

Forbedret diagnostik og prognose af alvorlig kolik forårsaget af hestens blodorm

Effektvurdering til
Hesteafgiftsfonden

Tina Holberg Pihl
24.05.23

KØBENHAVNS UNIVERSITET



Projektets formål

- Forbedre diagnostik af hestens blodorm og den alvorlige kolik den forårsager
- Forbedre vurdering af prognosen for disse heste
- Identificere mulige mål for udvikling af en vaccine imod parasitten

- Færre heste dør af kolik relateret til blodormen

BAGGRUND



Receptpligt på antiparasitære lægemidler

- Indført i 1999 i DK
- EU direktiv i 2006
- Indført i SE i 2007
- Forebygge resistens udvikling
- Selektiv terapi baseret på Ægtællinger (EPG) udbredt i DK og SE

Kapitel 7

Anvendelse, udlevering og ordinerings af receptpligtige antiparasitære lægemidler

§ 32. Til behandling af dyr må dyrlægen udlevere eller ordinere receptpligtige antiparasitære lægemidler til gennemførelse af én behandling af det eller de dyr, for hvilke dyrlægen har stillet en diagnose.

Stk. 2. Receptpligtige antiparasitære lægemidler må i helt særlige tilfælde, hvor der er en veterinærfaglig begrundelse herfor, anvendes, udleveres eller ordineres uden forudgående konstateret parasitbelastning.

Prævalens af blodorm

- Højere i DK og Sverige end Tyskland
- Steget i Sverige og Tyskland
- Ingen nye studier i DK (endnu...)

Land	Publiceret	Metode	Enkeltdyr	Besætning
Danmark	2012 (Nielsen)	Larvedyrkning	12%	64%
Sverige	1999 (Lind)	Larvedyrkning	5%	14%
	2019 (Tyden)	PCR	28%	61%
Tyskland	2014 (Schneider)	Larvedyrkning	0,1%	
	2022 (Jügenscheller)	PCR Antistoffer	1,3% 24%	6,3% 92%
Italien	2022 (Buono) -Æsler	Larvedyrkning	31%	

Prævalens af kolik relateret til blodorm

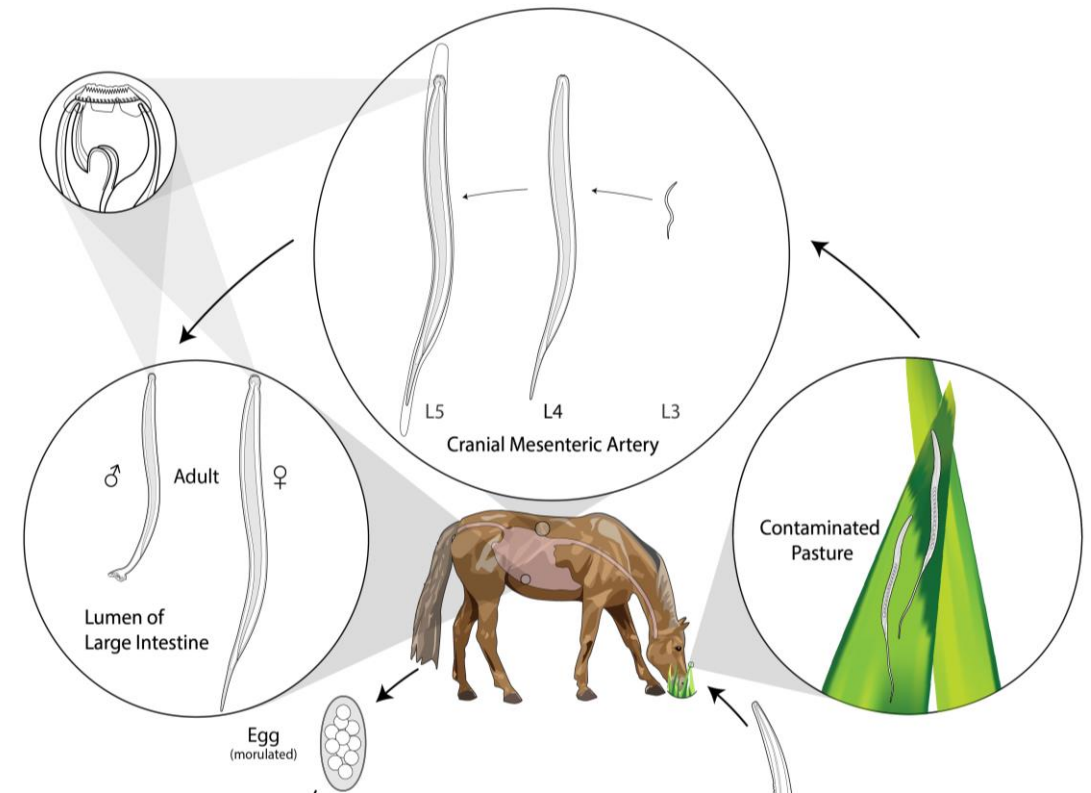
- Tromboembolisk kolik /NSII
 - 10 x stigning i KBH
 - 2/490 (0,4%) i 1994-1997 (Thoefner et al 2003)
 - 12/289 (4%) i 2008-2011 (Pihl et al 2015)
- Peritonitis
 - 2 x stigning i Uppsala (Runestrøm 2017, speciale)
 - 22 (0,2% af alle indlagte) i 2007-2008
 - 40 (0,4% af alle indlagte) i 2014-2015



