

Succeed® Equine Fecal Blood Test™'s diagnostiske anvendelighed under danske forhold vurderet ud fra post mortem undersøgelse

Dorte V. Madsen, dyrlæge, Snertinge Dyrehospital

Maj 2010

Hovedopgave til fagdyrlægekursus vedrørende hestesygdomme, hold 2

Summary

Reasons for performing the study: Investigate the frequency of equine gastrointestinal ulcerations and evaluate the validity of the Succeed® Equine Fecal Blood Test™ based on autopsy of gastrointestinal tracts and correlating measurements.

Hypothesis: Increase in frequency of hemoglobin positive test results occurs with increase in gastric ulcer severity.

Methods: Autopsy of 11 entire gastrointestinal tracts and 48 ventricles from slaughtered Danish horses. Separate scores for grade of gastric ulcer, ulcers due to *Gasterophilus*, colonic ulceration and ulcers in the intestinal tract are given. Statistics are applied to the corresponding test results.

Results: 55 % of the intestines showed some degree of colonic ulceration, and 82 % suffered some degree of intestinal ulceration. Pathology of presumed clinical relevance was observed in 36 % of the intestines. No statistical significant results were obtained. A trend ($p = 0,06$) between positive albumin tests and increasing amounts of *Gasterophilus* was the most significant result. Furthermore a statistically non-significant correlation ($p = 0,096$) between decreasing grades of gastric ulcer and test results indicating ventricular pathology was shown.

Conclusion: Based on the results of this study, it is difficult to find a meaningful use of this test. The results raise questions as to whether the test can be interpreted as instructed.

Perspective: Further studies need to be done to evaluate the applicability of the test in live horses.

Sammendrag

Formål: Undersøge forekomst af ulcerationer i mavetarmkanalen hos heste, og undersøge validiteten af Succeed® Equine Fecal Blood Test™ baseret på obduktionsfund af tarmsæt og samhørende testmålinger.

Hypotese: Stigende frekvens af hæmoglobinpositive udfald forekommer med stigende grad af mavesår.

Metode: Obduktion af 11 hele mavetarmsæt samt af 48 ventrikler fra danske slagteheste. Der tildeles separat score for grad af ventrikel ulcus, ulcus grundet *Gasterophilus*, ulcus i colon og ulcus i tarmkanalen. Statistiske beregninger udføres for samhørende testresultater.

Resultat: I 55 % af tarmsættene forekom nogen grad af ulceration i colon, og i 82 % forekom nogen grad af ulceration i tarmkanalen. Formodet klinisk relevant patologi fandtes hos 36 % af tarmsættene. Ingen

statistisk signifikante resultater blev opnået. En trend ($p=0,06$) mellem positiv albumintest og *Gasterophilus*-infestation er vægtigste fund. Desuden findes en statistisk ikke-signifikant sammenhæng ($p=0,096$) mellem aftagende grad af ventrikel ulcus og testudslag for ventrikelrelateret patologi.

Konklusion: Baseret på denne undersøgelses resultater er det svært at finde anvendelse for testen. Undersøgelsens resultat stiller desuden spørgsmålstejn ved, om testen kan fortolkes som anvist.

Perspektivering: Yderligere undersøgelser bør udføres for at evaluere testens anvendelighed på levende heste.

Tak

Tak til Equidan for betingelsesløst at stille Succeed® Equine Fecal Blood Test™ til rådighed, til slagterierne: Hans J. Andersen, Bjergsted, Gert Th. Hansen, Christiansfeld og Harald Hansens Eftf. I/S, Slangerup for at stille faciliteter og tarmsæt til rådighed, til dyrlæge Jan Dahl for hjælp med statistikken og til Snertinge Dyrehospital og min kæreste for opbakning.

