved dyrking inkluderer *Streptococcus zooepidemicus*, *S. pneumoniae*, *Actinobacillus*, *Pasteurella* spp og *Mycoplasma equirhinitis*. Det ble også funnet en assosiasjon mellom equine herpesvirus (EHV) og mEA (Wood et al., 2005).

Det er ikke sett noen tegn til at mild til moderat astma er arvelig, men dette er foreløpig ikke godt undersøkt og kan ikke utelukkes (Gerber, 2020).

Diagnostiske metoder av mild til moderat astma

Endoskopi

Endoskopi av luftveiene har blitt utført på hest siden 1980-tallet, og er tatt i bruk i stadig større grad (Vrins et al., 1991). I dag finnes både videoendoskop og fiberendoskop.

Videoendoskop har den fordel at man kan ta opptak av undersøkelsen, pause og se på nytt dersom noe fremstår som uklart. For at ikke respirasjonen skal forstyrres ønsker man å utføre undersøkelsen på usedert hest. Ved samtidig uttak av BAL sederes hestene som regel før undersøkelsene (Couëtil, 2013 s. 47).

For endoskopisk undersøkelse finnes det et scoring-system for sekret i trakea (mucus score) og trakeal septumtykkelse. Mucus score går fra 0-5, og septumtykkelse går fra 0-4.

Man har undersøkt graden av faryngitt og septumtykkelse for å se om det er en korrelasjon med BAL-cytologi, men dette er ikke funnet (Koblinger et al., 2011; Koch et al., 2007).

Mucus score graderes som følgende:

Grad 0	Fraværende
Grad 1	Multiple små mengder
Grad 2	Moderat større mengder, ikke sammenflytende
Grad 3	Markert mengde, sammenhengende områder
Grad 4	Store mengder, bassengdannende sekret
Grad 5	Ekstreme mengder, sammenflytende

Tabell 1 Mucus score i trakea hos hest. (ref. Bayly et al, Equine internal medicine, 2018, s.362)

Hester med mEA har som regel grad 2 eller høyere i mucus score. Friske hester har normalt grad 0 eller 1. Yngre hester har ofte høyere score enn eldre hester. Etter trening kan det forekomme noe øket mengde sammenlignet med før trening (Couëtil et al., 2016).

I en studie av dressur- og spranghester fant man at økt mengde sekret i luftveiene sammenfalt med redusert villighet til å prestere på trening. Mucus score korrelerte med økt mengde nøytrofile granulocytter på BAL-prøven, mens sammenheng ikke kunne sees for mastceller og eosinofile granulocytter. Man fant ingen korrelasjon mellom alder og mengde sekret i trakea (Widmer et al., 2009). Det er ikke vist noen korrelasjon mellom BAL-prøve funn og mucus score i diagnostikken av mEA, i motsetning til diagnostikk av sEA hvor man ser en tydelig sammenheng (Kobliger et al., 2011).

Lungeskylleprøve og trakealskylleprøve

I luftveiene flytter flimmerhårene sekret, celler og kontaminering fra perifere lunger mot carina og opp trakea før det svelges eller hostes ut. Dette sekretet kan man samle opp i trakea med trakealskylleprøve eller fra lungene med BAL. Indikasjon for å ta trakealskylleprøve er mistanke om infeksjons årsak. Prøven undersøkes med bakteriologisk dyrkning. BAL er indisert ved diffus lungesykdom og der det er en klar indikasjon på en ikke-infeksjons årsak til luftveissymptomene, slik som ved mEA og sEA. Ved ukjent etiologi bør begge metodene benyttes. BAL kan utføres med et endoskop eller med et BAL-kateter for hest. Etter uttak må prøven behandles raskt, innen 1-2 timer, for at cellemorfologien skal bevares godt (Couëtil, 2013 s. 55-59).

Trakealskylleprøven kan utføres med endoskop eller transtrakealt. Ved transtrakeal prøvetaking går man inn i trakea gjennom huden på halsen. Endoskopisk prøvetaking er en enkel og trygg metode, men med risiko for kontaminasjon av prøvematerialet når man fører endoskopet gjennom de øvre luftveiene.

Cytologi av trakealskylleprøve fra friske hester viser rikelig med makrofager, en del epitelceller, <20% nøytrofile granulocytter, <10% lymfocytter og <1% eosinofile

granulocytter (Couëtil, 2013 s. 55-59). Slimklumper med lokalt høyt antall celler kan gi et skjevt totalbilde av celleandelen.

Om hesten er påkjent, slik det vil være ved alvorlig astma med mye sekret i trakea, må man alltid gjøre en vurdering om det er forsvarlig og nyttig å gjennomføre BAL og/eller trakealskylleprøve.

Ved farging av trakealskylleprøve og BAL-prøve skal det brukes fargemetoder hvor granula i mastcellene fremkommer (Malikides et al., 2003). Til dette kan man bruke May-Grünwald Giemsa eller andre metanolbaserte Romanowsky fargemetoder. Hurtigfarger som Diff Quik, Hemacolor, Color Rapid er vannbaserte Romanowsky farger og kan gi svak farging av mastcellegranula, trolig på grunn av for dårlig fiksering (Leclere et al., 2006).

Toluidine Blue gir best farging av mastcellene, men andre celletyper fremkommer dårlig ved denne fargingen. Enkelte makrofager tar også opp farge, og kan da feilaktig telles som mastceller (Leclere et al., 2006).

Lungefunksjonstest

Ved klinisk undersøkelse auskulteres begge lungfelt, hovedbronkiene og trakea gjennom en hel respirasjonssyklus. For å lettere kunne høre unormale lyder kan man bruke en "rebreathing"-bag som får hesten til å hyperventilere. En plastpose med nok luft til flere inhalasjoner plasseres over hestens nese. Etter noen åndedrag øker CO₂-nivået i posen, og hesten begynner å puste dypere og raskere (Knævelsrud, 2010).

Mild astma har negativ påvirkning på lungefunksjonen, og gassutvekslingen blir hemmet ved aktivitet (Couëtil et al., 2016). Lungefunksjonen kan vurderes ved å undersøke faktorer som påvirker ventilasjon og gassutveksling. Til dette vil man sjekke lungenes mekaniske funksjon og måle blodgass (P_aO₂ og P_aCO₂) i arterielt blod.

P_aCO_2 er proporsjonalt med CO_2 som blir produsert gjennom metabolismen, og omvendt proporsjonal med alveolær ventilasjon. P_aCO_2 er derfor en god parameter for å vurdere ventilasjonseffekten. Hos friske hester ligger normalt P_aCO_2 mellom 36 og 46 mmHg.

Alvorlig lungesykdom vil føre til økning av P_aCO_2 , altså hypercapni. Hyperventilering, som kan sees etter trening, respiratorisk kompensasjon for metabolsk acidose eller kronisk lungesykdom, gir lav P_aCO_2 , eller hypocapni (Couëtil, 2013 s. 67).

P_aO_2 gir informasjon om gassutveksling og O_2 tilgjengelig for kroppens ulike vev. Hypoksemi regnes ved $P_aO_2 < 85$ mmHg. Et misforhold mellom ventilasjon og perfusjon er den vanligste årsaken til hypoksemi. Dette misligholdet kalles på engelsk V-Q mismatch. V står for ventilasjon, altså luften som når alveolene, og Q står for perfusjon, altså blodet som når alveolene via kapillærene. Ved astma ser man en lav V-Q mismatch og lavt arterielt oksygen (Rush & Mair, 2004 s. 235).

Det finnes mer avanserte og sensitive metoder for å måle lungefunksjonen. Disse brukes hovedsakelig i forskningssammenheng og er ikke del av en vanlig undersøkelse. Eksempler på slike metoder er bruk av et kateter med en ballong som plasseres i øsofagus og en maske over hesten mule med en pneumotakograf som måler luftstrømmen ved åpningen av neseborene (Couëtil, 2013), en "rebreathing method" som består av en maske med et flowmeter (Pirrone et al., 2007), "forced expiration" som er en modifisert teknikk som ligner på metoden man bruker for diagnostikk av astma på mennesker og "forced/ impulse oscillometry" (Couëtil, 2013).

Røntgen

Røntgen gir god diagnostikk ved astma hos mennesker. Det har vært hypoteser om at røntgen også kan være en mulig diagnostisk metode for hester. Studier har vist at det ikke er mulig å skille hester med mEA fra kontrollhestene ved hjelp av røntgen (Mazan et al., 2005).

Røntgen kan brukes for å utelukke annen patologi i lungene. Dersom man skal ta røntgen av hestens lunger bør det gjøres før uttak av BAL-prøve slik at gjenværende væske etter prøvetakingen ikke påvirker røntgenresultatet (Barton et al., 2018).

Ultralyd

Ultralyd av toraks kan brukes for å undersøke brystveggen, lungeoverflaten og pleurahulen. Metoden er bedre enn røntgen til å oppdage effusjon, perifer lungesykdom og diafragmabrokk. Siden ultralyd ikke går gjennom luft, er det ikke egnet for undersøkelse av luftfylte deler av lungen og dermed uegnet til diagnostikk ved mEA (Couëtil, 2013 s. 54).

Differensialdiagnoser til mild til moderat equine astma

Alvorlig equine astma (sEA), tidligere RAO

Alvorlig astma skiller seg fra mild til moderat astma ved at hestene har tydelige kliniske tegn på sykdom. De kan ha kronisk hoste, økte respirasjonslyder og respirasjonsfrekvens, serøs til mukøs neseflod og episoder med respirasjonskrise (Bayly et al., 2018 s. 357).

Symptomene kan variere og hesten kan være symptomfri i perioder hesten ikke eksponeres for allergener (Couëtil, 2013 s. 86). Ved eksponering for støv blir luftveiene trangere gjennom fortykkelse av luftveienes vegger, bronkospasmer, økt produksjon av sekret som fyller de luftførende veiene, glatt muskel hyperplasi og infiltrasjon av inflammatoriske celler dominert av nøytrofile granulocytter (Pirie, 2014). Hypersekresjon av sekret kan ses i trakea ved endoskopi. Hester svelger ofte store mengder av dette sekretet, så det kommer sjelden ut av munn eller nese (Pirie, 2014).

Ved et kraftig anfall viser hesten tegn til letargi, anstrengt respirasjon hvor neseborene utvides, hode og hals strekkes ut, og hesten får en abdominal respirasjon (Couëtil, 2013 s. 86).

Ved kronisk sEA endrer bukmuskulaturen seg grunnet økt muskelbruk ved ekspirasjon og man ser en såkalt respirasjonsfure. Neseborene er vidåpne på grunn av økt luftinntak selv i hvile (Couëtil, 2013 s. 86). Ved auskultasjon kan man høre hveselyd ved slutten av ekspirasjonen og knitrelyd fra åpning av sammenfalte luftveier ved begynnelsen av inspirasjonen (Pirie, 2014).

Kliniske symptomer endrer seg ofte gjennom sesongen, og de er kraftigere om vinteren dersom hestene står mer oppstallet innendørs hvor de utsettes for mer støv enn utendørs.

Diagnose stilles via anamnese og klinisk undersøkelse i tillegg til spesialundersøkelser av nedre luftveiene i form av endoskopi, BAL med >25% nøytrofile granulocytter og eventuelt

lungefunksjonstest (blodgass og rebreathing-bag). Blodprøver for hematologisk og biokjemisk profil viser som regel ingen forandringer (Pirie, 2014).

Andelen nøytrofile kan variere mellom 10-98 % i BAL-prøven. Store mengder slim og såkalte Curshmanns´ spiraler, slimsylindere fra bronkiolene, sees ofte ved alvorlig astma (Couëtil, 2013).

Summer-pasture pulmonary disease (SPAOPD) er et syndrom som ligner alvorlig astma, men symptomene trigges av andre faktorer. SPAOPD forekommer hovedsakelig i sydøstlige USA, og utløses av pollen sent på sommeren (Bayly et al., 2018 s. 358).

Lungeblødning (exercise induced pulmonary hemorrhage, EIPH)

Lungeblødning defineres som "blødning som oppstår i lungene hos hester under trening" (Hinchcliff et al., 2015). Lungeblødning ses i varierende grad hos mange hester som går i høyintensiv trening. Det er svært vanlig med gjentakende episoder av blødning. Hos ikke-løpshester har man sett en forekomst på mellom 10-70% ved intensiv trening (Bayly et al., 2018 s. 365). Norske varmbloodstravere og kaldbloodstravere har en forekomst på respektive 66,9 % og 36,1 % (Ihler, 2014).

Hos norske kaldbloodstravere med kraftig grad lungeblødning har man sett en negativ sammenheng på både inntjente penger og lengden av løpskarrieren. Hos varmbloodstravere sees det så hyppig som hos to tredjedeler av hestene ved hardt arbeid, men det ser ikke ut til å ha den samme hemmende effekten på prestasjonen (Ihler, 2014).

I ACVIM concensus statement av EIPH (2015) anbefales det at lungeblødning skal sees som en sykdom og ikke som en fysiologisk respons på hard trening (Hinchcliff et al., 2015).

Ved intensiv trening vil høyt trykk i pulmonære kapillærer og lavt trykk i alveolene fører til at blødningen oppstår. Ved den mest intense treningen kan trykket komme opp i 95 mmHg.

Lungeblødning oppstår mellom 75-100 mmHg. Det oppstår ruptur av kapillærenes endotel og

alveolenes epitel som medfører at erythrocytter kommer ut i alveolene og luftveiene. (Bayly et al., 2018). Til tross for mye kunnskap om lungeblødning er etiologien bak enda ikke fullt forstått.

Kliniske symptomer som epistaksis kan sees under eller rett etter trening, men dette er uvanlig, og er avhengig av graden av blødning i lungene. Ved undersøkelse er de fleste kliniske parametere innenfor det normale, men ved perkusjon av lungene har man i en liten studie registrert forandringer hos 50% av hester med lungeblødning (Bayly et al., 2018 s. 365; Doucet & Viel, 2002). Diagnosen lungeblødning stilles etter identifisering av blod i luftveiene. Dette kan man gjøre via endoskopi eller BAL-prøve etter intensiv trening. Ved BAL-cytologi sees makrofager med hemosiderin.

Lungeblødning oppstår i hovedsak i kaudodorsale lungefelt. Ved røntgen av lungene kan forandringer sees i dette området, men røntgen benyttes i praksis sjeldent og har lav sensitivitet for lungeblødning (Bayly et al., 2018 s. 365). Ultralyd benyttes, og har høy sensitivitet, men lav spesifisitet og har liten verdi for diagnostikk av lungeblødning (Hinchcliff et al., 2015).

Øvre luftveislidelser

Hester med lidelser i øvre luftveier har ofte en historie med lyd fra luftveiene og/eller prestasjonssvikt. Lyd oppstår ved vibrasjon under respirasjonen som forplanter seg til larynks.

De kan høres under ekspirasjon og/eller inspirasjon. Ved ekspirasjon skyldes lyden en luftveisobstruksjon mens lyd ved inspirasjon oppstår ved en kollaps i luftveiene.

Prestasjonssvikt kan vise seg som dårligere resultat enn forventet eller at hesten plutselig stopper opp under trening eller løp (Couëtil, 2013 s. 151-190).

Diagnose stilles etter anamnese, klinisk undersøkelse og tilleggsundersøkelse med palpasjon av larynks, endoskopi i hvile og på tredemølle samt ved noen anledninger røntgen. For mange

lidelser er det nødvendig med undersøkelse i hvile og under anstrengelse for å kunne stille diagnosen. Lidelser som diagnostiseres i hvile er i hovedsak anatomisk betinget. Ved endoskopi på tredemølle fremkommer dynamiske lidelser bedre. Flere lidelser kan forekomme samtidig, og det er derfor viktig med god diagnostikk (Couëtil, 2013 s. 151-190; Tan et al., 2005).