Livscyklus



(Duncan & Pirie, 1972)

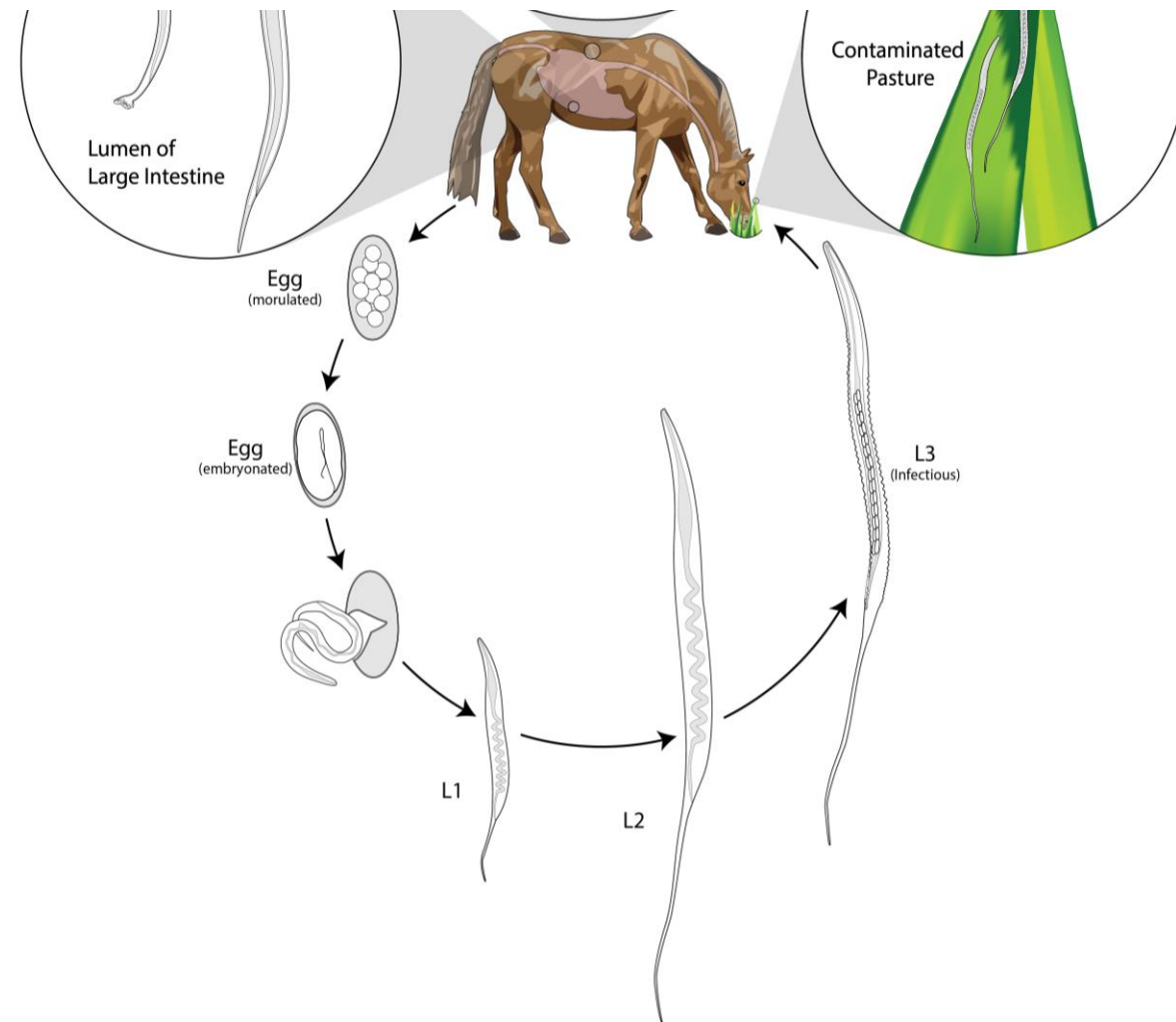


(Figur af Jamie Norris)

Livscyklus



(Duncan & Pirie, 1972)



(Figur af Jamie Norris)

Patogenese

Larval migration i blodkar (4-5 mdr)