Forkortelser og begreber anvendt i denne artikel

SEFBT	Succeed® Equine Fecal Blood Test™
A	Albumin
H	Hæmoglobin
VUS	Ventrikel ulcus score
GUS	<i>Gasterophilus</i> ulcus score
CUS	Colon ulcus score
BUS	Bagtarms ulcus score
Fortarm	Mavetarmkanal proximalt for galdegangens udmunding i duodenum
Bagtarm	Mavetarmkanal distalt for galdegangens udmunding i duodenum

Indledning

Mavesår hos heste har siden midtfirserne været genstand for megen opmærksomhed, og, som det fremgår af tabel 1, er prævalensen hos voksne heste 55-88 %. Eneste undtagelse er Chameroy er al., der kun påviste mavesår hos 11 %. Senest er fokus vendt mod ulcerationer i tarmkanalen, hvor Pellegrini finder en prævalens på 44-63 %⁽¹⁾.

Diagnosticering af mavesår har ideelt set baseret sig på endoskopi af ventriklen. Alternativet er behandlingsrespons, idet mavesår ikke kan måles på blodprøver⁽²⁾. Ulcerationer i resten af fordøjelseskanalen er svære at diagnosticere. Ved hypoalbuminæmi kan ulceration i tarmen mistænkes; men lavgradige eller fokale ulcerationer vil ikke findes på denne måde. Pellegrini beskriver dog en metode, der, såfremt ventriklen ikke er ulcereret, har en positiv prædiktiv værdi på 100 % og en sensitivitet på 80%⁽¹⁾.

Et nyt non-invasivt diagnostisk hjælpemiddel, Succeed® Equine Fecal Blood Test™ (SEFBT) blev præsenteret i USA – og i Danmark - i foråret 2008, og det endelige produkt blev markedsført i marts 2009. Testen er en

ELISA test, der tester for tilstedeværelsen af såvel albumin som hæmoglobin i hestes afføring i koncentrationer over baseline niveau⁽³⁾.

Ved mere overfladiske læsioner i mavetarmkanalen - analogt til en hudafskrabning - kan albumin måles fra serum, der eksuderer til tarmlumen, uden at hæmoglobin trænger med ud⁽⁴⁾. Dette forklarer, hvorfor mindre læsioner i bagtarmen giver resultatet albumin positiv(A+) og hæmoglobin negativ(H-). En oversigt over, hvorledes testen skal fortolkes er vist i tabel 2. Testen deler mavetarmkanalen op i to dele: henholdsvis proximalt og distalt for galdegangens udmunding i duodenum. I det efterfølgende vil fortarm derfor referere til mavetarmkanalen proximalt for galdegangens udmunding i duodenum, mens bagtarm vil referere til mavetarmkanalen distalt herfor.

Ulcerationer kan ses i hele mavetarmkanalen. I ventriklen vil det typisk skyldes mavesår i enten den glandulære- og/eller den non-glandulære del, men eksempelvis vil også mavebremselarver⁽⁵⁾ og visse typer af kræft medføre ulceration. I tyndtarmen kan det eksempelvis skyldes virusangreb eller infektion med *Lawsonia intracellularis*. I ileum og blindtarm kan bændelorm forårsage ulceration⁽⁶⁾ og i tyktarm og rektum kan tilstande som ormevandring, højresidig dorsal colitis og salmonella medføre ulceration. Denne liste er ikke udtømmende, men viser blot eksempler på tilstande, hvor større eller mindre grad af ulceration ses. I tabel 1 er angivet prævalenser for mavesår, mavebremselarver, bændelorm og colonulcerationer, for at give et indtryk af hyppigheden af ulcerationer i såvel mave som tarm.

Tabel 1: Oversigt over prævalensstudier af mavesår, mavebremselarver, bændelorm og ulceration i colon.