Som behandling kan man ved flere av lidelsene forsøke ulike tekniske hjelpemidler før man eventuelt går for kirurgisk behandling. Noen få lidelser behandles medisinsk.

Eksempler på øvre luftveislidelser som gir prestasjonssvikt er dislokasjon av bløte gane (DDSP), dynamisk larynkskollaps (DLC), recurrent laryngeal neuropati ("strupepiping"), stemmebåndskollaps/vocal fold collapse (VFC), arytenoid cartilage collapse (ACC), kollaps av aryepiglotticfoldene (ADAF/MDAF), alarfoldkollaps, epiglottis entrapement, nasal septum obstruksjon, epiglottitis, "rostral displacement of the palatopharyngeal arch" og arytenoid chondritis (Couëtil, 2013 s. 151-190; Knævelsrud, 2010; Vermedal & Strand, 2020).

Bakteriell pneumoni og pleuropneumoni

Bakteriell pneumoni oppstår som regel sekundært til annen primær sykdom eller andre risikofaktorer. Slike faktorer kan være lengre transport av hesten, hardt fysisk arbeid, anestesi eller primær virusinfeksjon som leder til nedsatt immunforsvar i luftveiene som igjen gjør det enklere for bakterier å kolonisere seg. Det er i hovedsak opportunistiske bakterier som isoleres fra nedre luftveiene ved en pneumoni, noe som indikerer at risikofaktorer ofte har en avgjørende rolle for sykdom. Den vanligste bakterien er *Streptococcus equi subsp.*

zooepidemicus fulgt av *Streptococcus spp.* Det er ofte en blandingsflora som identifiseres.

Sykdommen kan variere i grad fra en mild symptomfri infeksjon, til alvorlig infeksjon som krever svært intensiv behandling (Bayly et al., 2018 s. 346).

Primært oppstår som regel en bronkitt som kan spre seg utover til parenkymet i lungene og

forårsake en pleuropneumoni. Ved alvorlig systemisk infeksjon forekommer symptomer som letargi, nedsatt appetitt, feber, anstrengt respirasjon og hoste. Hesten kan ha smerter i brystkassen, og stille seg med frembeina i en bred stilling ut fra kroppen.

Diagnostikk inkluderer klinisk undersøkelse, hematologi og biokjemi, ultralyd, røntgen, thorakosentese og trakeal aspirat for bakteriell dyrking (Bayly et al., 2018 s. 346).

Virusinfeksjoner

Det er flere virus som kan forårsake luftveissymptomer hos hest. De vanligste inkluderer hesteinfluensa-virus, equine herpesvirus, equine rhinitisvirus A og B og equine adenovirus 1 (Couëtil et al., 2016).

Hesteinfluensa er endemisk i større deler av verden, med unntak av Island, Australia og New Zealand (OIE, u.å.). Australia fikk i 2007 inn influensa som forårsaket svært høye infeksjonstall i hestepopulasjonen i det immunologisk naive landet (NSW, 2008), men har etter utbruddet på nytt blitt fri for viruset (OIE, u.å.).

Hesteinfluensa sprer seg med aerosoler og smitter mest effektivt mellom dyr i stressende miljøer, som konkurranser og løp. Viruset kan forårsake høy feber, nedstemthet, hoste og neseflod som først er serøs og så går over til mucopurulent konsistens. Uvaksinerte hester får kraftigere symptomer enn vaksinerte dyr. Det finnes risiko for sekundær bakteriell infeksjon (Bayly et al., 2018).

Equine herpesvirus (EHV) finnes i 9 varianter som kan smitte hestedyr, hvor EHV 1-5 gir sykdom hos hest. EHV-1 og 4 gir øvre luftveislidelser med symptomer som kan forveksles med mEA. EHV-1 kan også forårsake abort og neurologisk sykdom som kan ende fatalt.

Kliniske symptomer fra luftveiene forårsaket av EHV 1 og 4 er feber, rennende nese og spontan hoste. Det kan medføre sekundære bakterielle infeksjoner (Bayly et al., 2018 s. 339).

Equine rhinitisvirus er et picornavirus som forekommer i to slekter, A og B. Viruset er registrert både hos friske og syke hester, og forekommer ofte sammen med andre virus eller bakterier. I de tilfeller viruset forårsaker sykdom er det observert 1-3 dagers feber, anoreksi, neseflod og hovne mandibulære lymfeknuter. Viruset skilles ut i rikelige mengder med urinen og det bidrar til å spre viruset (Crossly, 2018).

Lungeorm

Lungeorm er en felles betegnelse på parasitter i lungene. Årsaken kan være larver av parasitten *Parascaris equorum* (spolorm) som vandrer til lungene, eller voksne stadier av *Dictyocaulus arnfieldi* (nematode). Spolorm sees hovedsakelig hos føll og åringer og er vanligere hos hester som vokser opp hos oppdrettere med mange hester. *D. arnfieldi* kan forekomme hos hester i alle aldrer, men krever esel som vert for å gjennomføre hele sin livssyklus (Bayly et al., 2018 s. 356).

Kliniske tegn inkluderer hoste, treningsintoleranse, nedsatt hold, feber, nedstemthet og rennende nese. Ved auskultasjon over lungene kan hvesing og knitring høres. Alvorlige kliniske symptom, som feber og nedstemthet, oppstår som regel først ved sekundære bakterielle infeksjoner.

I trakealskylleprøve kan det forekomme høye verdier av eosinofile granulocytter (5-50 %, referanseverdi er <2%) (Bayly et al., 2018 s. 356) og larver kan i noen tilfeller oppdages (Couëtil et al., 2016). Økning i andel nøytrofile granulocytter kan forekomme ved en sekundær bakteriell infeksjon, da som regel med et systemisk sykdomsbilde (Bayly et al., 2018 s. 356).

Øvrig diagnostikk består av fecesprøve for påvisning av larver og røntgen av toraks (Ballweber, 2019; Bayly et al., 2018).

Hjertefeil

Kardiovaskulære sykdommer anses som den tredje vanligste årsaken til nedsatt prestasjon hos hester (Bayly et al., 2018 s. 387). Både trikuspidal- og mitralklaffinsuffisiens er sett hos høyt presterende løpshester (Bayly et al., 2018 s. 390). Med ultralyd vil man kunne få en god oversikt over klaffrelaterte hjertefeil. Ved lekkasjer vil bilyder kunne være hørbare ved auskultasjon (Bayly et al., 2018 s. 398). Bilyder graderes 1–6 og både grad og kvalitet på bilyden vil kunne si noe om årsaken og i hvilken utstrekning det får konsekvenser for hesten. En mitralklaffinsuffisiens vil høres over venstre toraks, og en trikuspidalklaffinsuffisiens vil høres over høyre toraks (Bayly et al., 2018 s. 406, 408).

Det forekommer flere former for hjerterytmeforstyrrelser hos hest. Hos hester med nedsatt prestasjon og treningsintoleranse regnes atrieflimmer som den vanligste. I hvile er "cardial output" som regel normal, men under hard trening vil dette bli redusert på grunn av at atriene ikke klarer å fylle ventriklene tilstrekkelig. Dette blir tydelig ved intensiv trening med høy hjerterefrekvens. Resultatet blir redusert distribusjon av oksygen til musklene og redusert treningsvillighet (Bayly et al., 2018 s. 503). Rytmeforstyrrelser måles ved bruk av elektrokardiografi (EKG).

Neoplasi

Neoplasi i toraks er uvanlig hos hest (Couëtil et al., 2016). Kliniske funn avhenger av typen tumor og lokalisasjon (Bayly et al., 2018 s. 369). Symptomer er kronisk hoste, vektnedgang, anoreksi, feber og respirasjonsvansker. Ventralt ødem, pleuraeffusjon og epitaksis kan også forekomme. De vanligste primære tumorene er granulær-celletumor som har sitt utspring fra schwann-celler, etterfulgt av karsinom og adenokarsinom. Av metastaser er lymfom vanligst, fulgt av hemangiosarkom (Bayly et al., 2018 s. 369). Bronkoskopi, røntgen, ultralyd, cytologi og histologi kan bidra til å stille diagnose (Couëtil et al., 2016).

Behandling av mild til moderat astma

Behandlingen av mild til moderat equine astma omfatter to hovedkomponenter; forbedring av hestens miljø og medisinsk behandling. Målet med behandlingen er å få ned inflammasjonen i lungene. Den medisinske behandlingen som omtales i ACVIM's IAD revised consensus statement (2016) inkluderer preparatene kortikosteroider, kromon, interferon alpha, inhalerte nanopartiklar av cystosine, phosphate-guanosine oligonucleotider (CpG), tilskudd av Omega 3 i fôret, bronkodilaterende preparater samt mukolytiske preparater (Bayly et al., 2018 s. 363; Couëtil, 2013 s. 100; Couëtil et al., 2016). Valg av preparat og behandlingsplan er avhengig av hvilke(n) celletype(r) som dominerer i BAL-prøven.

Miljøforbedring som behandling

Mengden støv i stallen er av stor betydning for hester med luftveissymptom og prestasjonssvikt. Flere tiltak kan forbedre miljøet for disse hestene. Ved enkle tiltak som å endre til flis framfor halm som strø i boksene og å fôre med ensilert grovfôr eller pellets istedenfor tørt høy, kan man redusere mengden støv og allergener med halvparten til en tredjedel fra utgangsnivået (Clements & Pirie, 2007a; Couëtil et al., 2016; Nogradi et al., 2015).

Tørt høy er en kilde til støv og allergener. Fôring fra høynett har vist å øke støvmengden i inspirasjonsluften 4 ganger sammenlignet med fôring av det samme høyet fra gulvet (Ivester et al., 2012). Å bløtlegge høyet før det gis til hesten reduserer støvmengden betydelig.

I forsøk med bløtlegging av tørt høy i 30 minutter har man sett en halvering av støvmengden. Etter 16 timer var reduksjonen to tredjedeler av utgangsnivået. Det er allikevel ikke gunstig å la høyet ligge den lengste tiden da mange av næringsstoffene i høyet forsvinner.

Generell god luftkvalitet er svært viktig. Vinduer og dører bør stå åpne så mye som mulig.

Stallgangen bør feies når hestene er ute for å unngå at de puster inn støv som virvles opp

(Clements & Pirie, 2007b). En god mekanisk avtrekksvifte vil redusere mengden CO₂, luftbårne allergener, ammoniakk, ultrasmå partikler og mikroorganismer som bakterier og soppsporer. Totalmengden støv vil ikke bli merkbart endret, men den generelle utskiftningen av luften vil øke (Wålinder et al., 2011). Uansett hvor god stallen er, vil luften alltid være best ute. Det er derfor anbefalt å ha affiserte hester ute hele eller største delen av døgnet.

Kortikosteroider

Kortikosteroider er potente antiinflammatoriske medisiner med bevist god effekt på alvorlig astma hos hest (Couëtil, 2013 s. 91). Det brukes ofte i kombinasjon med bronkodilaterende medisiner. Kortikosteroider brukes i stor grad også til behandling av mEA, men her er det ikke god dokumentasjon på effekt. Dette bidrar til at man tror mEA har en annen etiologi enn sEA. Uten forbedringer i stallmiljøet, har man derimot ikke sett reduksjon av nøytrofile granulocytter selv etter langvarig behandling (Bayly et al., 2018 s. 363; Couëtil, 2013 s. 100; Couëtil et al., 2016).

Kortikosteroider kan administreres som systemisk behandling eller med aerosol terapi. Til systemisk administrering finnes flere preparater (Couëtil, 2013 s. 91).

Prednisolone har god absorpsjon oralt og er det preparatet som brukes mest av oralpreparatene. Risikoen for bivirkninger er mindre enn for dexamethasone og trimcinolone da det er et korttidsvirkende kortikosteroid (Couëtil, 2013 s. 91-95).

Dexamethasone er et langtidsvirkende kortikosteroid, hvor man ser effekt etter noen timer og maksimal effekt etter omtrent en ukes bruk. På dag 3 har man sett reduksjon av nøytrofile granulocytter i BAL-prøve ved alvorlig astma. Det har god biotilgjengelighet per os, med mulig redusert virkning ved samtidig fôring av hesten (Couëtil, 2013 s. 91-95). Ifølge førstelektor Siv Hanche-Olsen ved NMBU veterinærhøgskolen anbefales ikke dexamethasone for langtids bruk, men det kan i noen tilfeller være aktuelt å starte behandlingen med dette.

Triamcinolone er et langtidsvirkende kortikosteroid. Man kan se effekt etter en dose, og den varer i 2-4 uker. Behandlingen skal ikke gjentas oftere enn 3 måneders intervall grunnet økt risiko for laminititt og Pituitary Pars Intermedia Dysfunction (PPID). Risikoen er mindre, men fortsatt til stede ved en gangs bruk eller intervall over 3 måneder (Couëtil, 2013 s. 91-95). Triamcinolone er ikke anbefalt som behandling i Norge (personlig referanse Siv Hanche-Olsen).

Tabell 2 viser preparater som er i bruk og tilgjengelige i Norge.

Preparat	Markedsført navn	Dosering	Kilde dosering	Karenstid konkurranse (K), Slakt (S)
Systemiske preparat				
Dexametasone	Dexadreson vet [®] Dexaject [®]	0,04 mg/kg IV eller IM 1 gang daglig. 0,05 mg/kg PO 1 gang daglig	5	S: 8 døgn K: 14 døgn
		0,04-0,1 mg/kg iv eller im. 0,08-0,0165 mg/kg PO. En gang daglig eller annenhver dag	4	
Prednisolone	Equisolon [®]	1,1-2,2 mg/kg PO en gang daglig	4 og 5	S: 10 døgn K: 14 døgn
Trimamcinolon-acetonid	Kenakort [®] med fler (humanpreparat)	0,04-0,09 mg/kg IM minimum 3 måneder intervall	4	S: 6 måneder (hestelista) K: 18 døgn
Inhalasjonspreparat				
Ciklesonid	Aservo Equi Haler [®]	Dag 1–5: 2744 µg per behandling, dag 6–10: 4116 µg per behandling. Q 12 h	3	S: 28 døgn K: 14 døgn
Beklometason	AeroBec [®] (humanpreparat)	1–8 µg/kg q 12 h	5	S: 6 måneder (hestelista)
		1–3 µg/kg q 12 h	4	K: 14 døgn
Flutikason	Flutide [®] med flere (humanpreparat)	1–6 µg/kg q 12 h	5	S: 6 måneder (hestelista)
		2–4 µg/kg q 12 h	4	K: 14 døgn

Tabell 2 Kortikosteroider tilgjengelige i Norge

Referanser tabell:

1. Forbuds og karenstidsbestemmelser gjeldende fra 01.07.2020
2. Hestelista: Forskrift om bruk av legemidler til dyr (FOR-2007-01-16-50), Landbruks- og matdepartementet, Helse og omsorgsdepartementet link: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2007-01-16-50>
3. Felleskatalogen, etter markedsført preparat per 20.02.2021. Brukt for slaktetid, dersom ikke hestelista er brukt.
4. Respiratory diseases of the horse. Couëtil. 2013. Side 95.
5. ACVIM IAD Revised concensus statement. 2016. Couëtil et al. Journal of veterinary internal medicine.

Som inhalasjonspreparat finnes ciklesonid, beclomethasone og fluticasone. Ciklesonide er mest potent, deretter fluticasone og sist beclomethasone. For de to siste har man sett en senkning av kortisol i plasma, mens man for ciklesonid ikke har sett dette (Lavoie et al., 2019).

Ciklesonid er det nyeste markedsførte preparatet. Det har indikasjon på lindring av symptomer ved alvorlig astma hos hest. Ciklesonid er i en inaktiv form når den inhaleres, og aktiveres ved kontakt med luftveiene og har en meget høy affinitet til glukokortikoidreseptorer. Den har lav biotilgjengelighet og rask systemisk clearance, noe som gjør at den har god sikkerhetsprofil (Felleskatalogen, 2020a).