Arteritis og thrombose



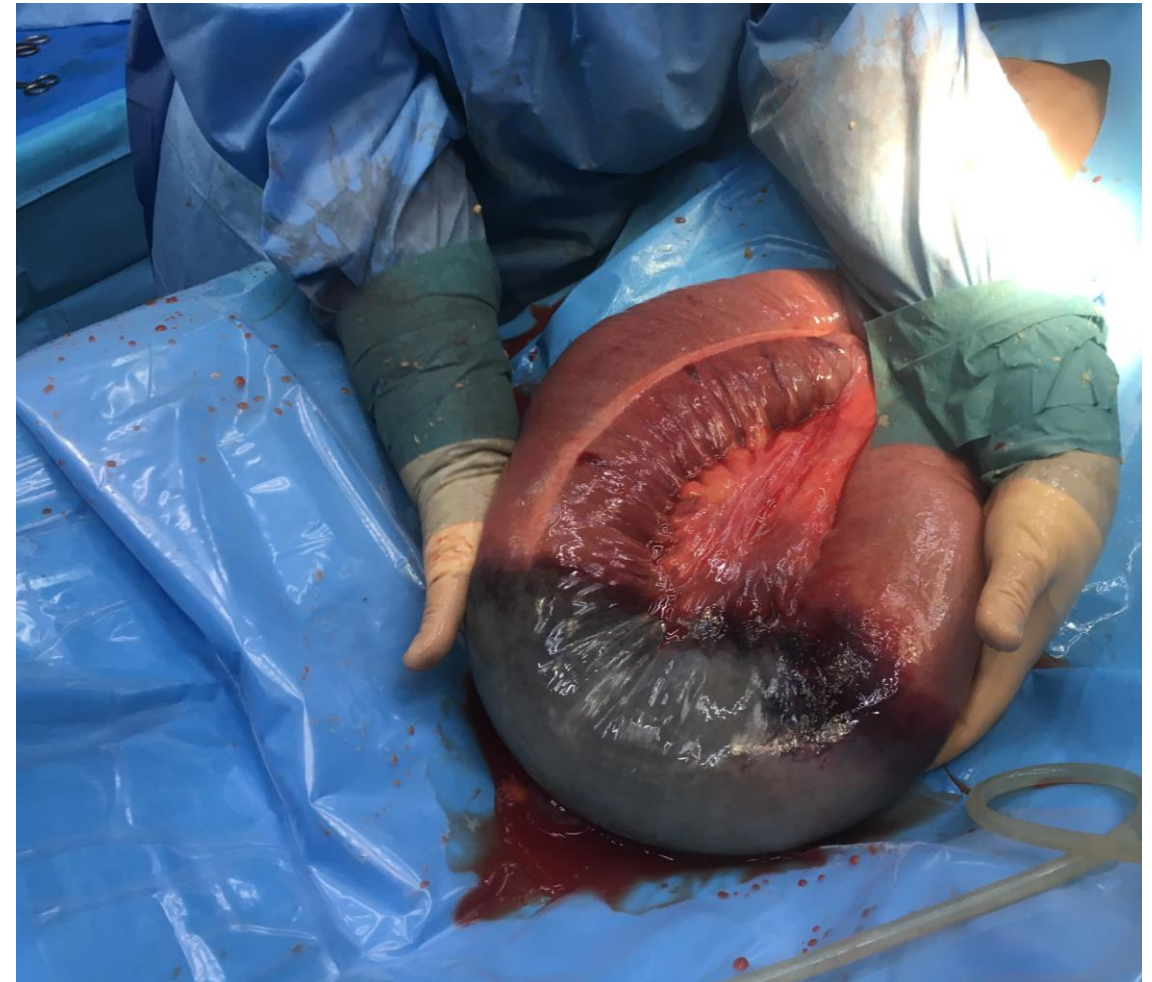
Patogenese

Larval migration i blodkar (4-5 mdr)