Kilde	Antal heste	Kategori	Prævalens
<u>Mavesår</u>			
Bruijn et al. 2009 ⁽⁷⁾	102	Væddeløbsheste	57 %
Bell et al. 2007 ⁽⁸⁾	171	Væddeløbsheste	88,3 %
Chameroy et al. 2006 ⁽⁹⁾	81	Universitets ride-program	11 %
Jonsson og Egenvall 2006 ⁽¹⁰⁾	80	Væddeløbsheste	70 %
le Jeune et al. 2008 ⁽¹¹⁾	62	Avlshopper	71 %
Luthersson et al. 2009 ⁽¹²⁾	201	Ride-/hyggeheste	83,5 %
Niedzwiedz et al. 2008 ⁽¹³⁾	349	Slagtehus, koldblod	64 %
Nieto et al. 2004 ⁽¹⁴⁾	37	Langdistanceheste	67 %
Pellegrini 2005 ⁽¹⁾	365 (gruppe 1)	Slagtehus	55 %
-II- ⁽¹⁾	180 (gruppe 2)	Slagtehus	87 %
Vatistas et al. 1999 ⁽¹⁵⁾	202	Væddeløbsheste	82 %
<u>Mavebremselarver</u>			
Otranto et al. 2005 ⁽¹⁶⁾	152	Slagtehus	82,2 %
Reinemeyer et al. 2000 ⁽¹⁷⁾	47	Salgsheste	97,9 %
<u>Bændelorm</u>			
Bain og Kelly 1977 ⁽¹⁸⁾	65	Postmortem	82 %
Bello og Abell 1999 ⁽¹⁹⁾	174	Forsøgsdyr	45 %
<u>Colonulceration</u>			
Pellegrini 2005 ⁽¹⁾	365 (gruppe 1)	Slagtehus	44 %
-II- ⁽¹⁾	180 (gruppe 2)	Slagtehus	63 %

Der findes kun ét publiceret studie⁽¹⁾ om forekomsten af ulceration i colon hos hest. Her undersøgte Pellegrini mavesække og tyktarme fra 545 slagteheste. De 545 fordeler sig på to grupper. I gruppe 1 (ride-, vildtlevende-, væddeløbs- og showheste, n= 365) er frekvensen af mavesår 55 %, og frekvensen af colonulcerationer er 44 %. I gruppe 2 (væddeløbs-, show- og performanceheste, n=180) er frekvenserne henholdsvis 87 % og 63 %. Hos 97 % af hestene i gruppe 2 fandtes enten ventrikel- eller colonulceration. Graden af colonulceration samt causa er ikke angivet for nogen af grupperne.

På baggrund af Pellegrinis studie⁽¹⁾ er en test, der kan måle klinisk relevante grader af ulcerationer i fordøjelseskanalen og differentiere mellem ulceration i ventrikel og tarm, relevant. Dette er hvad producenten Freedom Health, LCC hævder at SEFBT kan⁽³⁾, og til at understøtte dette findes flere rapporter på testens hjemmeside^{(20) (21) (22) (23) (24)}. Testens styrke er beregnet ud fra et studie med 86 heste⁽⁴⁾, og både albumin- og hæmoglobintesten har pæne positive prædiktive værdier på henholdsvis 95 % og 96 %, mens de negative prædiktive værdier er på 62 % og 58 % (se tabel 3). Det vil sige, at en positiv test kan tillægges væsentlig større betydning end en negativ test. Der findes ingen publicerede studier om validiteten af SEFBT.

Formål og hypotese

Denne undersøgelses formål er at undersøge forekomsten af ulcerationer i danske hestes mavetarmkanalen og undersøge validiteten af SEFBT baseret på obduktionsfund og samhörrende testmålinger i en population af danske slagteheste.

Hypotese: Stigende grad af mavesår medfører stigende sandsynlighed for hæmoglobinpositivt (H+) udfald.

Metodebeskrivelse

Af hensyn til muligheden for at sammenligne resultater er der så vidt muligt anvendt samme metodik som beskrevet i valideringen af SEFBT⁽²¹⁾. En væsentlig forskel er, at i det oprindelige studie inkluderer VUS såvel parasitær, som non-parasitær ulceration. Nærværende metode er mere informativ, da en VUS på 2 ellers teoretisk set kun kræver én *Gasterophilus*-larve. Formålet med dette, er at belyse om/i hvilken grad

Tabel 2: Tolkning af Succeed® Equine Fecal Blood Test™. Fortarm og bagtarm refererer til den del af mavetarmkanalen, der ligger henholdsvis proximalt og distalt for galdegangens udmunding i duodenum. Kilde: (3)