Alle inhalasjonspreparatene skal gis 2 ganger daglig med omtrent 12 timers intervall. Ved forsøk der man har gitt det kun en gang daglig ble effekten noe redusert, men bedre hvis man ga det om morgen sammenlignet med å gi det om kvelden (Lavoie et al., 2019).

Bivirkninger av kortikosteroider avhenger av dose og varighet på behandlingen. (Couëtil, 2013 s. 91). Langtidsvirkende kortikosteroider eller behandling over lengre tid kan forårsake immunsuppresjon, PPID, binyrebarksuppresjon og forfangenhet. Unntaket er inhalasjonspreparatet ciklesonid hvor man ikke har sett disse bivirkningene (Lavoie et al., 2019).

Suppresjon av binyrebarken minskes noe dersom preparatet kun gis om morgenen. Ved bruk over 3 uker skal man ha en langsom nedtrapping til minste dose. Lengden på suppresjon av binyrebarken kan variere etter preparat. Dexamethason kan forårsake suppresjon opp til tre dager, mot prednisolon som gir suppresjon under 24 timer. For dexamethason er det av den grunn ekstra viktig med lengre nedtrapping, med minimal dose (0,01 mg/kg) hver 4 dag i minst 2 uker før man avslutter behandlingen (Couëtil, 2013 s. 91-94).

Før bruk av kortikosteroider er det viktig at infeksjon kan utelukkes som årsak til luftveisproblemene. (Couëtil, 2013 s. 91-94).

Inhalasjonsterapi

Inhalasjonsterapi tilfører medisinen direkte til luftveiene. Fordelene er lokal terapi i vevet som behandles, noe som gir mulighet for lavere totaldose enn ved systemisk behandling samt raskere effekt. Den totale lavere dosen vil redusere bivirkningene og i beste fall fjerne dem (Pirie & McGorum, 2017). Ulempen med inhalasjonsterapi er at det ofte krever to administreringer daglig. Den som behandler hesten kan få i seg rester av medisinen som, avhengig av preparatet, kan ha negative effekter. Mye sekret i luftveiene eller rennende nese kan hindre medikamentet i å nå helt ned i de perifere lungene (Duvivier et al., 1997; Pirie & McGorum, 2017).

Faktorer som partiklenes størrelse, tetthet, form og hastigheten på inspirert og ekspirert luft, gravitasjonen, diffusjon, elektrostatisk attraksjon og binding avgjør deres mulighet til å komme ned i lungene og gi god effekt. Partikkelstørrelsen bør være mellom 1-4 μm for å komme godt til i alveolene i hestens nedre luftveier. Dersom de er større, vil de sette seg fast i de i øvre luftveiene. Hvis de er mindre, under 0,5 μm , pustes de ofte ut igjen (Hoffman, 1997; Pirie & McGorum, 2017).

Det finnes forskjellige tekniske løsninger på administrasjonsdispensere. Jet-, ultralydbasert-, eller mesh-forstøver er mekaniske forstøverapparater. Metered Dose Inhaler (MDI) og tørrpulver-inhalatorer er manuelle dispensere (Pirie & McGorum, 2017).

I MDI blandes aktiv medisin med flyktig gass og slippes ut gjennom en manuell pumpe. Det krever risting før bruk og det må deponeres under inhalasjon. Tørrpulver-inhalator er avhengig av inspirasjonen til pasienten, og er vanskelig å få til å fungere godt hos hest.

Jet-forstøver lager en gass-strøm fra en kompressor eller gassylinder. Det kan være vanskelig å få en god nok gass-strøm og passende partikkelstørrelse. Ultralyd-baserte inhalatorer gjør at aerosoler dannes fra vibrasjoner som gir en stor variasjon i partikkelstørrelse. Mesh-forstøver er batteridrevet, stille og gir god fordeling av aerosoler. (Pirie & McGorum, 2017).

Utover den tekniske løsningen på dispensereren finnes det forskjellige innretninger for å gi hesten inhalasjonspreparatet. Hodemasker som omslutter mulen (f.eks. Flexineb) gir gode aerosoler og gjør en uavhengig av hestens respirasjonssyklus da aerosolene forblir i masken. Håndholdte kamre som dekker ett nesebor på hesten, finnes både som utstyr produsert til hest (f.eks. EquineHaler og Aero Hippius) og humane laget for spedbarn som kan brukes til hest. De har som regel en enveis ventil for å kun være aktive ved inspirasjon. De til spedbarn kan medføre vanskeligheter med tett nok omslutning rundt hele hestens nese (Pirie & McGorum, 2017).

Håndholdt utstyr som går inn i hestens nesebor har nylig kommet på markedet (Aservo EquiHaler) (Felleskatalogen, 2020a). Denne typen av holder har vist lovende resultater i forhold til deponering av medikament i tidligere studier (Pirie & McGorum, 2017).

Både kortikosteroider, bronkodilaterende midler og kromon kan administreres via inhalasjon (Pirie & McGorum, 2017).

Bronkodilaterende preparater

Graden av bronkokonstriksjon ved mEA er så lav at det ikke gir kliniske tegn i hvile. Derfor ser man ikke noen direkte bedring ved bronkodilaterende medisiner ved mEA, men det kan gi en reduksjon av hoste (Couëtil et al., 2016).

Dersom man bruker bronkodilaterende medisin er det anbefalt å i tillegg bruke kortikosteroider, slik at inflammasjonen på sikt går ned og man kan avslutte medisiner. Det er ikke anbefalt at bruke bronkodilaterende alene (Couëtil, 2013). Det tar kun bort symptomene ved å hemme kroppens forsvar mot å få allergenene ut i lungene, uten å behandle årsaken (Robinson, 2000). I tillegg kan beta-2 agonister ved langvarig bruk medføre toleranseutvikling, og kroppen slutter da å respondere på preparatet (Couëtil et al., 2016).

Det finnes tre klasser av bronkodilaterende medisiner; beta-2 agonister, antikolinerge midler, og methylxanthiner (Couëtil, 2013 s. 94).

Beta-agonister er de mest brukte, og virker gjennom stimulering av de adrenerge reseptorene i den glatte muskulaturen og gir avslapping av disse. Antikolinerge midler virker gjennom hemming av den parasymatiske delen av nervesystemet, og er kompetitive inhibitorer på acetylcholinreseptorer (Duvivier et al., 1997).

Methylxanthiner inhiberer fosfodiesterase, som normalt bidrar til omgjøringen av syklisk AMP til 5-AMP. Syklisk AMP bidrar til avslapning av muskelcellene, og en økning gir avslapning i glatt muskulatur.

Her følger en gjennomgang av aktuelle bronkodilaterende legemidlene. Informasjon baseres på kunnskap om alvorlig astma med bronkokonstriksjon (Couëtil, 2013 s. 94).

For systemisk bruk finnes følgende legemidler:

Klenbuterol hydroklorid tilhører beta-2 agonistene og kan gis iv eller po. Det er individuelle variasjoner på doseringen. Av den grunn starter man med lav dose og øker gradvis til respons.

Utover den bronkodilaterende effekten har klenbuterol en anti-inflammatorisk effekt og bidrar til mukociliær opprensning. Om lag 25% av hestene responderer ikke på klenbuterol. I <10% av tilfellene sees doseavhengig bivirkninger som svetting, muskeltremor og oppspilthet. Ved bruk i 8 uker har man sett kardiovaskulær remodelering, men betydningen av dette er uklart (Couëtil, 2013 s. 94).

Isoproterenol er en beta-adrenergisk medisin. Den gir en bedring på respirasjonen etter 15 minutter, men den individuelle variasjonen er stor. Den har også en sterk effekt på hjertet sine beta-1 reseptorer som kan føre til økning av hjerterefrekvensen.

Terbutaline er en beta-2 reseptor agonist. Den har dårlig opptak oralt, men god effekt ved intravenøs administrering. Effekten varer i omtrent 6 timer.

Methylxanthin-derivator kan ha varierende effekt etter dosering, og den effektive dosen er nær den toksiske. I denne gruppen har vi aminophylline og theophylline. Disse har bivirkninger som hyperestesi (økt følsomhet i huden), hypersensitivitetsreaksjon og muskeltremor. Pentoxifylline er et tredje preparat i samme gruppen med god effekt uten disse bivirkningene (Couëtil, 2013 s. 94)

N-butylskopolammoniumbromid, et antikolinergt preparat som ofte brukes ved kolikk, har også god effekt ved akutt bronkokonstriksjon. Man har sett en rask effekt (2 minutter etter administrasjon), men kort varighet (under 1 time) hos hester med sEA. Dette er tryggere å bruke sammenlignet med atropin, da det ikke penetrerer blod-hjernebarrieren og neurologiske bivirkninger har dermed ikke blitt rapportert. Den påvirker tarmmotiliteten og hjerterefrekvensen i mindre grad enn atropin (Couetil et al., 2012).

Atropin er et annet antikolinergt preparat. Den har god effekt etter 10 minutter og opp til 1-2 timer. Høyere doser enn beregnet for mEA kan gi ileus og buksmerter. Dette kan også oppstå ved gjentatte doseringer, og skal av den grunn kun brukes en gang (Couëtil, 2013 s. 93-95).

Glycopyrrolate er et antikolinergt preparat med samme effekt som atropin, men her har man ikke sett de samme bivirkningene. Også denne skal kun brukes en gang (Couëtil, 2013 s. 93-95).

Atropin, glycopyrrolate og N-butylskopolammoniumbromid er indisert ved akutt respirasjonssvikt, så da dette ikke forekommer ved mEA er det ikke aktuelle å bruke for dette (Couëtil et al., 2012; Couëtil, 2013 s. 93-95).

Som inhalasjonspreparat finnes to grupper bronkodilaterende: beta-2 agonister og antikolinerge.

Beta-2 agonistene gir avslapping i glatt muskulatur og inhiberer degranulering av mastcellene. Det finnes korttidsvirkende farmaka, som gir effekt etter cirka 5 minutter og varer i omtrent 1 time. Her har vi preparatene albuterol (salbutamol), pirbuterol og fenoterol. Den førstnevnte kan ha en lenger effekt hos noen individer. Av langtidsvirkende farmaka har vi salmeterol, som kun finnes i kombinasjon med kortikosteroider, og formoterol.

Antikolinerge inhalasjons-bronkodilaterende medisin er ipratropium bromide. Det er et derivat av atropin, men som ikke gir de samme bivirkningene som atropin gitt systemisk. Det gir en dilatasjon i cirka 6 timer, med maksimal effekt 1 time etter administrering (Couëtil, 2013 s. 94-95).

Preparat	Markedsført navn	Dosering	Kilde dosering	Karenstid (K), Slakt (S)
Systemiske preparat				
Atropine (antikolinerg)	Atropin (Takeda®) (humanpreparat)	0,01-0,02 mg/kg IV 1 gang	3	K: 14 S: minimum 28 døgn
N-butylskopolammonium-bromid (antikolinerg)	Spasmipur vet® Spasmium® (med NSAIDs)	0,3 mg/kg IV 1 gang	5	Spasmipur vet® K: 96 h S: 3 døgn Spasmium® K: 7 døgn S: 12 døgn)
Klenbuterol (beta-2 adrenerg)	Dilaterol vet®	0,08-3,2 µg/kg PO q 12 h	3 og 4	K: 28 døgn S: 28 døgn (Felleskatalogen)
Inhalasjonspreparat				
Ipratropiumbromid (beta-2 adrenerg)	Atrovent® med flere (humanpreparat)	Etter doseringsutstyr: 0,2-0,4 µg/kg Aeromask, Aero Hippius, Equine Haler. 2-3 µg/kg Ultrasonic nebulizer Hver 8-12 h	4	K: 14 døgn S: 6 måneder (hestelista)
Salmeterol (beta-2 adrenerg)	Serevent® (humanpreparat) Seretide® (humanpreparat med kortison)	219 µg q 12 h	3	K: 14 døgn S: ikke egnet
Albuterol (Salbutamol) (beta-2 adrenerg)	Ventoline® (humanpreparat)	1-2 µg/kg, hver 1-3 h	3 og 4	K: 14 døgn S: ikke egnet

Tabell 3 Bronkodilaterende preparat tilgjengelig i Norge

Kilde tabell:

1. Forbuds og karenstidsbestemmelser gjeldende fra 01.07.2020. Det norske travselskap.
2. Forskrift om bruk av legemidler til dyr (FOR-2007-01-16-50), Landbruks- og matdepartementet, Helse og omsorgsdepartementet link: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2007-01-16-50> (Generelle regler + hestelisten)
3. Respiratory diseases of the horse. Couëtil. 2013. Side 95
4. ACVIM IAD Revised concensus statement. 2016. Couëtil et al. Journal of veterinary internal medicine.
5. Effects of N-butylscopolammonium Bromide on Lung Function in Horses with Recurrent Airway Obstruction. Couëtil et al. 2012.
6. Felleskatalogen, etter markedsførte preparater per 20.02.2021. Brukt for slaktetid dersom ikke hestelista er brukt.

Mukolytisk (slimløsende) behandling

De vanligste mukokinetiske stoffene er N-acetylcystein, bromhexin og dembrexin.

N-acetylcystein er et derivat av L-cystine og brukes i veterinærmedisinen som slimløsende ved bronkopulmonær sykdom, tidligere ved okulær sykdom, for å løse opp mekonium samt ved paracetamol toksisitet. Den virker ved at frie svovelgrupper bryter opp disulfid-bindinger i mukoprotein. Dette medfører mindre viskositet i slimet i luftveiene hos hester med astma (Quintavalla et al., 2009).

Eneste registrerte preparat med acetylcystein tilgjengelige i Norge er Equimucin vet[®] (Felleskatalogen, 2018). Anbefalt dosering er 20 mg/kg PO per dag (Quintavalla et al., 2009).

Dembrexin endrer sidekjedene i karbohydratene i sekretet. Det reduserer mengden sekret i trakea, minsker viskositeten og har sekundær hostedempende effekt (Quintavalla et al., 2009). Doseringen som har blitt brukt har vært 0,3 mg/kg fordelt på to administreringer per døgn (Z. Bakos, 2018). Markedsført preparat er Sputolysin vet[®]. Det kan bli tatt inn på godkjenningfritak (Felleskatalogen, 2020b).

Hoste oppstår ved stimuli av irritasjonsreseptorer i luftveiene distalt for larynks, som sender signal til hostesenteret i medulla i hjernen. Irritasjonsreseptorene kan stimuleres av både kjemisk (f.eks. støv, gasser, histamin) og mekanisk stimuli (f.eks. sekret). Hoste kan også oppstå via aktivering av C-fiber-reseptorer i alveolene. Hos hest virker irritasjonsreseptorene mindre følsomme for både mekanisk og kjemisk stimuli sammenlignet med andre arter. Hester har dermed dårlig utviklet hosterespons. Hoste fungerer som kroppens naturlige forsvar og bidrar til å rense luftveiene. Man bør derfor unngå å medisinsk dempe hoste hos hest med astma (Couëtil, 2013 s. 77-78).

Mastcellestabilisator

Kromon (engelsk: sodium cromoglycate) er det eneste kjente preparat som stabiliserer mastcellene og har vist god effekt på mEA med forhøyde verdier av denne celletypen (Couëtil, 2013 s. 101; Couëtil et al., 2016). Man har humant sett en inhibering av granulering, og dermed minsket histaminutslipp. Endelig virkningsmekanisme er ikke kartlagt. Man ser en bedring av kliniske tegn, men har på BAL-cytologi ikke sett en reduksjon i andelen mastceller (Hare et al., 1994). Det er ikke noen kjente bivirkninger ved behandlingen. Ved mEA dominert av andre typer celler enn mastceller, har det ikke vært observert klinisk bedring (Couëtil, 2013 s. 95; Couëtil et al., 2016).