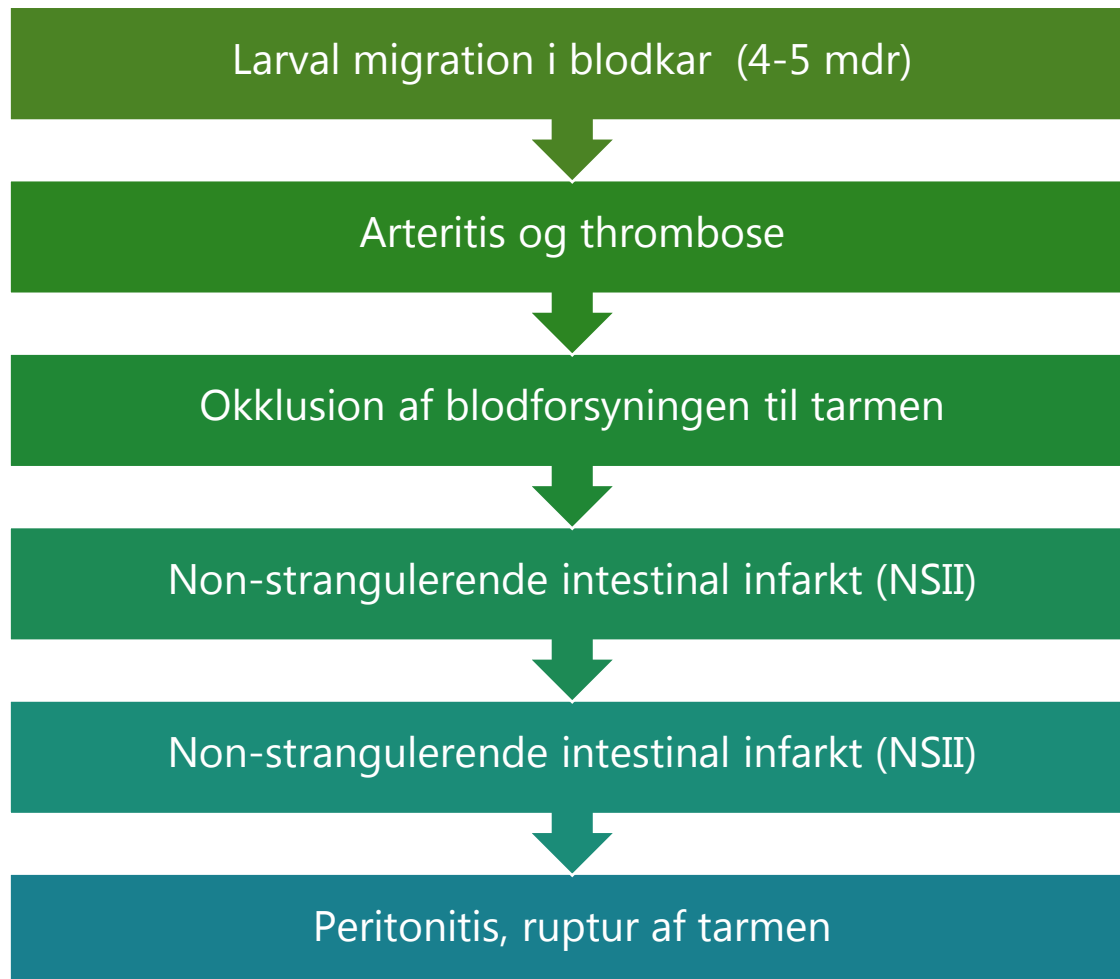
Arteritis og thrombose

Okklusion af blodforsyningen til tarmen

Non-strangulerende intestinal infarkt (NSII)



Patogenese



Diagnostik

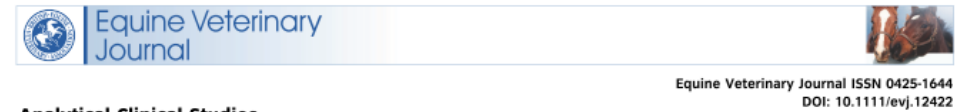
Svært fordi:

- Æg udskilles ikke til fæces i den 6 mdr. lange migrations fase
- Æg kan ikke skelnes fra andre strongylider
- Antistoffer produceres først efter 4 mdr.



Diagnostiske muligheder?

- Kliniske parametre
- Hæmostase parametre
- Inflammatoriske parametre
- Antistoffer
- MicroRNA
 - Små RNA sekvenser der udskilles af parasitten
 - Påvirker værtens immunforsvar

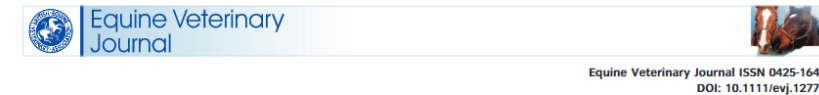


Analytical Clinical Studies

Nonstrangulating intestinal infarction associated with *Strongylus vulgaris* in referred Danish equine cases

M. K. NIELSEN*, S. JACOBSEN[†], S. N. OLSEN[‡], E. BOUSQUET[§] and T. PIHL[†]

Department of Veterinary Science, M.H. Gluck Equine Research Center, University of Kentucky, Lexington, USA
[†]Department of Large Animal Sciences, University of Copenhagen, Denmark
[§]Virbac, Carros, France.



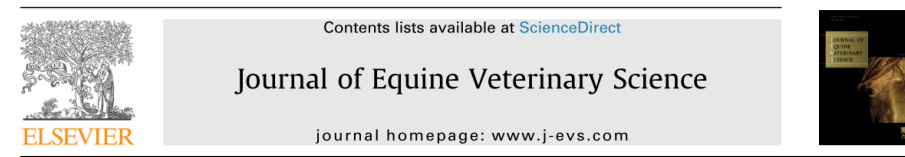
Nonstrangulating intestinal infarctions associated with *Strongylus vulgaris*: Clinical presentation and treatment outcomes of 30 horses (2008–2016)

T. H. PIHL^{†*}, M. K. NIELSEN[‡], S. N. OLSEN[‡], P. S. LEIFSSON[§] and S. JACOBSEN[†]

[†]Department of Veterinary Clinical Sciences, University of Copenhagen, Taastrup, Denmark
[‡]M. H. Gluck Equine Research Center, Department of Veterinary Science, University of Kentucky, Lexington, USA
[§]Department of Veterinary and Animal Sciences, University of Copenhagen, Frederiksberg, Denmark.