Albumin	Hæmoglobin	Tolkning
Positiv	Positiv	Læsion i bagtarm, muligvis læsion i fortarm
Positiv	Negativ	Læsion i bagtarm
Negativ	Positiv	Læsion i fortarm
Negativ	Negativ	Ingen læsioner

Tabel 3: Succeed® Equine Fecal Blood Test™'s styrke. Cut-off værdi for albumin er CUS ≥1 og for hæmoglobin VUS (inklusive parasitært ulcus) og/eller CUS ≥ 2. Kilde: (4), dog er tallene i parentes (95 % konfidensintervallet) samt den negative prædiktive værdi beregnet af denne artikels forfatter.

	Albumin	Hæmoglobin
Sensitivitet, %	89 (81-96)	80 (71-90)
Specificitet, %	81 (62-100)	90 (77-100)
P-værdi	0,03	0,02
Positiv prædiktiv værdi, %	95(90-100)	96 (91-100)
Negativ prædiktiv værdi, %	62 (41-83)	58 (40-75)

mavebremselarver kan udløse positive testresultater. En anden forskel er, at hele tarmkanalen er undersøgt i nærværende studie til forskel fra kun colon i det oprindelige studie. Af praktiske årsager er primært ventrikler undersøgt.

Dataindsamlingen fandt sted fra september 2009 til februar 2010 på 3 danske slagterier og omfatter 59 heste, der alle var beregnet til human konsum.

I alt er 11 hele tarmsæt obduceret og tildelt en ulcus score for både ventrikel (VUS), colon (CUS) og bagtarm (BUS). BUS inkluderer ulcerationer i både colon og øvrige tarm. Graden af *Gasterophilus*-infestation i ventriklen er ligeledes tildelt en score (GUS), og mængden af encysterede larver i stortarmen er vurderet. Yderligere 48 ventrikler er obduceret og tildelt en VUS og GUS. I denne undersøgelse er VUS udelukkende non-parasitær.

For samtlige 59 heste er afføringen undersøgt ved hjælp af SEFBT.

Indsamling af fæces fra tarmsættene blev udført postmortelt fra bageste del af colon descendens. En sektion af dette tarmafsnit blev fradissekeret, og fæces evakueret under hensyntagen til at undgå forurening med blod. Testen blev dernæst udført i overensstemmelse med indlægssedlens vejledning⁽³⁾.

Tildeling af VUS, GUS og CUS følger skalaen i tabel 4. I denne undersøgelse anvendes samme skala for CUS som for BUS. VUS og CUS svarer til de i kilde (21) anvendte, mens GUS er introduceret i nærværende studie, for at kunne skelne mellem klinisk relevant og ikke-relevant ulceration.

Til de statistiske beregninger benyttes Cochran Armitage 2-sidet eksakt test.

Tabel 4: Bedømmelsesskala for ventrikel ulcus score, colon ulcus score og gasterophilus ulcus score.

Grad	Ventrikel ulcus score*	Colon- og bagtarms ulcus score* **	Gasterophilus ulcus score
0	Normal ikke-ulcereret væv. Intakt epithelium og ingen fortykkelser eller misfarvninger	Ingen synlige forandringer	Ingen larver
1	Intakt mukosa, men med områder af fortykket misfarvet væv.	Let udbredte underliggende vævsskader dækkende < 5 % af en given kvadrant, eller små ikke-blødende fokalskade/-er, der ikke penetrerer mukosa.	<20 larver
2	Små, enkelte eller multiple ulcus	Udbredt underliggende vævsskade dækkende ≥ 20 % af en given kvadrant, eller fokal skade med blødning.	20-50 larver
3	Store, enkelte eller multiple ulcus	Udbredt mørk underliggende vævsskade dækkende ≥ 50 % af en given kvadrant, eller fokal skade i fuld tykkelse og blødning	51-250 larver
4	Ekstensive dybe ulcerationer	Udbredt meget mørk underliggende vævsskade dækkende ≥ 90 % af en given kvadrant, eller omfattende skade i fuld tykkelse (til lamina muscularis) og blødning	>250 larve

*Modificeret fra kilde (21). ** Grad 0 og 1 defineret som ikke-blødende.