Kromon blir administrert via aerosol-inhalasjon. Legemidlet som brukes heter Intal[®] som tas inn på godkjenningsfritak (Felleskatalogen, 2020c). Doseringen er 200 mg for en jet nebulizer og 80 mg for en ultrasonic nebulizer og gis hver 12. eller 24. time respektive.

Interferon-alfa

Interferon alfa er et immunmodulerende og antiviralt middel som brukes i behandling av mEA (Couëtil et al., 2016; McGorum, 2007 s. 598). Det gir reduksjon av eksudat i luftveiene, lavere totalt celledtall på BAL-prøve og reduksjon av lymfocytter og nøytrofile granulocytter (Moor et al., 1996; Moore et al., 2004).

Man har ikke sett effekt av interferon-alfa på hester med økt andel mastceller eller eosinofile granulocytter.

Interferon-alfa gis per oralt, 50-150 U en gang i døgnet i 5 dager, og reduserer sannsynligheten for residiv (Couëtil et al., 2016).

Omega-3 tilskudd

Omega-3 inneholder de flerumettede fettsyrene eikosapentaensyra (EPA) og docosahexaensyre (DHA). Med disse i form av Omega 3 fiskolje tilført i foret har man sett flere gunstige helseeffekter hos hester i trening; lavere hjerterefrekvens under treningen, lavere plasmaglukose, lavere insulinnivåer, lavere andel fettsyrer i plasma og lavere kolesterol (O'Connor et al., 2004).

I en studie har man ved tilskudd av Omega-3 sett klinisk bedring i form av mindre hosting, bedre lungefunksjon og reduksjon i andelen nøytrofile celler i BAL-prøve samt en økning i mengden DHA i blodplasma (Couëtil et al., 2016; Nogradi et al., 2015).

Anbefalt dosering er 1,5 g/dag DHA peroralt. Man kan forvente effekt etter 1-2 uker behandling (Couëtil et al., 2016).

Andre preparater

CpG-nanopartikler

Det forskes på effekten av cytosine-fosfat-guanosine oligodeoxynukleotider (CpG-ODN) hos hester med alvorlig astma. CpG gjenkjennes av en type Toll-like reseptor som finnes hos makrofager, epitelceller i bronkiene, endotelceller i kapillærene og nøytrofile granulocytter i hestens lunger. Cellene dirigeres mot en Th1-rettet immunrespons som demper den allergenspesifikke Th2-rettede responsen. Oppregulering av IL-10, en antiinflammatorisk cytokin, har også blitt observert.

Studier av behandling med CpG-ODN har vist en bedring i respirasjonsmotstand, neseflod, trakealsekret og viskositet, redusert prosentandel nøytrofile granulocytter i BAL og økning i arterielt oksygentrykk.

Det er sannsynlig at CpG-ODN i fremtiden kan bli en ny behandlingsmulighet for astma både hos hest og menneske (Klier et al., 2015; Klier et al., 2018).

Antibiotika

Astma er en immunologisk inflammasjon, og ikke en infeksjon, så det er ingen indikasjon for bruk av slike midler (Ivester & Couëtil, 2014).

Non-Steroid Anti-Inflammatory drugs (NSAIDs)

NSAIDs hemmer utskillelse av prostaglandin E₂ (PGE₂) indirekte ved å hemme syntesen av cyklooxygenase (COX1). PGE₂ har mange fysiologiske funksjoner, deriblant på immunsystemet, på blodkar med vasodilatasjon og økt vasopermabilitet og regulerende effekt på glatt muskulatur som påvirker respirasjonen (Legler et al., 2010). Flere studier har vist en bronkodilaterende effekt av PGE₂ i luftveiene, en ønsket egenskap ved astma som gir bronkokonstriksjon (Sastre & del Pozo, 2012).

På grunn av hemmende effekt på prostaglandin, er det ikke anbefalt å gi NSAIDs til hester med astma.

Formål

Studien har som mål å se på forekomsten av mild til moderat astma hos norske travere undersøkt med bronkoalveolær lavage ved hesteklinikken, Veterinærhøgskolen NMBU. Hestene kommer inn på grunn av luftveissymptom eller prestasjonssvikt, sannsynlig relatert til luftveiene.

Det var i tillegg et mål å kartlegge det cytologiske bildet i de nedre luftveiene hos hester i ulike aldersgrupper med disse symptomene.

Materiale og metoder

Innsamling av data

Det ble samlet inn data fra journaler til travhester undersøkt med BAL ved hesteklinikken, Veterinærhøgskolen, NMBU.

Journalene ble samlet inn ved å bruke søkeordet "BAL" i søkefelt på undersøkelse og rase "varmblodstraver" respektive "kaldblodstraver" i NMBU hesteklinikkens journalsystem.

Data ble innhentet for varmblodstravere i tidsrommet 2014 til ut 2019. Søket ga 218 treff, hvor det etter gjennomgang og utsortering av ikke relevante journaler gjensto 117 journaler.

For kaldblodstravere ble det innhentet data fra 2014 til ut 2018. Søket ga 150 treff, og etter gjennomgang og utsortering av ikke relevante journaler gjensto det 99 journaler.

Gamle travere brukt til ridning ble tatt vekk fra studien. Enkelte hester hadde fått utført BAL-prøve ved flere anledninger. Kontroll-prøvetaking innen 3 måneder fra den første ble sortert bort. Noen hester ble det tatt prøve fra med mer enn 3 måneders mellomrom, og disse ble inkludert i studien. Fra varmblodstravere var det 7 hester med flere journaler, det samme for kaldblodstravere. Alle 7 varmblodstravere hadde 2 journaler, 6 kaldblodstravere hadde 2 journaler og 1 kaldblodstraver hadde 3 journaler.

For de 7 hestene som hadde kontrollprøver innen 3 måneder, har vi sett på utfallet av behandling. Det var prøver fra 3 kaldblodstravere og 4 varmblodstravere. Kontrollprøvene fra disse er tatt ut av det øvrige studiematerialet, da disse ikke representerer materialet vi ønsket å fokusere på i studien.

BAL prøveuttak

Før uttak av BAL-prøve ble mange av hestene undersøkt for respirasjonslidelser i øvre luftveier med dynamisk endoskopi under prestasjonstest på tredemølle med samtidig hjerteundersøkelse (EKG). Hestene hvilte i minst 30 minutter før BAL-prøven ble utført. Samtlige uttak ble gjort av seniorveterinærer innenfor indremedisin. Prøven ble tatt ut med endoskop eller blindt med BAL-kateter. BAL-kateter hadde en bredde på 11 mm i diameter. Endoskopet var 2 m langt og 11 mm i diameter av typen Videomed.

Hestene ble plassert i tvangsboks og sedert med detomedin (12 µg/kg) og butorfanol (25 µg/kg). Det ble brukt brems for ytterligere beroligende effekt når prøveutstyret ble ført gjennom ene neseboret på hesten.

50 ml romtemperert NaCl 0,9 % tilsatt 5 ml mepivakain 20 mg/ml (lokalbedøvelse) ble deponert ved bifurkaturen via arbeidskanalen i endoskopet. Etter omtrent 30 sekunder ble endoskopet ført videre frem til lett motstand oppstod når endoskopet tettet igjen bronkiolen. Det ble brukt totalt 300 ml romtemperert NaCl 0,9 %, hvor 100 ml ble injisert om gangen for så bli aspirert tilbake. Det forventes en retur på nærmere 80 % fra friske hester. Prøveuttakene ble forsiktig blandet sammen i en steril glasskolbe før 50-60 ml ble aspirert i en sprøyte og levert laboratoriet innen én time.

Ved blindt uttak med et BAL-kateter ble lokalbedøvelse først lagt via et endoskop. BAL-kateteret ble ført inn på samme måte som et endoskop, mens inngangen til bronkiolen ble tettet med en cuff før prøveuttaket.

Preparering av BAL-prøven

I laboratoriet ble det gjort en visuell bedømming av prøven; total mengde væske, mengde skum (surfaktant fra alveolene), farge på væsken og turbiditet samt om væsken inneholdt fnokker eller klumper.

Deretter ble væsken sentrifugert i vanlig sentrifuge og i en cyto-sentrifuge.

- 1) Thermo Cytospin 4: 200 µL væske ble spunnet ved 1000 rpm i 10 minutter. To cytopsin-preparater ble laget per hest. Etter sentrifugeringen ble utstrykene tørket hurtig for å bevare best mulig cellemorfologi.
- 2) Sediment til utstryk, vanlig sentrifuge: 4 x 10 ml ble spunnet ved 1000 rpm i 10 minutter. Mengden og fargen på sedimentet ble notert. Det ble laget 4 utstryk fra sedimentet. Disse ble lufttørket hurtig ved å vifte objektglassene.

Utstrykene ble farget med modifisert Wright eller May Grunwald Giemsa og montert med Histokit.

Avlesning av celleutstryk fra BAL-prøver

Undersøkelse av utstryk fra sediment inkluderte semikvantitativ bedømmelse av mengde slim, antall kjerneholdige celler, antall røde blodceller og bedømmelse av cellemorfologien. Det ble også notert om makrofagene inneholdt hemosiderin. Differensialtelling ble foretatt av 400 celler i Cytospin-preparat ved å telle 100 celler i 4 kvadranter ved bruk av 40x objektiv. Epitelceller var ikke inkludert i differensialtellingen.

Referanseverdier ved NMBU brukt for friske hester er vist i tabellen:

Makrofager	Lymfocytter	Nøytrofile granulocytter	Mastceller	Eosinofile granulocytter
50-70%	30-50%	<5%	<2%	<0,2%

Tabell 4 Referanseverdier brukt for friske hester ved BAL.

Videre ble en inndeling i mild, moderat og markert økning satt opp som følgende:

Celletypen	Mild økning	Moderat økning	Markert økning
Nøytrofile granulocytter	5,1-10%	10,1-20%	>20%
Mastceller	2,1-4%	4,1-8%	>8%
Eosinofile granulocytter	0,3-2%	2,1-5%	>5%

Tabell 5 Inndeling av mild, moderat og markert øking av cellepopulasjonen ved NMBU.

Frem til august 2016 ble BAL-prøvene vurdert av kliniske patologer hvorav en diplomat (ECVCP) ved Sentrallaboratoriet, NMBU. Fra august 2016 ble BAL-prøvene vurdert av den samme diplomaten i klinisk patologi som nå hadde stilling ved Institutt for sport- og familiedyrmedisin, NMBU.

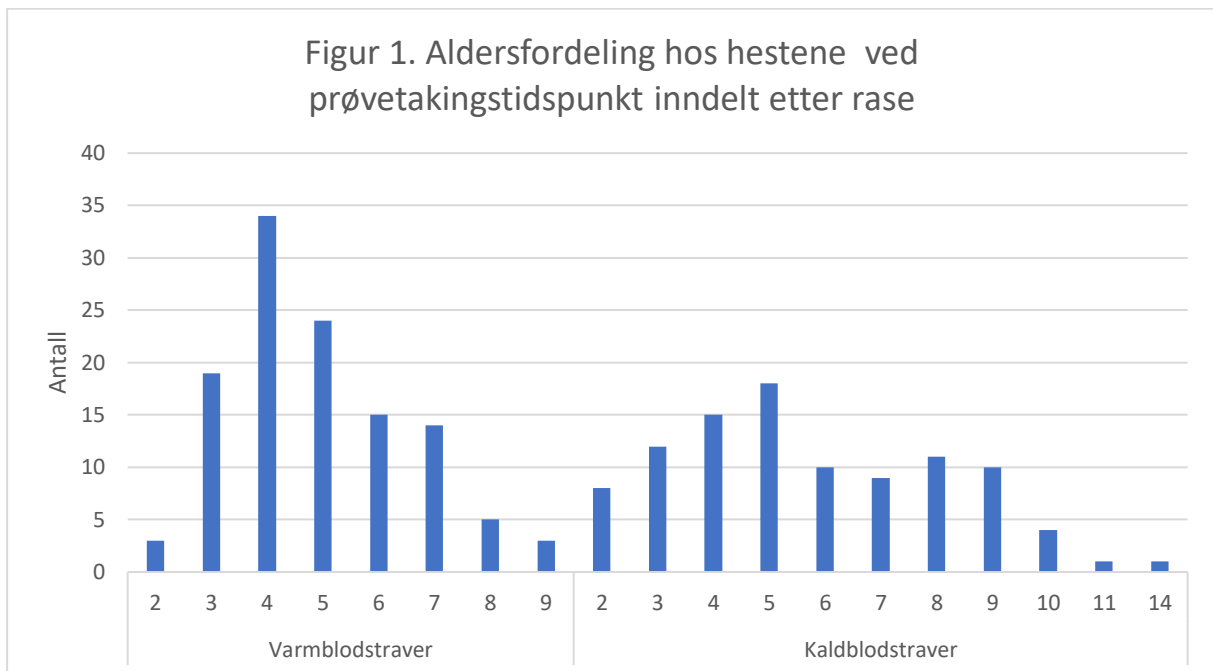
Resultater

Studiepopulasjonen

Studiepopulasjonen besto av 110 varmbloodstravere med 117 BAL-prøver og 92 kaldbloodstravere med 99 BAL-prøver.

Aldersfordelingen av hestene er vist i figur 1. I gruppen med varmbloodshester var det flest hester i alderen 3 til 5 år, med en markant nedgang av undersøkte hester med høyere alder.

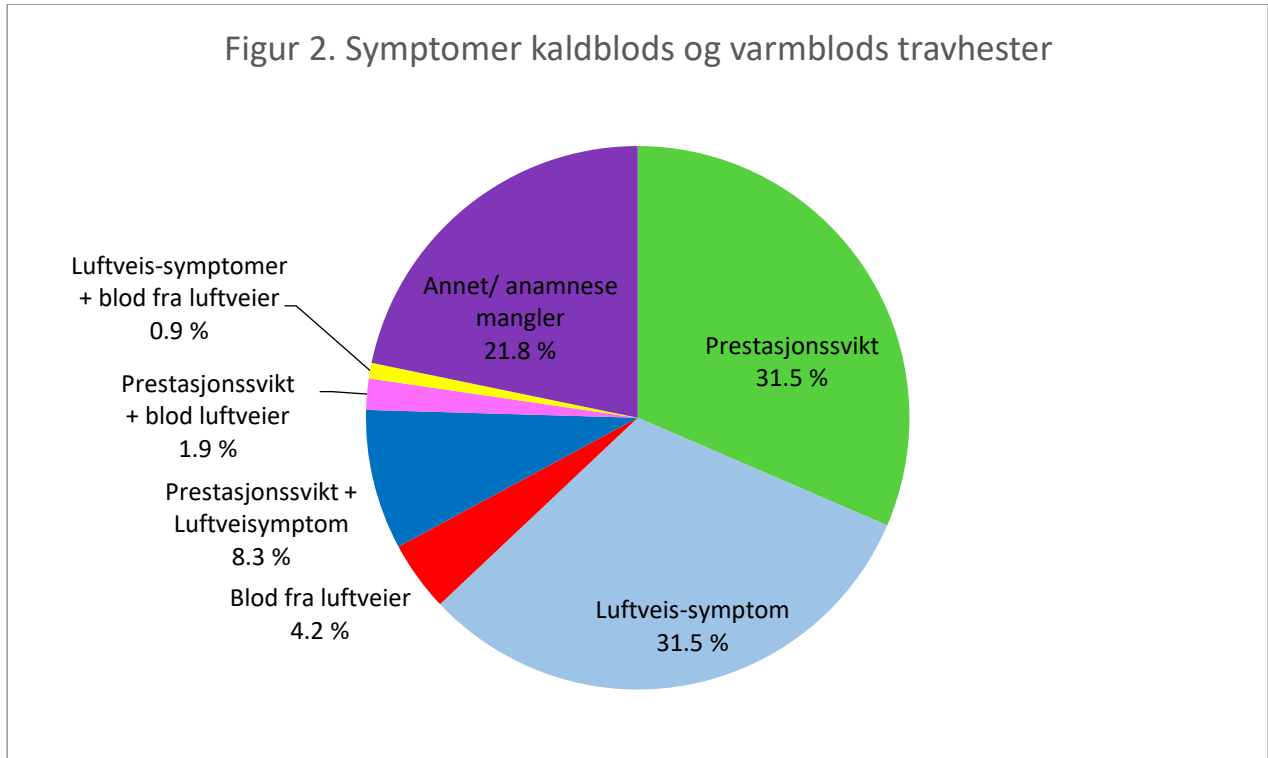
For kaldbloodstravere var alderen på hestene mer jevnt fordelt fra 2-14 år.