*Correspondence email: thpi@sund.ku.dk; Received: 06.12.16; Accepted: 29.10.17

Journal of Equine Veterinary Science 54 (2017) 1–7



Original Research

Changes in Hemostatic Indices in Foals Naturally Infected With *Strongylus vulgaris*



Tina H. Pihl^{a,*}, Martin K. Nielsen^b, Stine Jacobsen^c

^aDepartment of Large Animal Sciences, University of Copenhagen, Taastrup, Denmark
^bM.H. Gluck Equine Research Center, Department of Veterinary Science, University of K

Received: 23 September 2022 | Revised: 26 November 2022 | Accepted: 1 December 2022
 DOI: 10.1002/vetr.2538

ORIGINAL RESEARCH



Differentiating *Strongylus vulgaris*-associated, non-strangulating intestinal infarctions from idiopathic peritonitis and acute colitis in horses

Lea Poulsen¹ | Frida V. Henriksson¹ | Melissa Dahl¹ | Marie Louise Honoré¹ |
 Susanne N. Olsen¹ | Páll S. Leifsson² | Jacob Stærk-Østergaard³ | Stine Jacobsen¹ |
 Tina H. Pihl¹

Projektets hovedaktiviteter støttet af HAF (2018-2022)

1. Validering og anvendelse af nye hæmostase tests til forbedret diagnostik af kolik forårsaget af blodorm (NSII)
2. Diagnostik af blodormsrelateret kolik (NSII) ved brug af en kombination af hæmostase- og inflammationsmarkører
3. Identificering og validering af mikroRNA relateret til blodorm hos hest
4. Prognose vurdering af heste opereret for blodormsrelateret kolik ved brug af en kombination af miRNA, antistoffer, hæmostase- og inflammationsmarkører

METODER



Indsamling af materiale og data

1. Blodprøver og kliniske data

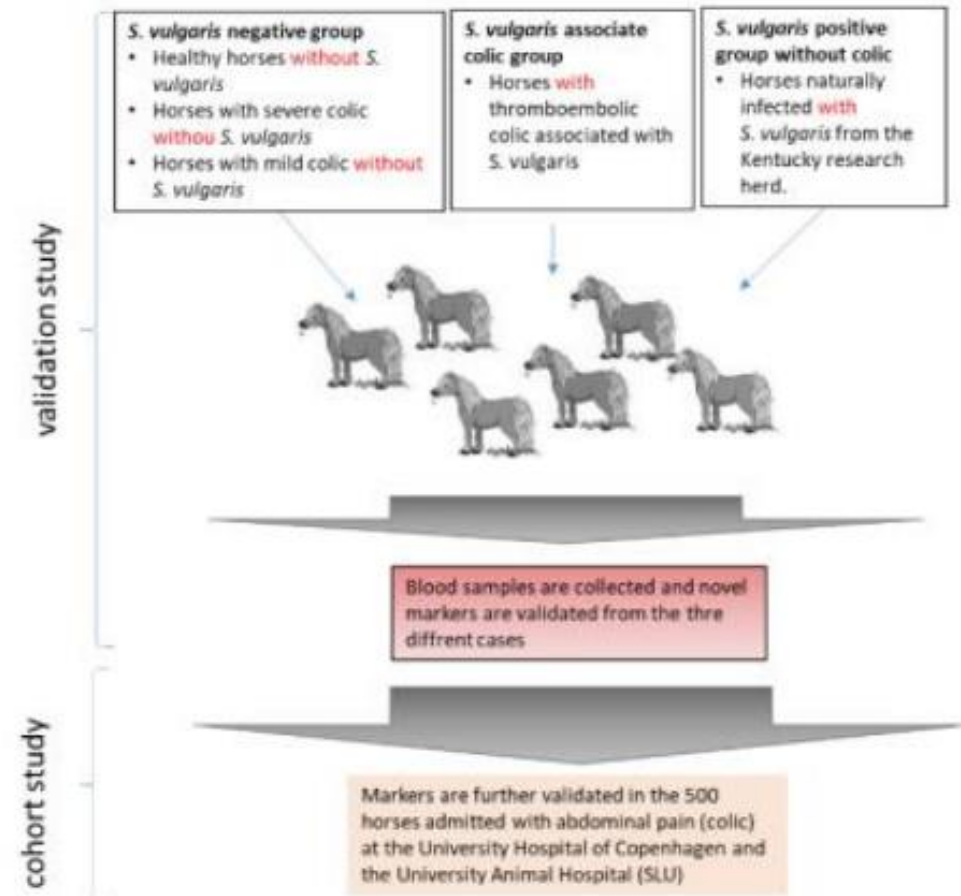
1. Raske heste med og uden blodorm (DK og Kentucky)
2. Kolikheste med og uden blodorm (DK og Sverige)

2. Blodorm (Kentucky)

1. Frosne
2. Dyrket i medie

3. Arterievægsbiopsier (Kentucky)

1. Normal
2. Krøsrødsforandringer



Analyser

- Hæmostasetests
 - D-dimer, CAT, plasma-TEG
- Inflammationsmarkører
 - NGAL
 - Jern
 - SAA
- *S. vulgaris* specifikke antistoffer
- MicroRNA fra *S. vulgaris*, dyrkningsmedie og plasma
 - Oprensning
 - Sekventering
 - Validering med PCR

RESULTATER



1: Validering af nye hæmostase tests (HAF 2018)

- CAT og plasma-TEG
 - Kan anvendes til heste
 - Viser hæmostatiske forandringer hos heste med svær kolik incl NSII

Honoré et al. *BMC Vet Res* (2021) 17:346
<https://doi.org/10.1186/s12917-021-03058-7>