Resultater

Hele tarmsæt

De individuelle test- og patologifund er vist i tabel 5, og giver et indtryk af hvilken grad af patologi, der forekommer i tarmsæt fra slagteheste, og hvorledes testen faldt ud. Det ses at 6 ud af 11 (55 %) har ulceration i colon, og tæller man over hele bagtarmen, har 9 ud af 11 (82 %) en eller anden grad af patologi i tarmen, som afficerer overfladen. Fordelingen af CUS og BUS fremgår af figur 1. Det ses at 55 % ingen ulceration har i colon, mens 82 % har ulceration i bagtarm (inklusive colon). Ved ulcerscore 2 og 3 er der ingen forskel på, om scoren tildeles ud fra hele tarmen, eller kun colon. Med andre ord er det grad 1 ulcerationer uden for colon, der bevirker en forskel i score mellem de to grupper.

I syv af tarmene findes tegn på nyligt encystrerede endoparasitter, der encystringen har efterladt en lille læsion i mukosa. Fem ud af 11 har i et eller flere tarmafsnit hyperæmi/ødem. Patologi, der antages at kunne være af klinisk betydning, findes hos hestene 1,7,9 og 11. Hest 7 er den eneste hest, der tester negativ i begge test (A- H-), og dette på trods af markante ulcerationer i ceacum og colon (se figur 2 og 3). Hest 10 har et testudfald, der indikerer en ventrikel relateret ulceration (A- H+), men denne hest har hverken mavesår og eller ulceration i tarmkanalen- eneste patologi er *Gasterophilus*-larver. Hest 6 og 9 har en VUS ≥ 2 , der burde give en positiv hæmoglobintest, men kun hest 6 tester positiv.

Da ingen af tarmene var angrebet af encystrerende larver i en grad, der ansås klinisk signifikant, er dette spor ikke forfulgt nærmere.

Ventrikler

I alt er 59 ventrikler obduceret. I figur 7 er frekvensen af ventrikel ulcus score afbilledet, og det fremgår, at i alt 68 % af hestene havde ulcerationer i ventriklen.

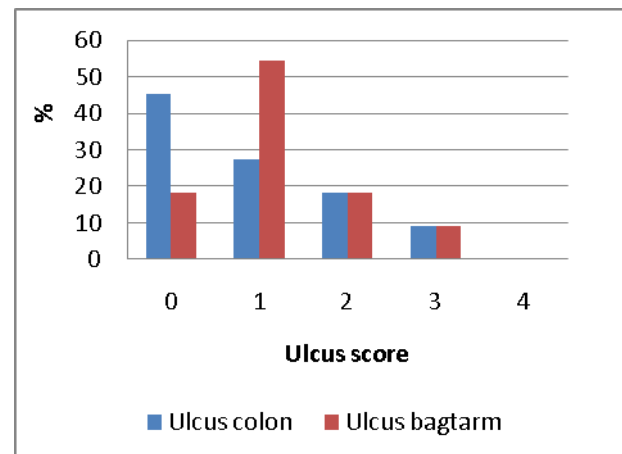
Gasterophilus-larver observeredes i 92 % af ventriklerne, og deres score fordelte sig som vist i figur 6.

I 97 % af ventriklerne fandtes enten ventrikelulcus eller *Gasterophilus*-larver.

Ud over ulcus ventriculi og *Gasterophilus*-infestation var eneste øvrige observerede patologi en tumor uden tegn på ulceration. I tabel 6 ses samtlige data for score af såvel ulcus ventriculi som *Gasterophilus* samt tilhørende testresultater.

Overordnet set var albumintesten positiv hos 86 %, hæmoglobintesten var positiv hos 39 %, og der var mindst ét positivt udslag hos 93 %. Alle kontrolfelter slog ud med positivt resultat.