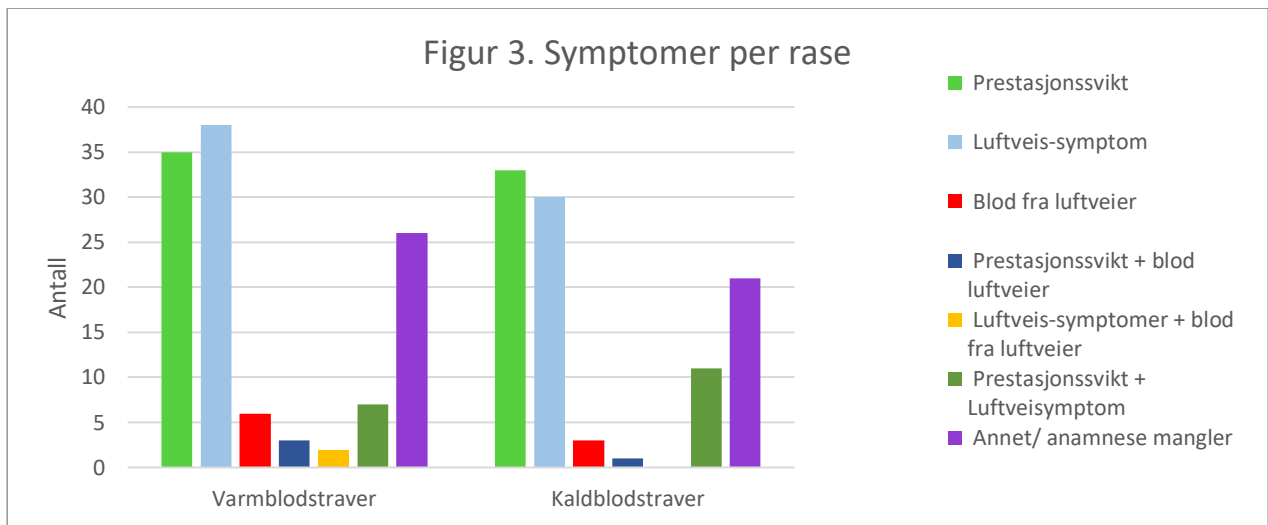
Symptomer hos undersøkte hester

Anamnese fra totalt 169 hester la grunnlag for registrerte symptomer. Hos 47 hester manglet relevant anamnese. Fordelingen av symptomer oppgitt i anamnesen er vist i figur 2 og figur 3, der figur 2 viser begge raser samlet og figur 3 viser fordeling av varmbloods- og kaldbloodstravere hver for seg.

Figur 2. Symptomer kaldblods og varmbloodstraver



Figur 3. Symptomer per rase



mEA diagnose

Av totalt 216 prøver falt 187 (86,6%) inn under kategorien mEA. Kun en prøve viser en økning av nøytrofile granulocytter på 25%, som indikerer sEA. Denne hadde også en økning av eosinofile granulocytter på 7%.

Tjuefire prøver viste en økning i andel nøytrofile granulocytter, 159 prøver viste en økning av mastceller og 83 prøver viste en økning av eosinofile granulocytter. I 66 av prøvene var det en økning av mer enn en celletype.

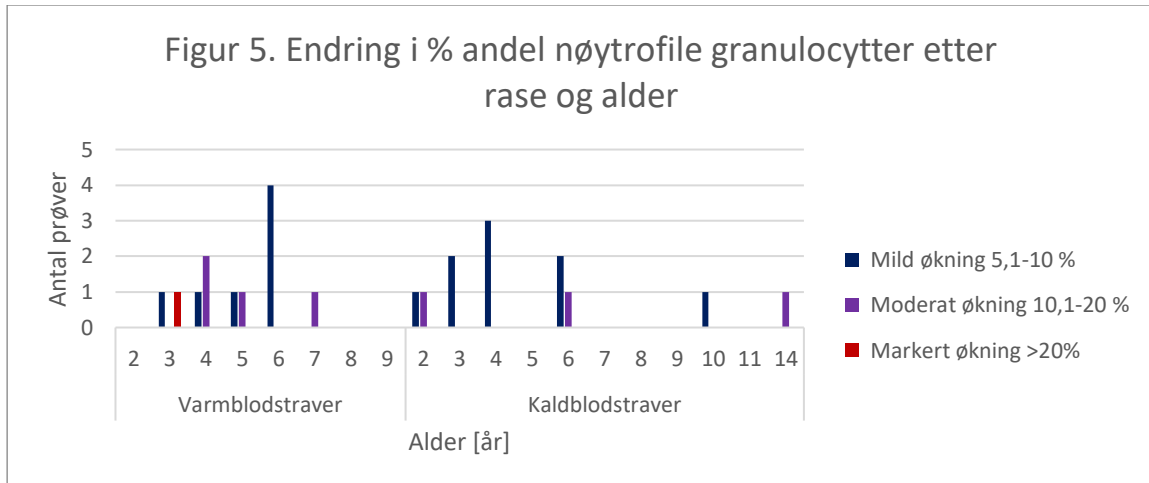
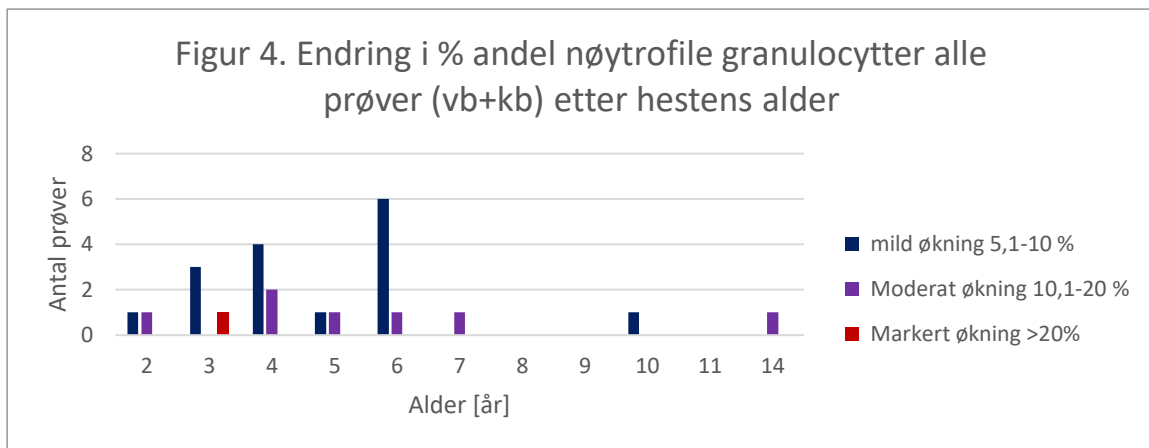
Tredemølleresultater

Av den undersøkte populasjonen ble 106 hester undersøkt på tredemølle med endoskop før det ble utført BAL-prøve. Av disse var 48 kaldblodstravere og 58 varmbloedstravere. Totalt 26 hester fikk en diagnose knyttet til øvre luftveislidelser som alene eller sammen med annen diagnose kunne være årsaken til symptomene. Den vanligste forekomne diagnosen, med 15 hester, var DDSP, og den forekom alene i 9 tilfeller. Andre registrerte diagnoser var dynamisk larynkskollaps, stemmebåndskollaps alene eller samtidig med kollaps av arytenoidene, kollaps av aryepiglotticfoldene, alarfolkollaps og instabilitet av bløte ganen. Tjueen av de totalt 26 hestene som fikk en diagnose knyttet til øvre luftveier hadde et cellebilde forenelig med mild equine astma. Seks av disse 21 hadde samtidig makrofager med hemosiderin forenelig med lungeblødning og tre viste lymfocytær inflammasjon med en økning av lymfocytter over vårt referanseområde (30-50%). To prøver viste ingen forandringer i cellebildet.

Endring i andel nøytrofile granulocytter

Totalt 24 av 216 prøver viste økning i andel nøytrofile granulocytter. Dette tilsvarer 11,1% av alle prøver. Alder ved prøvetakning og økningen vises i figur 4 og 5.

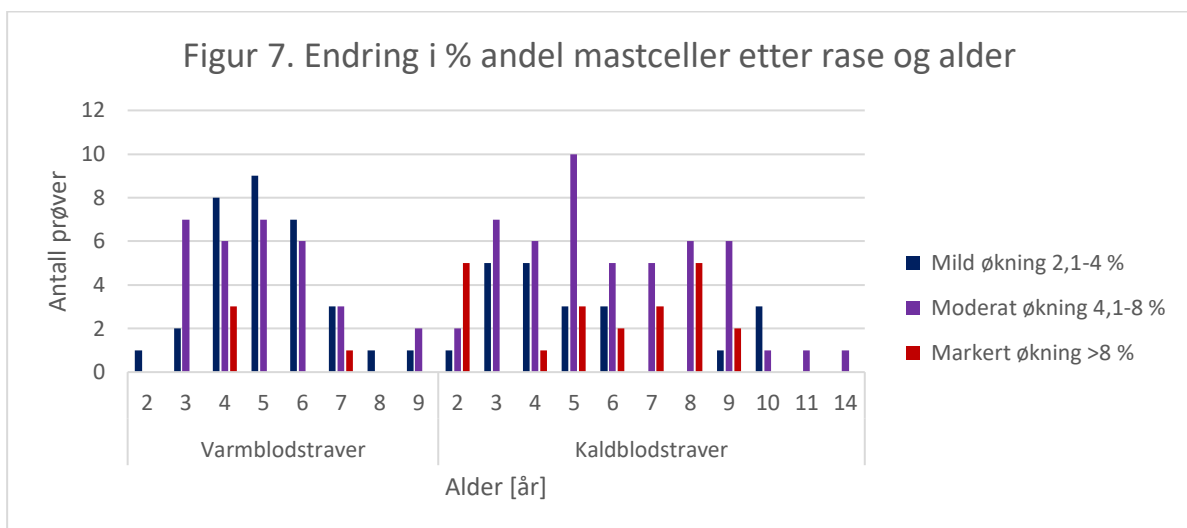
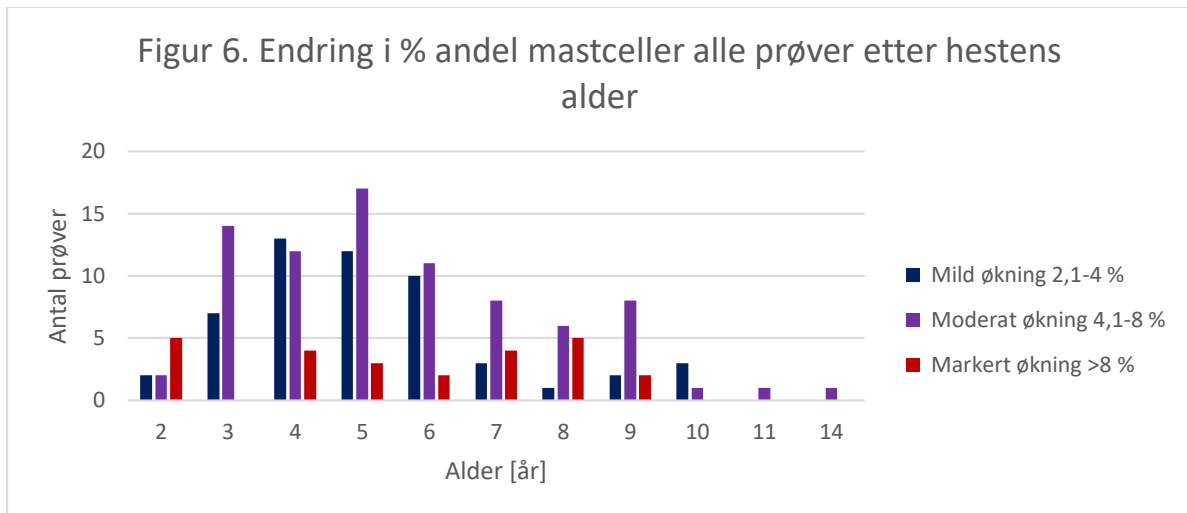
Seksten prøver viste en mild økning og syv viste en moderat økning. En hest hadde markert økning som indikerer sEA. Fordelt på rase hadde totalt 12 varmblodstravere og 12 kaldblodstravere økning i andel nøytrofile granulocytter.



Endring i andel mastceller

Totalt 159 av 216 prøver viste en forandring i andel mastceller. Dette tilsvarer 76,6 % av prøvene. Av disse viste 53 en mild økning, 81 en moderat økning og 25 en markert økning.

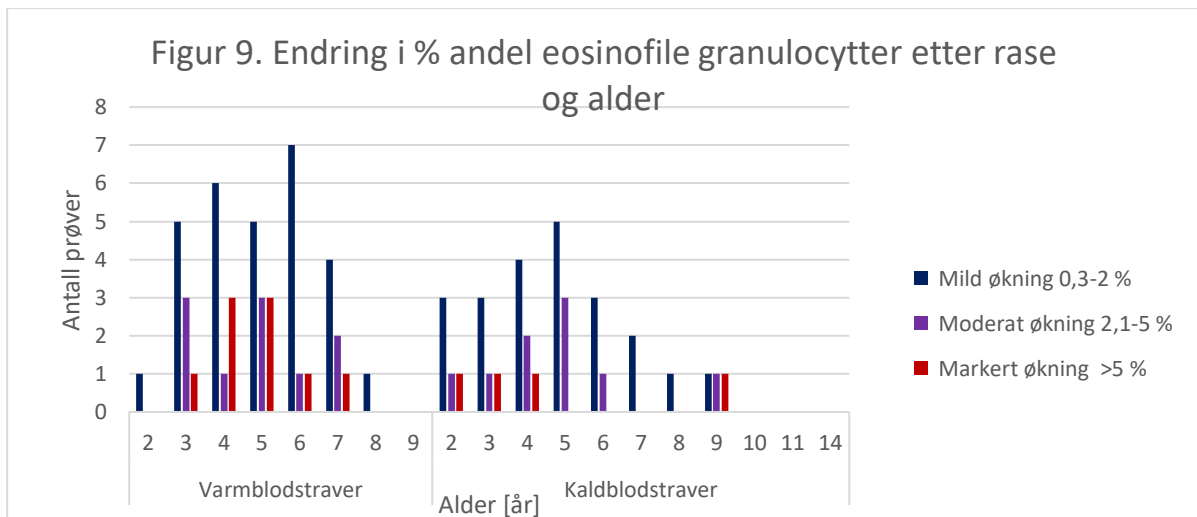
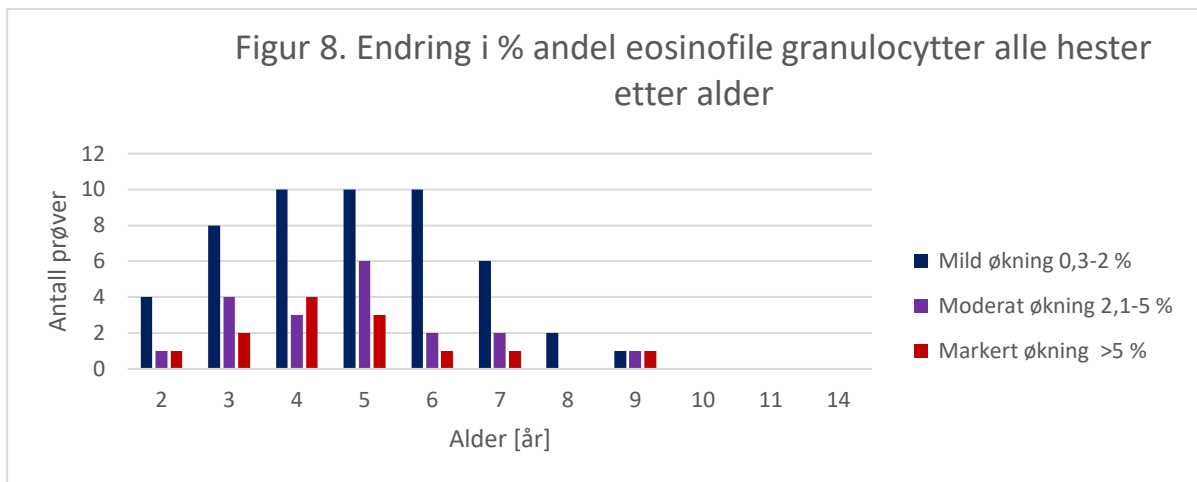
Figur 6 viser endringer i andel mastceller hos alle celler. Figur 7 viser endringer per rase.