BMC Veterinary Research

RESEARCH

Open Access

A pilot study evaluating the Calibrated Automated Thrombogram assay and application of plasma-thromboelastography for detection of hemostatic aberrations in horses with gastrointestinal disease



Marie Louise Honoré^{1*}, Tina Holberg Pihl¹ and Lise Nikolic Nielsen²

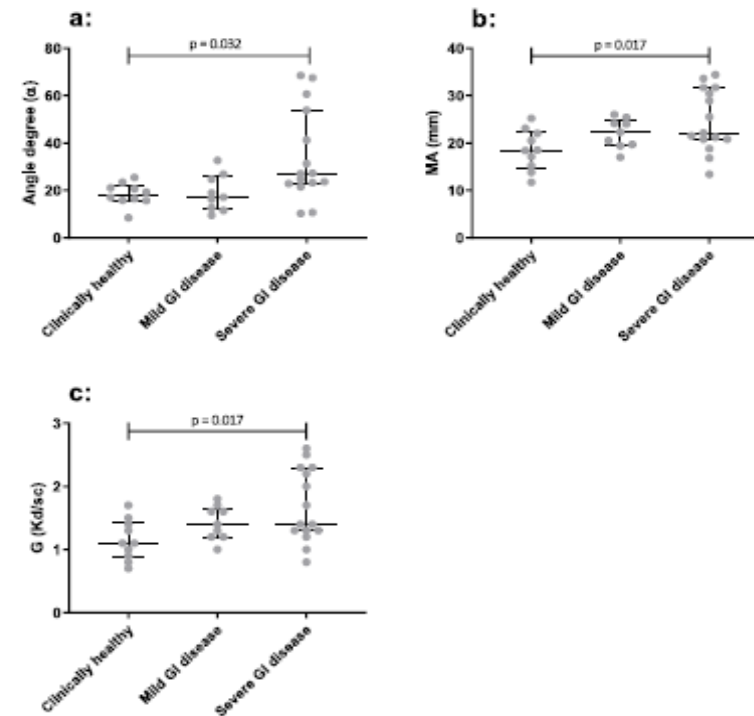


Fig. 3 Group comparison between the three groups of horses (clinically healthy, mild and severe gastrointestinal (GI) disease) for plasma-thromboelastography (plasma-TEG) showing a significantly higher angle degree (a) ($p = 0.032$) (a), maximum amplitude (MA) ($p = 0.017$) (b) and shear elastic modulus strength (G) ($p = 0.017$) (c) in the severe GI group compared to the clinically healthy horses. Plots are displaying median, 1st, and 3rd quartile

1. Validering af andre nye inflammatoriske tests

- Neutrofil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)
 - Øget i PF hos heste med NSII