Af tabel 6 fremgår det, at kun 2 heste tester A- H-. Hest 7 tester som forventet A- H-, mens hest 46, der har en VUS = 3, burde teste A- H+. Desuden falder kun 5 testresultater ud med A- H+ (=ventrikelrelateret



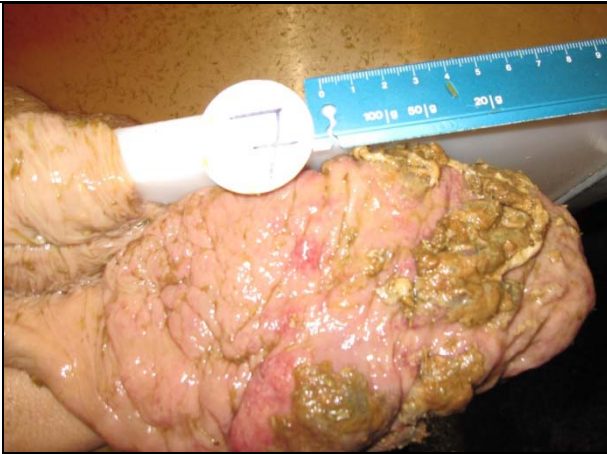
Figur 1: Fordeling af ulcus score for henholdsvis colon og bagtarm, n = 11.

ulceration), og blandt disse har de 4 ingen mavesår, men derimod *Gasterophilus*-larver. Fordelingen af mulige testudfald ses i figur 8, mens sammenhængen mellem testudfald og VUS er vist i figur 9.

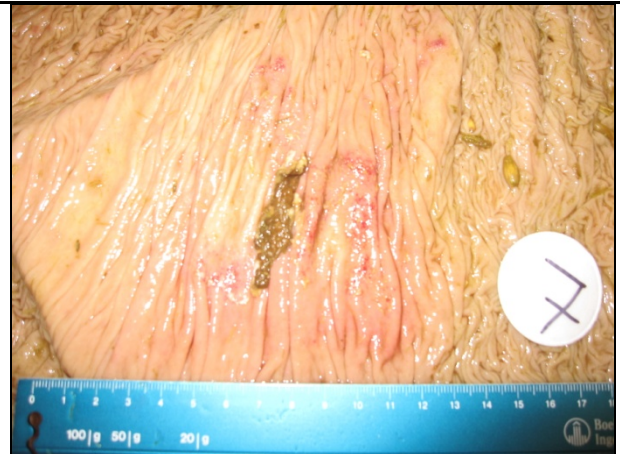
Tabel 5: Resultat af obduktion af 11 mavetarmsæt med tilhørende testresultater.

Hest	Albumin	Hæmoglobin	Ulcus ventriculi*	Gasterophilus	Ulcus colon	Ulcus bagtarm	Patologi**
1	+	-	0	2	2	2	Encysterede larver: +++; I: blødning subserosalt, C: ulcus ca. 1 cm ² . Stillet lipom, ca. 20 cm i diameter + 2 mindre lipomer
2	+	-	0	3	0	1	Encysterede larver: + I:hyperæmi/ødem C: få cyathostomer i lumen
3	+	+	0	1	1	1	Encysterede larver: +++ J: hyperæmi I: hyperæmi/ødem
4	+	-	0	3	0	0	Encysterede larver: +
5	+	-	0	0	1	1	Encysterede larver: +++ I: hyperæmi/ødem Ce+C: få cyathostomer
6	+	+	3	1	1	1	Encysterede larver: ++ I: hyperæmi/ødem
7	-	-	1	1	3	3	Encysterede larver: (+) D: kronisk fortykket væg uden affektion af mukosa Ce: kronisk ulceration med fortykket væg og lumenale fibrinbelægninger i spidsen af cecum, ca. 250 cm ² . C: kronisk ulcer med fibrin i 2 områder á ca. 80 cm ² .
8	+	-	1	1	0	1	Encysterede larver - D: hyperæmi I: hyperæmi/ødem Ce: kronisk reaktion uden affektion af mukosa
9	+	-	2	3	0	2	Encysterede larver: – Ce: massiv infestation med bændelorm
10	-	+	0	2	0	0	Encysterede larver: –
11	+	+	0	2	2	2	Encysterede larver -C: multiple pinpoint områder med hæmorhagi/ulceration