Endring i andel eosinofile granulocytter

Totalt 83 av 216 prøver viste forandringer i andel eosinofile granulocytter. Dette tilsvarer 38,4% av prøvene. Av disse viste 51 en mild økning, 19 en moderat økning og 13 en markert økning.

Forandringer i prosentandel eosinofile granulocytter for alle hester kan sees i figur 8 og forandringer etter rase og alder kan sees i figur 9.



Økning av flere celletyper

Flere hester viste økning i prosentandel av mer enn en type celler.

Kombinasjon av økt andel eosinofile granulocytter, mastceller og nøytrofile granulocytter forekom i 9 prøver. Kombinasjonen økt andel nøytrofile granulocytter og mastceller forekom i 9 tilfeller. Kombinasjonen økt andel nøytrofile granulocytter og eosinofile granulocytter forekom i 1 tilfelle. Kombinasjonen mastceller og eosinofile granulocytter forekom i 47 tilfeller.

Kombinasjonen mastceller og eosinofile granulocytter fordelte seg som vist i tabell 6.

	Mastceller <i>Mild økning</i>	Mastceller <i>Moderat økning</i>	Mastceller <i>Markert økning</i>
Eosinofile granulocytter <i>Mild økning</i>	10	13	6
Eosinofile granulocytter <i>Moderat økning</i>	5	4	3
Eosinofile granulocytter <i>Markert økning</i>	3	3	0

Tabell 6

Hester med kontrollprøver

De tre kaldblodstraverne med kontrollprøver i studien hadde alle økt andel mastceller. En hadde markert økning, og to hadde moderat økning. Samtlige ble behandlet med kromon (Intal eller Lomudal) som inhalasjonspreparat. En hest som hadde moderat øking hadde ingen bedring ved cytologisk av BAL prøven ved kontroll etter 8-11 uker, mens den andre viste en bedring fra moderat til mild øking av mastceller. Den med markert økning av mastceller viste ved kontroll etter 3 måneder en moderat økning av mastceller. Etter ytterligere 5 måneder viste den moderat øking i eosinofile granulocytter i tillegg til markert øking i mastceller. Ved kontroll enda 4 måneder senere hadde den fortsatt moderat øking i mastceller.

Prøvene til de fire varmblodstraverne viste et mer variert bilde. En hadde markert forøket andel eosinofile celler. Den ble behandlet med kortikosteroid (Prednisolon) i tillegg til miljøtiltak. Ved siste kontroll etter 2,5 måned var verdiene innenfor referanseområdet. Nummer 2 hadde 25% nøytrofile granulocytter som er forenelig med sEA. Den hadde samtidig markert økning i andel eosinofile granulocytter (7%) og ble behandlet med kromon (Lomudal) og kortikosteroid (Prednisolon). Ved ny BAL-undersøkelse etter 9 uker var andelen nøytrofile granulocytter innenfor våre referanseverdier, eosinofile granulocytter markert forøket (31,7%), og det forelå en mild økning i andel mastceller. Hesten ble satt på 3 ukers lang prednisolon-behandling i tillegg til miljøtiltak. BAL-prøve 3 måneder senere viste verdier innenfor referanseområdet.

Nummer 3 hadde en moderat økning i mastceller. Etter behandling med kromon (Intal®) ble det kun sett en marginal økning i andel mastceller ved kontroll prøve 5 uker senere.

Nummer 4 hadde moderat økning i mastceller og ble behandlet med kortikosteroid (Prednisolon) og kromon (Intal). Kontroll 5 uker senere viste en markert økning av mastceller, men etter 3 måneder med miljøtiltak viste BAL-prøven at alle cellepopulasjonene var innenfor referanseverdiene.

Diskusjon

Dette er en retrospektivt deskriptiv studie av varmlblods og kaldblods travhester undersøkt ved NMBU i årene 2014-2019. Et større antall hester, 202 individer med totalt 216 prøver, er med i studien og de representerer travhester undersøkt for prestasjonssvikt og/eller luftveisproblemer ved hesteklinikken i perioden.

Symptomer

Prestasjonssvikt og luftveissymptomer i form av hoste er de vanligste kliniske tegnene på mEA (Couëtil et al., 2016). Dette samsvarer med symptomene beskrevet i anamnesene i vår studie. En høy andel av journalene, totalt 47 hester (21,8%) manglet anamnese. Det gjør at vi står uten informasjon om symptomene disse hestene viste før de kom inn til undersøkelse. Luftveissymptomer var registrert hos 88 hester (40,7%), hvorav 2 hester også hadde tegn på blødning fra luftveiene og 18 hester registrerte prestasjonssvikt samtidig med luftveissymptomene. Av registrerte symptomer fra luftveiene er det en overvekt av hoste (35 hester), etterfulgt av anstrengt respirasjon eller mye pusting etter trening/løp. Andre registrerte symptomer er forøkte lungelyder ved auskultasjon, neseflod og lyd fra øvre luftveier ved anstrengelse. Som symptom alene ser det ut til at hoste i større grad er relatert til høyere alder (>7 år) og en mer markant økning i andel nøytrofile granulocytter (Bedenice et al., 2008). Vi har en relativ ung studiepopulasjon og få hester (11,1%) hadde forøkt andel nøytrofile. Totalt 35 hester (16,2%), hvorav 20 (20,2%) kaldblodstravere og 15 (13,6%) varmlblodstravere, hadde hoste som symptom. Dette er fler enn antallet hester som hadde økte verdier på nøytrofile granulocytter, og andre celletyper eller faktorer må derfor spille inn som årsak til hosten hos noen av hestene.

Prestasjonssvikt var registrert hos 90 hester (41,6%), hvorav 18 samtidig hadde luftveissymptomer og fire hadde blod i luftveiene sett med endoskop ved undersøkelsestidspunktet. Flere hester hadde resultater fra BAL med funn av hemosiderin og tegn på tidligere lungeblødning. Både øvre og nedre luftveislidelser og lungeblødning (EIPH) kan være begrensende faktorer på prestasjonsevnen til hester. Med EKG og endoskopi under anstrengelse som mange av hestene i vår studie gjennomgikk, i tillegg til BAL-prøve, gir det godt grunnlag for å fange opp årsaken til symptomene som den enkelte hesten viste. Ivester et al (2018) poengterte at selv om astma kan affisere alle hester i alle disipliner, er løpshester en fin populasjon å studere. Mild astma er lettere å kjenne igjen hos hester som presterer hardt da symptomer fremkommer ved høy anstrengelse. Prevalensen er høy hos løpshester og man har tilgang på objektive mål slik som løpsresultater (Ivester et al., 2018). Dette gjelder også for vår studie da vi har en ensartet populasjon med løpshester (travere) i et begrenset aldersspenn, som lever nokså like liv med tanke på trening. Forskjellen blir at vi ikke har vurdert løpsresultater og vår populasjon også inkluderer hester som ikke har startet løp.

Tredemølleresultater og forekomsten av mEA

Av 106 hester som også ble undersøkt på tredemølle var det 26 som fikk en diagnose knyttet til øvre luftveislidelser. De fleste av disse var DDSP enten alene eller sammen med andre diagnoser. BAL-prøver fra 21 av disse 26 hestene viste et cellebilde forenelig med mild astma, hovedsakelig ved økning i andel mastceller og/eller eosinofile granulocytter. Kun to viste økt andel nøytrofile granulocytter.

Diagnoser i øvre luftveier i kombinasjon med mild astma beskrives også i andre studier (Courouce-Malblanc et al., 2010; Couroucé-Malblanc et al., 2002; Davidson et al., 2011).

I disse studiene fant man at en stor andel av hestene med en øvre luftveislidelse, som regel DDSP, også er disponert for inflammasjon i nedre luftveier. Det er ikke klart hvilken sammenheng disse lidelsene har til hverandre og hva som oppstår først. Courouce-Malblanc et al. (2010) foreslår at hester som lider av både DDSP, astma og/eller EIPH, bør få medisinsk behandling før man vurderer tie-forward operasjon for DDSP fordi man så at DDSP ofte uteble etter vellykket medisinsk behandling.

Felles for studiene er at de konkluderer med at prestasjonssvikt har multifaktorielle årsaker (Courouce-Malblanc et al., 2010; Couroucé-Malblanc et al., 2002; Davidson et al., 2011).

Cytologiske funn

Det er et forholdsvis likt antall hester undersøkt per år av varmblodstravere og kaldblodstravere med respektive 110 og 92 hester undersøkt.

Ved bruk av referanseverdier ved NMBU, hadde 86,6% av prøvene en økning i andelen av en eller flere celletyper forenelig med mEA. Økt andel mastceller dominerte da 159 (73,6%) prøver hadde forhøyde verdier.

Nøytrofile granulocytter

Det var 24 prøver (11,1%) som viste en økning i andelen nøytrofile granulocytter.

Flest antall prøver med forøket andel nøytrofile granulocytter hos varmblodstravere var i aldersgruppen 6 år med 4 prøver (27%). I alderen 2, 8 og 9 år så vi hos varmblodstravere ingen økning i andelen nøytrofile granulocytter.

Hos 5-årige kaldblodstravere forekom det ingen med økning i nøytrofile granulocytter, til tross for at det var 18 hester i denne aldersgruppen. Det samme gjaldt aldersgruppene 7, 8 og 9 år, men antallet hester i disse aldersgruppene var lavere. Det var kaldblodstravere i aldersgruppen 6 år som hadde flest prøver med økte verdier, med totalt 3 prøver (30%).

En blandet forøket cellepopulasjon med nøytrofile granulocytter, mastceller og eosinofile granulocytter ble sett i 9 (4,2%) tilfeller. Økning i nøytrofile granulocytter og mastceller forekom i 9 (4,2%) tilfeller.

Sammenlignet med litteraturen hadde vår studiepopulasjon relativt få hester med økning i andelen nøytrofile granulocytter. En prospektiv studie fra Indiana, USA (Ivester et al., 2018), så på miljø og prestasjon hos galopphester i alderen $4 \pm 1,5$ år i aktiv trening. Der hadde 34% av prøvene økt andel nøytrofile granulocytter. Totalt viste 80% av prøvene i denne studien verdier forenelige med mEA.

I en retrospektiv studie fra Pennsylvania, USA, ble forekomsten av mEA etter årstid undersøkt uten å finne en sammenheng. I studien deltok totalt 98 hester hvorav 53 var amerikanske travhester og 45 fullblodshester i trening. Gjennomsnittsalderen var 3 år. Av disse ble 79 (81%) diagnostisert med mEA. Sytten hester (17,3%) hadde kun forøket andel nøytrofile granulocytter, og ytterligere 22 (22,4%) hadde et blandet cellebilde. Totalt hadde nesten 40% av hestene økte verdier av nøytrofile granulocytter (Nolen-Walston, 2013).

Både i studien til Ivester et al (2018) og Nolen-Walston et al. ser vi flere hester med forøket andel nøytrofile granulocytter i BAL-prøver enn det som forekom i vår studie.

Mange av hestene i studien var løpshester (pass, trav eller galopp), noe som delvis tilsvarer våre hesters bruk, men i forhold til rase blir sammenligning vanskelig med kaldblodstravere.

Miljø og klima kan tenkes å være forskjellig i USA i forhold til Norge. Det var en lavere gjennomsnittsalder på hestene i disse studiene enn i vår. Dette kan også tenkes å innvirke på resultatene.

Økte verdier av nøytrofile granulocytter ved mEA har i større grad blitt koblet til eldre hester. Samtidig forekommer ofte hoste og hypoksemi ved trening hos disse hestene (Meachem & Montgomery, 2020). I vår studie har hestene med økning i andel nøytrofile granulocytter varierende alder. Eldre hester har ikke skilt seg ut. Hesten med 25% nøytrofile granulocytter

(motsvarende diagnosen sEA) var 3 år og responderte godt på medisinsk behandling med Prednisolon[®] og Lomudal[®].

Det er i en studie funnet høyere verdier av nøytrofile granulocytter i høyre lungehalvdel sammenlignet med venstre (Depecker et al., 2014). I vår studie var BAL-prøve konsekvent tatt fra høyre lunge, så vi kan da tenke oss at uttak fra venstre lunge ville gitt enda lavere antall.

I vår studie er det ikke tatt hensyn til årstiden BAL-prøvene er tatt. Årstiden ser ut til å ha en viss innvirkning på nøytrofile granulocytter. En studie av klinisk friske hester viser høyere nivå av nøytrofile granulocytter på vinteren (Hansen et al., 2018), mens man i andre studier ikke har sett dette (Nolen-Walston, 2013). Ettersom kun 24 prøver viste forhøyet andel nøytrofile granulocytter i vår studie, vil det være vanskelig å trekke noe konklusjon av årstidsfaktoren.

Mastceller

Av totalt 216 prøver viste 159 (73,6%) en økning i mastceller over 2%. Flest prøver viste moderat økning (81 prøver), deretter mild økning (53 prøver) og færrest viste markert økning (25 prøver).

Det totale antallet prøver fra varmbloodstravere som viste en økning i mastceller var 67 (60,9%) mot 92 (92,9%) hos kaldbloodstravere. Vi ser dermed flere prøver med forøket andel mastceller i BAL-prøver fra kaldbloodstravere sammenlignet med varmbloodstravere.

I studien til Ivester et al (2018) fant man økning i andelen mastceller i 57% av prøvene, mens Nolen-Walstone et al. fant 52% med økning av mastceller. Mange av disse hadde samtidig økning i nøytrofile granulocytter eller eosinofile granulocytter, noe vi også har observert i vår studie. Andelen hester som har en økning av mastceller er i disse to studiene noe lavere enn det vi har sett i vår studie. Flere faktorer kan spille inn på forskjellen i resultater. Det kan være

ulikt stallmiljø og klima i USA og Norge, lavere gjennomsnittsalder i studiene og at rasene ikke tilsvarer våre kaldblodstravere. Kaldblodstraverne hadde høyest antall prøver med forøkte verdier av mastceller. For en god sammenligning ville det vært behov for studier med mer like forhold, gjerne av andre varmblods- og kaldblodstravere i Norden.