Received: 21 November 2021 | Accepted: 12 May 2022

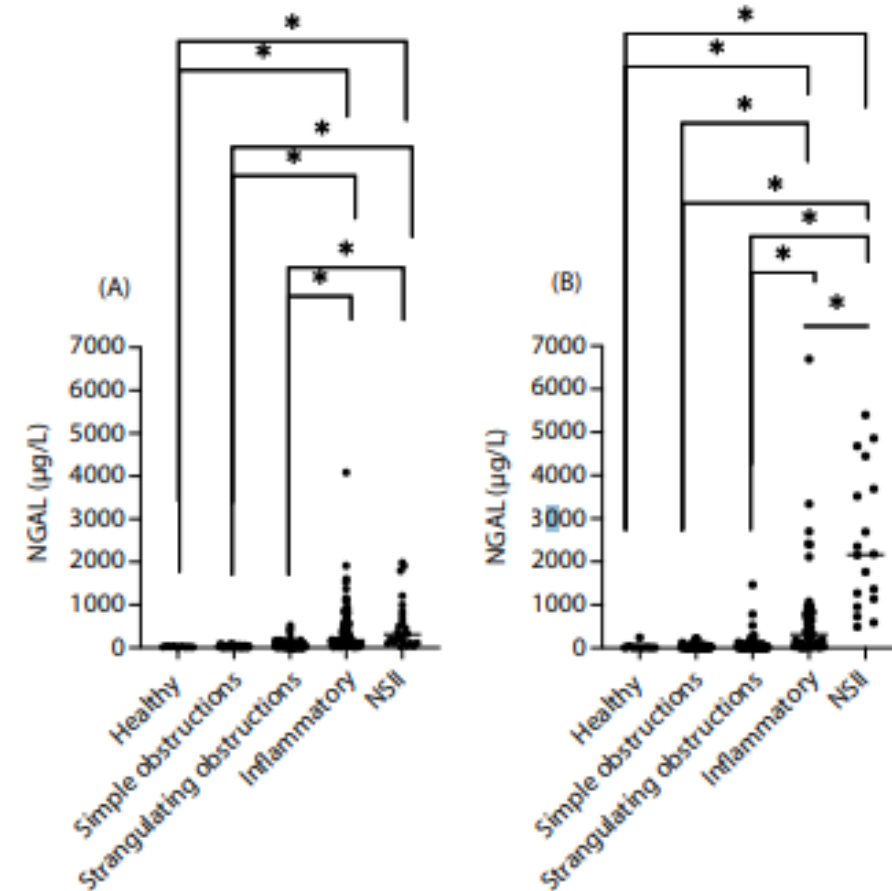
DOI: 10.1111/evj.13603

ORIGINAL ARTICLE

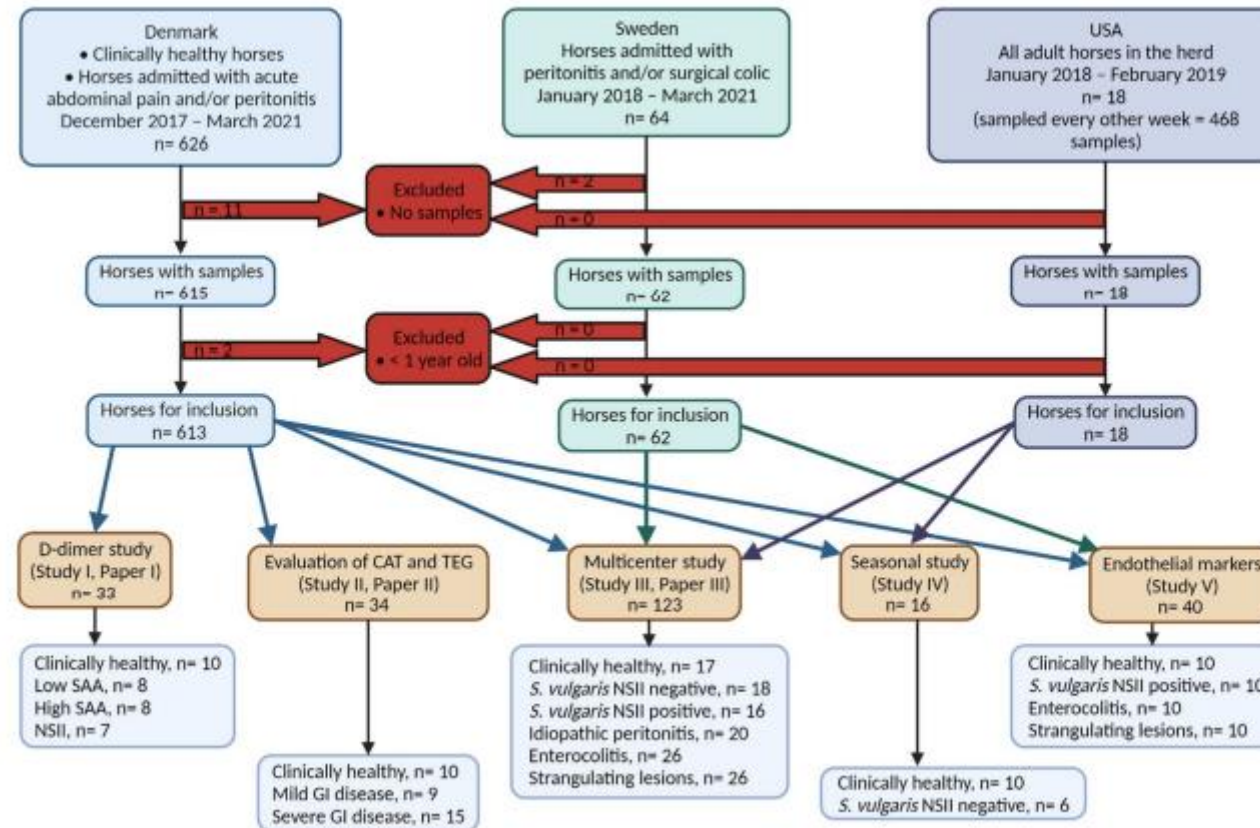
Equine Veterinary Journal WILEY

Concentrations of neutrophil gelatinase-associated lipocalin are increased in serum and peritoneal fluid from horses with inflammatory abdominal disease and non-strangulating intestinal infarctions

Malou F. Winther  | Simon L. Haugaard | Tina H. Pihl  | Stine Jacobsen 



2. Diagnostik af blodormsrelateret kolik ved brug af en kombination af hæmostase- og inflammationsmarkører



2. Diagnostik af blodormsrelateret kolik ved brug af en kombination af hæmostase- og inflammationsmarkører

- En kombination af følgende parametre kan hjælpe til at diagnosticere NSII
 - Jern
 - SAA
 - Plasma TEG (angle)
 - CAT (ETP)
- Men en del falsk negative