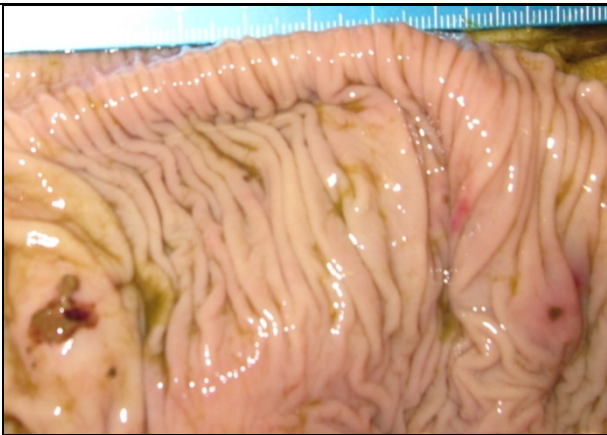
*parasitært betinget ulcus ventriculi er ekskluderet i bedømmelsen af ulcus ventriculi. **D: duodenum J: jejunum I: ileum Ce: caecum C: colon.



Figur 2: Ulceration ventrale ceacum, hest 7.



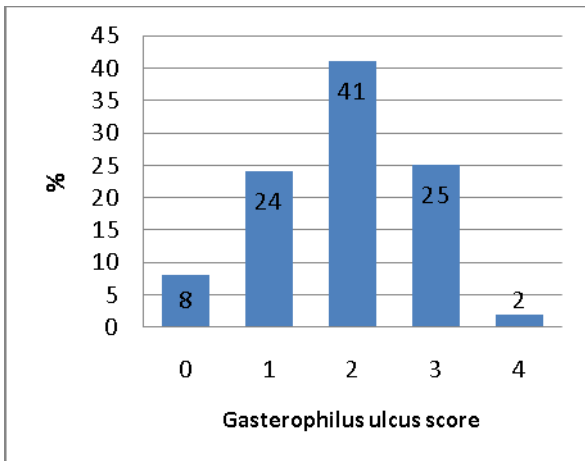
Figur 3: Colon ulceration, hest 7.



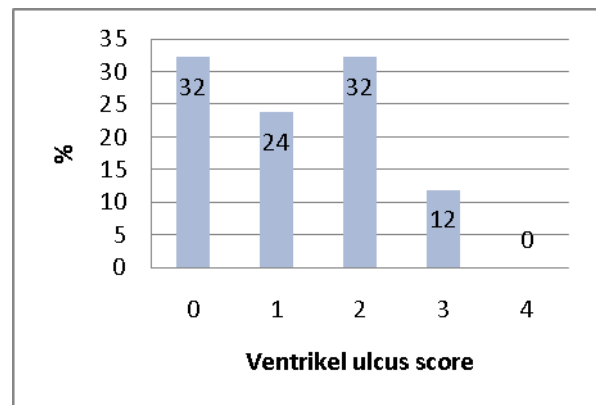
Figur 4: Ulcus i colon, hest 1.



Figur 5: Massiv bændelormsinfestation, hest 9.