Ivester et al (2018) fant at økt andel mastceller hadde størst negativ effekt på prestasjonen, etterfulgt av økning i nøytrofile granulocytter. De fant også en sammenheng mellom mastceller og inhalert β -glukan, som er en komponent i sopp. Dersom β -glukan gir en øking i mastcellene, kan denne økningen kanskje være årsaken til den nedsatte prestasjonen.

Forfatterne av denne studien mente at referanseverdier for mastceller burde ligge på mellom 2-3%. Dette kan støttes opp av en studie som så på forekomsten av mastceller i hestens luftveier, og fant en forekomst i alveolene på $2,5\% \pm 1,8\%$ hos friske hester post mortem (Mair et al., 1988).

Eosinofile granulocytter

Andelen eosinofile granulocytter var høyere enn referanseverdien i 83 prøver (38,4%). Flest prøver finnes i gruppen mild øking (51 prøver), deretter moderat øking (19 prøver) og færrest med markert øking (13 prøver). Etter aldersgruppene ser vi en noe høyere andel prøver med øking av eosinofile granulocytter for hester under 8 år. Da det er få hester i de øvre aldersgruppene, kan vi ikke dra noen sikker konklusjon om en generell trend for dette. Mange av hestene med økning av eosinofile granulocytter hadde samtidig økning av mastceller.

I studien til Ivester et al. (2018) fant man øking i eosinofile granulocytter i kun 4 prøver (4%). Nolen-Walston et al. fant en økning i eosinofile granulocytter også hos kun 4 hester (4%). I ytterligere 19 prøver (19,3%) var eosinofile granulocytter, nøytrofile granulocytter og/eller mastceller forøket. Dette er en betydelig lavere forekomst enn det vi har sett i vår studie.

Dette kan skyldes ulike referanseverdier. Ivester et al. har brukt >1%, Nolen-Walston >0,5% og vi >0,2%.

Ved mEA har man sett en sammenheng mellom mengden støv hesten eksponeres for og mengde eosinofile granulocytter i BAL hos unge (12-48 måneder) galopphester (Ivester et al., 2014a). Hestene ble enten fôret fra bakken eller fra høynett, hvor sistnevnte forårsaket mer støv. Forekomsten av mEA hos hestene var i løpet av studien (én måned) 74-77%. Man fant også, i likhet med vår studie, høy andel av hester med øking i både eosinofile granulocytter og mastceller.

Økning av flere cellepopulasjoner

I denne studien dominerer samtidig øking av mastceller og eosinofile granulocytter. Samme funn er gjort i flere andre studier (Ivester et al., 2014a; Nolen-Walston, 2013), mens i enkelte studier har det vært kombinasjon av økt andel nøytrofile granulocytter og mastceller som ble oftere sett (Ivester et al., 2018).

Nolen-Walston et al. skriver at mulig årsak til ulike cytologi-funn kan forklares med de forskjellige celletypenes patofysiologi. Den typiske allergiske responsen består i type 1 hypersensivitet og hjelper-T celler type 2 respons. Denne består av IgE mediert utskillelse av IL-4, IL-5 og IL-13. Disse bidrar til rekruttering av mastceller og eosinofile granulocytter. Nøytrofile granulocytter på sin side aktiveres av en ikke-allergisk T-hjelper type 1 celler respons. Denne oppstår ved eksponering for luftbårne partikler, virus, eller en uspesifikk IL-8 respons.

Funnene med økte verdier av både mastceller og eosinofile granulocytter kan tyde på en lik etiologi for aktivering av disse celletypene, mens der hvor nøytrofile granulocytter utgjør cellebildet har en annen etiologi, slik som foreslått i studien av Noel-Walston.

En annen mulig forklaring kan være at alle celletypene aktiveres av forskjellige faktorer, og kombinasjonen av økte verdier av celletypene skyldes eksponering av flere faktorer samtidig. Dette skulle kunne forklare tilfeller med samtidig økning av eksempelvis mastceller og nøytrofile granulocytter.

Bruk av forskjellige referanseverdier ved diagnostikk av mEA

I denne studien har verdiene for friske hester vært $\leq 5\%$ nøytrofile granulocytter, $\leq 2\%$ mastceller og $\leq 0,2\%$ eosinofile granulocytter. Verdier over dette har blitt vurdert som indikasjon på mEA og ble i denne studien funnet på 187 av prøvene (86,6%).

Om man velger å bruke verdiene i ACVIM consensus statement (2016), som gir en diagnose på mEA ved $>10\%$ nøytrofile granulocytter, $>5\%$ mastceller og $>5\%$ eosinofile granulocytter, ville kun 97 (44,9%) av hestene i denne studien fått diagnosen mEA. Samme dokument bruker referanseverdier for friske hester på $<5\%$ nøytrofile granulocytter, $<2\%$ mastceller og $<1\%$ eosinofile granulocytter. I vår studie har 174 prøver (80,5%) verdier over dette.

Til sammenligning så Depecker et al på utfallet av forskjellige referanseverdier for mEA hos franske varmbloods travhester i alderen 3-9 år. For mEA fikk man en prevalens på 93% ved bruk av referanseverdiene $\leq 5\%$ nøytrofile granulocytter, $\leq 2\%$ mastceller og $\leq 1\%$ eosinofile granulocytter mens man fikk en prevalens på 56,5% ved bruk av referanseverdier $\leq 10\%$ nøytrofile granulocytter, $\leq 5\%$ mastceller og $\leq 5\%$ eosinofile granulocytter.

Det samme har man sett hos ikke-løpshester hvor prevalensen gikk fra 69% til 40% med de respektive referanseverdiene (Secombe et al., 2019)

Begge studiene viser opp mot en halvering av prevalensen av mEA ved disse endringene i referanseverdier, noe også er tilfellet i vår studie. Hvilke referanseverdier som benyttes vil kunne ha betydning for hvilken prognose og behandling hesten får. Dette viser at anamnese

og kliniske symptomer bør tillegges stor vekt ved vurdering av behandling, men dette var ikke en del av vår studie.

Til tross for stor endring i antall hester som vil få diagnosen mEA, avhengig av hvilke referanseverdier man benytter, er celletypen som dominerer cellebildet i vår studie fortsatt mastceller. Man kan spekulere i om dette skyldes rasepredisposisjon, vårt nordiske klima og/eller oppstallingsforhold.

Hester med kontrollprøver

Hos hestene i studien hvor det ble tatt kontrollprøver innen 3 måneder fant vi hos de 3 kaldblodstraverne ingen, eller kun delvis bedring etter behandling. Vi mistenker at disse hestene utgjorde en liten selektert del av populasjonen av hestene som ikke fikk klinisk respons av behandlingen og/eller som på grunn av høye verdier på første undersøkelse, ble satt opp til kontroll. Fravær av bedring kan komme av manglende miljøtiltak, eller at disse hestene av individuelle grunner ikke responderte som ønsket på behandlingen.

Alle varmblodshestene med kontrollprøver hadde betydelige forandringer på BAL-prøven som kan ha vært medvirkende årsak til kontroller.

Styrker og svakheter med studien

Siden dette er en retrospektiv studie, varierer detaljnivået i de ulike journalene. Anamnesen manglet eller var av en slik karakter at den ikke var brukbar i 21,8 % av journalene.

En prospektiv studie ville vært standardisert i forhold til inklusjonskriterier og journalføring og dermed eliminert mange av svakhetene som en retrospektiv studie har.

Innhenting av data fra journalene ble gjort tidlig våren 2020. Grunnet nedstenging av samfunnet i forbindelse med koronapandemien ble videre tilgang til hesteklinikken ved NMBU og hestenes journaler begrenset. Dette reduserte mulighetene til å gå tilbake i

journaler for å finne frem ytterligere data, rette opp i enkelte mangler eller kontrollere opplysninger som var notert som medfører en usikkerhetsfaktor til studiens validitet.

En styrke for studien er at uttak av BAL-prøver ble gjort med en standardisert fremgangsmåte av seniorveterinærer, og prøvene ble behandlet innen kort tid etter uttaket. En standardisert fremgangsmåte innebærer blant annet å bruke lik mengde sterilt saltvann ved prøvetaking, for å kunne sammenligne BAL-prøvene. Det er vist at nøytrofile granulocytter kan sees i en lavere prosentandel ved økt mengde væske (Orard et al., 2016).

Cytologisk undersøkelse av BAL-prøvene ble utført av en diplomat og en resident i klinisk patologi ved Sentrallaboratoriet ved NMBU frem til august 2016, og deretter av den samme diplomaten ved institutt for Sports- og familiedyrmedisin NMBU. I enkelte tilfeller ble prøvene undersøkt av en diplomat i indremedisin hest. Utdanningsgraden og erfaringen til disse personene gir en god validitet for studien, men med en liten risiko for systematiske feil da få personer har vært involverte i bedømmelse av cytologien.

Det er blitt undersøkt at bruk av ulike fargemetoder og flere observatører som analyserer prøvene, kan det gi forskjellige resultater ved vurdering av mastceller. Fargemetoden Toluidine Blue (TB) gir et tydeligere bilde av mastceller enn May-Grünvald-Giemsma (MGG) (Hansen et al., 2020), men vi kan i vår studie regne MGG-farging (som i hovedsak ble brukt) som et godt valg da det er erfarne kliniske patologer med god kjennskap til fargemetodens styrker og svakheter som har avlest prøvene.

Konklusjon

Mild til moderat equine astma forekommer i høy grad hos norske travhester med diffuse symptomer som nedsatt prestasjon og luftveissymptom.

I denne studien har et mastcelledominert bilde tydelig pekt seg ut, ofte i kombinasjon med eosinofile granulocytter. Kun en svært liten andel hester hadde forøkte verdier av nøytrofile

granulocytter. Slik som flere andre studier viser, tyder dette på en annen etiologi ved mEA enn ved sEA, og det er viktig at sykdommene skilles fra hverandre.

Takk til bidragsytere

Stor takk til Siv Hanche-Olsen og Hege Brun Hansen for tilbakemeldinger på utkast av fordypningsoppgaven, og takk til andre på hesteklinikken og laboratoriet som har vist oss prøvetakningsmetoder og behandling av prøvene.

Stor takk til Martina Sjöblom for hjelp med Excel og grafer.

Summary

Title: Mild to moderate asthma in Norwegian trotting horses examined at NMBU Equine Hospital 2014-2019.

Authors: Hedwig Norea Rebecka Hoem and Nancy Beate Sveen.

Supervisor: Siv Hanche-Olsen, NMBU Equine Clinic
Hege Brun-Hansen, NMBU Equine and Small Animal Clinic

The aim of this retrospective study was to evaluate the occurrence of mild to moderate asthma in the population of Norwegian Standardbred and Norwegian Coldblooded Trotters presented at the NMBU equine clinic for poor performance or clinical signs from the respiratory tract.

The study also evaluates the cytology of the cell population in BAL fluid from the same group of horses. A total of 216 BAL fluid samples from 202 horses in the timespan 2014-2019 were evaluated.

In this study, 86,6% of the BAL fluid samples had a shift in the cell population in the lower respiratory tract consistent with mild to moderate equine asthma (mEA), earlier known as inflammatory airway disease (IAD). Amongst these, 11,1% had elevated neutrophilic granulocytes, 73,6% had elevated mast cells and 38,4 % had elevated eosinophilic granulocytes. Of these, 30,5% had elevation of a mixed cell population of neutrophil granulocytes, mast cells and/or eosinophilic granulocytes.

Referanser

- Ballweber, L. R. (2019). *Lungworm Infection in Horses*. Tilgjengelig fra: <https://www.msdtvetmanual.com/en-gb/horse-owners/lung-and-airway-disorders-of-horses/lungworm-infection-in-horses> (lest 07.01.2021).
- Barton, A. K., Schulze, T., Doherr, M. G. & Gehlen, H. (2018). Influence of bronchoalveolar lavage on thoracic radiography in the horse. *J Vet Sci*, 19 (4): 563-569.
- Bayly, W. M., Reed, S. M. & Sellon, D. C. (2018). *Equine internal medicine*. 4th ed. utg. St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Bedenice, D., Mazan, M. R. & Hoffman, A. M. (2008). Association between Cough and Cytology of Bronchoalveolar Lavage Fluid and Pulmonary Function in Horses Diagnosed with Inflammatory Airway Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22 (4): 1022-1028. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0109.x>.
- Bond, S., Léguillette, R., Richard, E. A., Couetil, L., Lavoie, J.-P., Martin, J. G. & Pirie, R. S. (2018). Equine asthma: Integrative biologic relevance of a recently proposed nomenclature. *J Vet Intern Med*, 32 (6): 2088-2098. doi: 10.1111/jvim.15302.
- Bullone, M. & Lavoie, J.-P. (2020). The equine asthma model of airway remodeling: from a veterinary to a human perspective. *Cell Tissue Res*, 380 (2): 223-236. doi: 10.1007/s00441-019-03117-4.
- Clements, J. M. & Pirie, R. S. (2007a). Respirable dust concentrations in equine stables. Part 1: Validation of equipment and effect of various management systems. *Research in Veterinary Science*, 83 (2): 256-262. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.12.002>.
- Clements, J. M. & Pirie, R. S. (2007b). Respirable dust concentrations in equine stables. Part 2: The benefits of soaking hay and optimising the environment in a neighbouring stable. *Research in Veterinary Science*, 83 (2): 263-268. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.12.003>.
- Couetil, L., Hammer, J., Miskovic Feutz, M., Nogradi, N., Perez-Moreno, C. & Ivester, K. (2012). Effects of N-Butylscopolammonium Bromide on Lung Function in Horses with Recurrent Airway Obstruction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26 (6): 1433-1438. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00992.x>.
- Couetil, L., Cardwell, J. M., Leguillette, R., Mazan, M., Richard, E., Bienzle, D., Bullone, M., Gerber, V., Ivester, K., Lavoie, J.-P., et al. (2020). Equine Asthma: Current Understanding and Future Directions. *Frontiers in Veterinary Science*, 7 (450). doi: 10.3389/fvets.2020.00450.
- Couëtil, L. L., Rosenthal, F. S., DeNicola, D. B. & Chilcoat, C. D. (2001). Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. *American Journal of Veterinary Research*, 62 (4): 538-546. doi: 10.2460/ajvr.2001.62.538.
- Couëtil, L. L. (2013). *Respiratory diseases of the horse : a problem-oriented approach to diagnosis and management*. London: Manson.
- Couëtil, L. L., Cardwell, J. M., Gerber, V., Lavoie, J. P., Léguillette, R. & Richard, E. A. (2016). Inflammatory Airway Disease of Horses-Revised Consensus Statement. *Journal of veterinary internal medicine*, 30 (2): 503-515. doi: 10.1111/jvim.13824.
- Courouge-Malblanc, A., Deniau, V., Rossignol, F., Corde, R., Leleu, C., Maillard, K., Pitel, P.-H., Pronost, S. & Fortier, G. (2010). Physiological measurements and prevalence of lower airway diseases in Trotters with dorsal displacement of the soft palate. *Equine Veterinary Journal*, 42 (s38): 246-255. doi: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00276.x>.