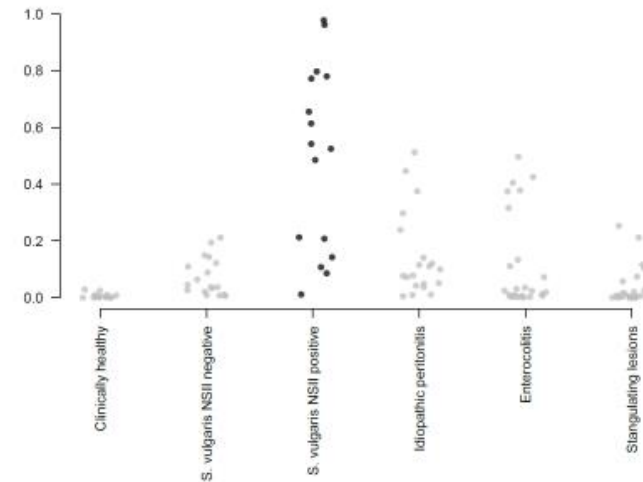
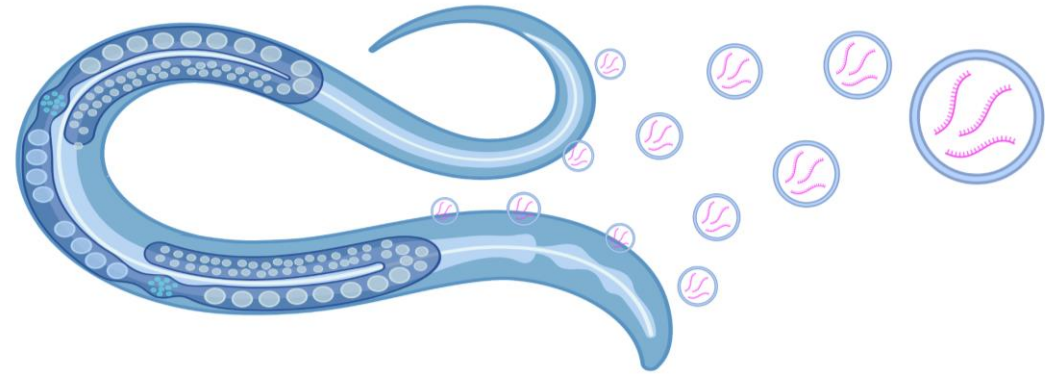


Figure 5. The estimated probability of being classified in the *Strongylus vulgaris* non-strangulating intestinal infarctions (NSII) positive group based on a model including iron, serum amyloid A (SAA), angle (plasma-thromboelastography), and endogenous thrombin potential (ETP) (Calibrated Automated Thrombogram).

3. Identifikation og validering af microRNA relateret til blodormen hos hest

- 149 miRNAs er identificeret og annoteret til *S. vulgaris* mirNome
 - 36 miRNAs er nye (ikke beskrevet i orm før)
 - Forskel i miRNA expression mellem hanner og hunner
- Alle 149 miRNAs påvist i ekskretoriske væsker fra larverne
- 145 parasite-deriveret miRNA påvist i blodprøver fra heste med *S. vulgaris*
- *Validering igang (færdig sep 2023):*
 - *qPCR analyser på udvalgte miRNA*
 - *30 positive og 30 negative blodprøver*



4. Prognose vurdering af heste opereret for blodormsrelateret kolik ved brug af en kombination af miRNA, antistoffer, hæmostase- og inflammationsmarkører

- Indsamling af prøver fra 3 hospitaler er fortsat igang
- Forventes afsluttet udgangen af 2023



Konkrete resultater af projektet



Forbedret diagnostik, forståelse og forebyggelse

- Heste med blodorm har ændringer i deres hæmostase, der kan måles med nye målemetoder.
 - Øget forståelse for hvorfor nogle heste udvikler NSII mens andre ikke gør
 - Inflammation af andre årsager øger risikoen
- Identificeret miRNA- sekvenser der udskilles fra blodormen og som kan genfindes i blodet hos heste, der er inficeret med blodorm. Det er første skridt på vejen til at:
 - Kunne diagnosticere blodorm, mens den vandrer i hestens blodkar og giver anledning til alvorlig sygdom
 - Forstå hvordan parasit og vært interagerer
 - Udvikle en form for vaccine mod blodormen

Mere viden giver færre døde heste

- Vi har opnået mere fokus blodormen og på sygdom relateret til den
 - Heste med NSII opereres hurtigere og flere heste overlever operation
 - Der laves flere larvedyrkninger og behandles mere målrettet for blodorm
 - Der ses muligvis allerede mindre forekomst af blodormen (specialer 2022 og 2023)
 - Færre heste dør af blodorms relateret kolik
- Opstartet på at lave danske parasit guidelines for heste i samarbejde med DDD-sektion hest
 - Hjælpe hesteejere og dyrlæger med at forebygge sygdomme relateret til parasitter og samtidig forebygge udvikling af resistens mod ormekur
- Nyt projekt skal undersøge det optimale behandlingsinterval ved påvist blodormsinfektion



Uddannelse og udbredelse af viden

Uddannelse

- 4 speciale studerende
- 2 Ph.d. studerende
- Alle veterinærstuderende undervises løbende i vores nyeste viden i forhold til parasitter hos heste



Udbredelse af viden

- Internationale veterinær fagtidsskrifter
- Internationale og nordiske hestedyrlæge konferencer
- Danske og svenske hestedyrlæge møder
- Hesteejere på
 - Hestemesser i Herning og Hillerød
 - Hjemmesider og facebook grupper



Tak til alle samarbejdspartnere



Martin Krarup Nielsen



Eva Tyden og
Ylva Hedberg Alm



Karin Anlen



Marie Louise Honoré og Katrine Toft



Lise Nikolic Nielsen, Stig Milan Thamsborg og Susanna Cirera



Peter Nejsum



AARHUS UNIVERSITET

Tak til Hesteafgiftsfonden