- Couroucé-Malblanc, A., Pronost, S., Fortier, G., Corde, R. & Rossignol, F. (2002). Physiological measurements and upper and lower respiratory tract evaluation in French Standardbred Trotters during a standardised exercise test on the treadmill. *Equine Veterinary Journal*, 34 (S34): 402-407. doi: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2002.tb05456.x>.
- Crossly, B. H., Ashley. (2018). *Interpretation of equine Laboratory diagnostic*: John Wiley & Sons, Inc. Tilgjengelig fra: https://books.google.no/books?hl=en&lr=&id=leQ5DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA155&dq=equine+rhinovirus&ots=AkbcEGSR6L&sig=rBEOmxoGex9FxE6w6wcl6yuns8&redir_esc=y#v=onepage&q=equine%20rhinovirus&f=false (lest 24.01.2021).
- Davidson, E. J., Harris, M., Martin, B. B., Nolen-Walston, R., Boston, R. C. & Reef, V. (2011). Exercising Blood Gas Analysis, Dynamic Upper Respiratory Tract Obstruction, and Postexercising Bronchoalveolar Lavage Cytology—A Comparative Study in Poor Performing Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31 (8): 475-480. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.03.003>.
- Depecker, M., Richard, E. A., Pitel, P.-H., Fortier, G., Leleu, C. & Couroucé-Malblanc, A. (2014). Bronchoalveolar lavage fluid in Standardbred racehorses: Influence of unilateral/bilateral profiles and cut-off values on lower airway disease diagnosis. *The Veterinary Journal*, 199 (1): 150-156. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.10.013>.
- Doucet, M. Y. & Viel, L. (2002). Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 43 (3): 195-202.
- Duvivier, D. H., Votion, D., Vandenput, S. & Lekeux, P. (1997). Aerosol therapy in the equine species. *The Veterinary Journal*, 154 (3): 189-202. doi: [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(97\)80020-2](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(97)80020-2).
- Felleskatalogen. (2018). *Equimucin vet*. Tilgjengelig fra: <https://www.felleskatalogen.no/medisin-vet/equimucin-vet-cp-pharma-558759> (lest 16.12.2020).
- Felleskatalogen. (2020a). *Aservo EquiHaler*. Tilgjengelig fra: <https://www.felleskatalogen.no/medisin-vet/aservo-equihaler-boehringer-ingelheim-vetmedica-gmbh-672011> (lest 16.12.2020).
- Felleskatalogen. (2020b). *Dembreksin*. Tilgjengelig fra: <https://www.felleskatalogen.no/medisin-vet/internsok?sokord=dembreksin> (lest 16.12.2020).
- Felleskatalogen. (2020c). *Intal CFC-free inhaler*. Tilgjengelig fra: <https://www.felleskatalogen.no/medisin/internsok?sokord=intal> (lest 16.12.2020).
- Gerber, V. (2020). Genetics of Equine Respiratory Disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 36 (2): 243-253. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2020.03.005>.
- Hansen, S., Honoré, M. L., Riihimaki, M., Pringle, J., Ammentorp, A. H. & Fjeldborg, J. (2018). Seasonal Variation in Tracheal Mucous and Bronchoalveolar Lavage Cytology for Adult Clinically Healthy Stabled Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 71: 1-5. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.09.001>.
- Hansen, S., Fjeldborg, J., Hansen, A. J. & Baptiste, K. E. (2020). Reliability of cytological evaluation of mast cells from bronchoalveolar lavage fluid in horses: Intraobserver agreement and mast cell identification. *Equine Veterinary Education*, 32 (S11): 47-52. doi: <https://doi.org/10.1111/eve.13112>.
- Hare, J. E., Viel, L., O'Byrnes, P. M. & Conlon, P. D. (1994). Effect of sodium cromoglycate on light racehorses with elevated metachromatic cell numbers on bronchoalveolar lavage and reduced exercise tolerance. *Journal of Veterinary Pharmacology and*

- Therapeutics*, 17 (3): 237-244. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1994.tb00239.x>.
- Hare, J. E. & Viel, L. (1998). Pulmonary Eosinophilia Associated with Increased Airway Responsiveness in Young Racing Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12 (3): 163-170. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1998.tb02112.x>.
- Hinchcliff, K. W., Couetil, L. L., Knight, P. K., Morley, P. S., Robinson, N. E., Sweeney, C. R. & van Erck, E. (2015). Exercise Induced Pulmonary Hemorrhage in Horses: American College of Veterinary Internal Medicine Consensus Statement. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29 (3): 743-758. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.12593>.
- Hoffman, A. M. (1997). Inhaled Medications and Bronchodilator Usage in the Horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 13 (3): 519-530. doi: [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30228-6](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30228-6).
- Ihler, C. F., Olsen, S.H. (2014). *Exercise induced pulmonary hemorrhage (EIPH) in trotters: impact on later performance*. ECHEIM, Norwegian University of Life Sciences, Oslo, Norway.
- Ivester, K. M., Smith, K., Moore, G. E., Zimmerman, N. J. & Couëttil, L. L. (2012). Variability in particulate concentrations in a horse training barn over time. *Equine Veterinary Journal*, 44 (S43): 51-56. doi: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00647.x>.
- Ivester, K. M. & Couëttil, L. L. (2014). Management of chronic airway inflammation in the horse: A systematic review. *Equine Veterinary Education*, 26 (12): 647-656. doi: <https://doi.org/10.1111/eve.12238>.
- Ivester, K. M., Couëttil, L. L., Moore, G. E., Zimmerman, N. J. & Raskin, R. E. (2014a). Environmental Exposures and Airway Inflammation in Young Thoroughbred Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28 (3): 918-924. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.12333>.
- Ivester, K. M., Couëttil, L. L. & Zimmerman, N. J. (2014b). Investigating the Link between Particulate Exposure and Airway Inflammation in the Horse. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28 (6): 1653-1665. doi: 10.1111/jvim.12458.
- Ivester, K. M., Couëttil, L. L. & Moore, G. E. (2018). An observational study of environmental exposures, airway cytology, and performance in racing thoroughbreds. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32 (5): 1754-1762. doi: 10.1111/jvim.15226.
- Klier, J., Lehmann, B., Fuchs, S., Reese, S., Hirschmann, A., Coester, C., Winter, G. & Gehlen, H. (2015). Nanoparticulate CpG Immunotherapy in RAO-Affected Horses: Phase I and IIa Study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29 (1): 286-293. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.12524>.
- Klier, J., Geis, S., Steuer, J., Geh, K., Reese, S., Fuchs, S., Mueller, R. S., Winter, G. & Gehlen, H. (2018). A comparison of nanoparticulate CpG immunotherapy with and without allergens in spontaneously equine asthma-affected horses, an animal model. *Immunity, Inflammation and Disease*, 6 (1): 81-96. doi: <https://doi.org/10.1002/iid3.198>.
- Knævelsrud, T. I., Carl Fredrik; Lykkjen, Sigrid; Waage, Steinar. (2010). *Helse og velferd hos hest : temanummer*. Norsk veterinærtidsskrift 2010, b. 122, nr. 7. Oslo: DNV.
- Koblinger, K., Nicol, J., McDonald, K., Wasko, A., Logie, N., Weiss, M. & Léguillette, R. (2011). Endoscopic Assessment of Airway Inflammation in Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25 (5): 1118-1126. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00788.x>.
- Koch, C., Straub, R., Ramseyer, A., Widmer, A., Robinson, N. E. & Gerber, V. (2007). Endoscopic scoring of the tracheal septum in horses and its clinical relevance for the

- evaluation of lower airway health in horses. *Equine Veterinary Journal*, 39 (2): 107-112. doi: <https://doi.org/10.2746/042516407X158764>.
- Lavoie, J.-P., Bullone, M., Rodrigues, N., Germim, P., Albrecht, B. & von Salis-Soglio, M. (2019). Effect of different doses of inhaled ciclesonide on lung function, clinical signs related to airflow limitation and serum cortisol levels in horses with experimentally induced mild to severe airway obstruction. *Equine Veterinary Journal*, 51 (6): 779-786. doi: <https://doi.org/10.1111/evj.13093>.
- Leclere, M., Desnoyers, M., Beauchamp, G. & Lavoie, J.-P. (2006). Comparison of Four Staining Methods for Detection of Mast Cells in Equine Bronchoalveolar Lavage Fluid. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20 (2): 377-381. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02871.x>.
- Legler, D. F., Bruckner, M., Uetz-von Allmen, E. & Krause, P. (2010). Prostaglandin E2 at new glance: Novel insights in functional diversity offer therapeutic chances. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42 (2): 198-201. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2009.09.015>.
- Mair, T. S., Stokes, C. R. & Bourne, F. J. (1988). Distribution and ultrastructure of mast cells in the equine respiratory tract. *Equine Veterinary Journal*, 20 (1): 54-58. doi: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1988.tb01454.x>.
- Malikides, N., Hughes, K., Hodgson, D. & Hodgson, J. (2003). Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 2. Evaluation of the diagnostic significance of neutrophil percentage. *Australian Veterinary Journal*, 81 (11): 685-687. doi: [10.1111/j.1751-0813.2003.tb12540.x](https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb12540.x).
- Mazan, M. R., Vin, R. & Hoffman, A. M. (2005). Radiographic scoring lacks predictive value in inflammatory airway disease. *Equine Veterinary Journal*, 37 (6): 541-545. doi: [10.2746/042516405775314899](https://doi.org/10.2746/042516405775314899).
- McGorum, B. C., Ellison, J. & Cullen, R. T. (1998). Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management systems. *Equine Veterinary Journal*, 30 (5): 430-434. doi: [10.1111/j.2042-3306.1998.tb04514.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1998.tb04514.x).
- McGorum, B. C. (2007). *Equine respiratory medicine and surgery*. Edinburgh: Saunders.
- Meachem, M. D. & Montgomery, J. B. (2020). Respiratory Cytology of the Horse. I: *Veterinary Cytology*, s. 302-315.
- Moor, B. R., Krakowka, S., Cummins, J. M. & Robertson, J. T. (1996). Changes in airway inflammatory cell populations in Standardbred racehorses after interferon-alpha administration. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 49 (4): 347-358. doi: [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(95\)05480-4](https://doi.org/10.1016/0165-2427(95)05480-4).
- Moore, I., Horney, B., Day, K., Lofstedt, J. & Cribb, A. E. (2004). Treatment of inflammatory airway disease in young standardbreds with interferon alpha. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 45 (7): 594-601.
- Nogradi, N., Couetil, L. L., Messick, J., Stochelski, M. A. & Burgess, J. R. (2015). Omega-3 Fatty Acid Supplementation Provides an Additional Benefit to a Low-Dust Diet in the Management of Horses with Chronic Lower Airway Inflammatory Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29 (1): 299-306. doi: [10.1111/jvim.12488](https://doi.org/10.1111/jvim.12488).
- Nolen-Walston, R. D., DVM, DACVIM; Harris, Michelle, VMD; Agnew, Morgan E., BS; Martin, Benson B., VMD, DACVS; Reef, Virginia B., DVM, DACVIM; Boston, Raymond C., PhD; Davidson, Elizabeth J., DVM, DACVS. (2013). Clinical and diagnostic features of inflammatory airway disease subtypes in horses examined because of poor performance: 98 cases (2004–2010). Tilgjengelig fra: <https://avmajournals.avma.org/doi/full/10.2460/javma.242.8.1138> (lest 26.02.2021).

- NSW. (2008). *Summary of the 2007/08 Equine Influenza Outbreak*. Tilgjengelig fra: <https://www.dpi.nsw.gov.au/animals-and-livestock/horses/health-and-disease/influenza/summary-of-the-200708-ei-outbreak> (lest 02.12.2020).
- O'Connor, C. I., Lawrence, L. M., St. Lawrence, A. C., Janicki, K. M., Warren, L. K. & Hayes, S. (2004). The effect of dietary fish oil supplementation on exercising horses. *Journal of Animal Science*, 82 (10): 2978-2984. doi: 10.2527/2004.82102978x.
- OIE. (u.å.). *Equine influenza*. Tilgjengelig fra: <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/equine-influenza/> (lest 01.12.2020).
- Orard, M., Depecker, M., Hue, E., Pitel, P.-H., Couroucé-Malblanc, A. & Richard, E. A. (2016). Influence of bronchoalveolar lavage volume on cytological profiles and subsequent diagnosis of inflammatory airway disease in horses. *The Veterinary Journal*, 207: 193-195. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.09.027>.
- Pirie, R. S. (2014). Recurrent airway obstruction: A review. *Equine Veterinary Journal*, 46 (3): 276-288. doi: <https://doi.org/10.1111/evj.12204>.
- Pirie, R. S. & McGorum, B. C. (2017). Inhalation therapy for equine lower respiratory tract disease. *In Practice*, 39 (7): 317-327. doi: 10.1136/inp.j2879.
- Pirrone, F., Albertini, M., Clement, M. G. & Lafortuna, C. L. (2007). Respiratory mechanics in Standardbred horses with sub-clinical inflammatory airway disease and poor athletic performance. *The Veterinary Journal*, 173 (1): 144-150. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.07.020>.
- Quintavalla, F., Skert, S. & Pini, P. (2009). Mucokynetic drugs: in vitro rheological study on horse mucus. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma*, 29: 103-114.
- Robinson, N. E. (2000). Clenbuterol and the Horse.
- Robinson, N. E. & Chairperson, W. (2001). International Workshop on Equine Chronic Airway Disease Michigan State University 16–18 June 2000. *Equine Veterinary Journal*, 33 (1): 5-19. doi: <https://doi.org/10.2746/042516401776767412>.
- Robinson, N. E. (2003). Inflammatory airway disease: defining the syndrome. Conclusions of the Havemeyer Workshop. *Equine Veterinary Education*, 15 (2): 61-63. doi: 10.1111/j.2042-3292.2003.tb00216.x.
- Rush, B. & Mair, T. (2004). *Equine respiratory diseases*. Oxford: Blackwell Science.
- Sastre, B. & del Pozo, V. (2012). Role of PGE2 in asthma and nonasthmatic eosinophilic bronchitis. *Mediators of inflammation*, 2012: 645383-645383. doi: 10.1155/2012/645383.
- Secombe, C., van Eps, A., Bruce, M. & Lester, G. (2019). The relationship between bronchoalveolar lavage fluid cytology and airway hyper-reactivity in a population of Australian horses presented for poor performance. *Australian Veterinary Journal*, 97 (9): 343-350. doi: <https://doi.org/10.1111/avj.12861>.
- Tan, R. H. H., Dowling, B. A. & Dart, A. J. (2005). High-speed treadmill videoendoscopic examination of the upper respiratory tract in the horse: The results of 291 clinical cases. *The Veterinary Journal*, 170 (2): 243-248. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.06.011>.
- Vermedal, H. & Strand, E. (2020). Dynamic laryngeal collapse associated with poll flexion as a complication of laryngeal tie-forward surgery in three harness racehorses. *Veterinary Surgery*, 49 (3): 600-606. doi: <https://doi.org/10.1111/vsu.13351>.
- Vrins, A., Doucet, M. & Nunez-Ochoa, L. (1991). A Retrospective Study of Bronchoalveolar Lavage Cytology in Horses with Clinical Findings of Small Airway Disease. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 38 (1-10): 472-479. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1991.tb01036.x>.

- Widmer, A., Doherr, M. G., Tessier, C., Koch, C., Ramseyer, A., Straub, R. & Gerber, V. (2009). Association of increased tracheal mucus accumulation with poor willingness to perform in show-jumpers and dressage horses. *The Veterinary Journal*, 182 (3): 430-435. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.08.015>.
- Wood, J. L. N., Newton, J. R., Chanter, N. & Mumford, J. A. (2005). Association between Respiratory Disease and Bacterial and Viral Infections in British Racehorses. *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (1): 120-126. doi: 10.1128/jcm.43.1.120-126.2005.
- Wålinder, R., Riihimäki, M., Bohlin, S., Hogstedt, C., Nordquist, T., Raine, A., Pringle, J. & Elfman, L. (2011). Installation of mechanical ventilation in a horse stable: effects on air quality and human and equine airways. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 16 (4): 264-272. doi: 10.1007/s12199-010-0195-5.
- Z. Bakos, P. M., S. Kovacs, N. Balogh. (2018). Examination of the mucolytic effect of dembexine in horses suffering from equine asthma. *Equine Veterinary Journal*, 50 (S52): 33-33. doi: https://doi.org/10.1111/evj.63_13008.



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no