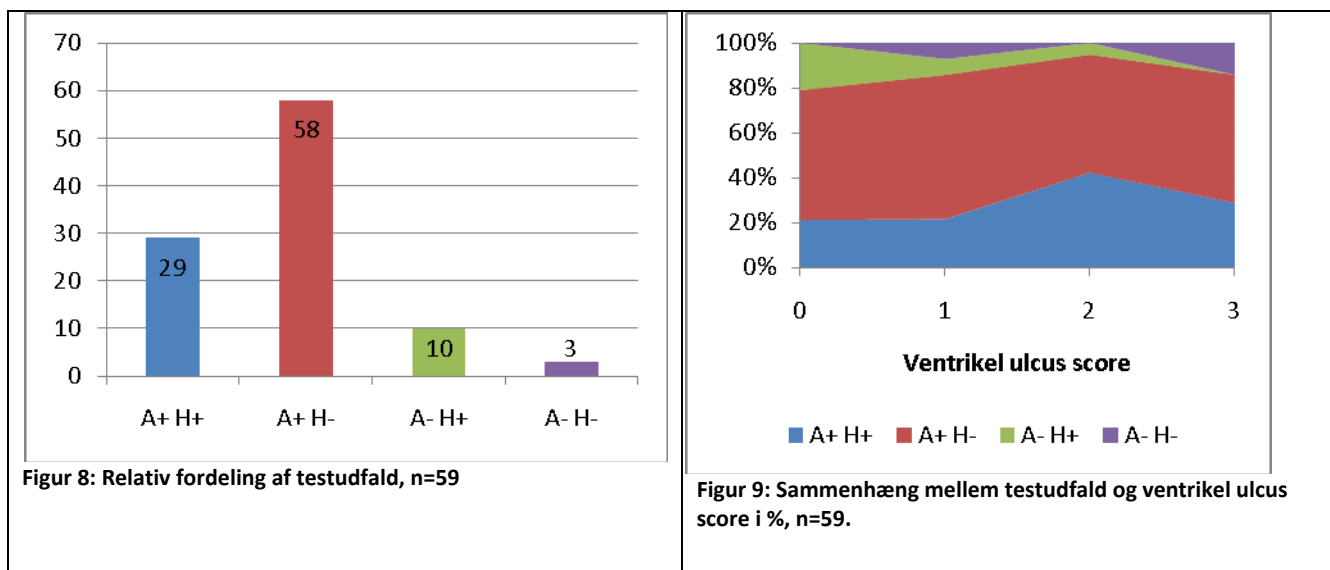
Figur 6: Frekvensen af *Gasterophilus* ulcus score i %, n=59.



Figur 7: Ventrikel ulcus score, n=59.

Tabel 6: Tabel over samtlige obducerede ventriklers testresultat og score for henholdsvis ulcus ventrikuli og *Gasterophilus*.
Dobbelt negative resultater er markeret med blå, mens ventrikelrelaterede diagnoser (A- H+) er markeret med grønt.

Hest	A test	H test	VUS	GUS	Hest	A test	H test	VUS	GUS
1	pos	neg	0	2	31	pos	pos	2	3
2	pos	neg	0	3	32	pos	pos	2	1
3	pos	pos	0	1	33	neg	pos	1	2
4	pos	neg	0	3	34	pos	neg	2	2
5	pos	neg	0	0	35	neg	pos	0	2
6	pos	pos	3	1	36	pos	pos	1	2
7	neg	neg	1	1	37	pos	pos	1	2
8	pos	neg	1	1	38	neg	pos	0	2
9	pos	neg	2	3	39	pos	neg	1	2
10	neg	pos	0	2	40	pos	pos	3	4
11	pos	pos	0	2	41	pos	pos	2	2
12	pos	neg	2	1	42	pos	pos	2	2
13	pos	neg	3	2	43	pos	neg	0	2
14	pos	neg	1	1	44	pos	neg	1	2
15	pos	pos	1	1	45	pos	neg	0	2
16	pos	neg	2	1	46	neg	neg	3	1
17	pos	neg	0	2	47	pos	neg	3	3
18	pos	pos	2	1	48	pos	neg	2	1
19	pos	neg	3	1	49	pos	neg	3	2
20	pos	neg	2	2	50	pos	pos	2	2
21	pos	neg	1	2	51	pos	neg	2	3
22	pos	neg	1	3	52	pos	pos	0	1
23	pos	neg	1	2	53	pos	neg	2	3
24	pos	pos	2	0	54	neg	pos	2	0
25	pos	neg	0	3	55	pos	neg	0	3
26	pos	neg	0	3	56	pos	neg	2	0
27	pos	neg	2	3	57	neg	pos	0	3
28	pos	neg	1	3	58	pos	neg	1	2
29	pos	neg	0	2	59	pos	pos	0	0
30	pos	pos	2	3					



Statistiske beregninger

Beregning af testens styrke

Da der i det offentliggjorte materiale over valideringen af testen er beregnet sensitivitet, specificitet m.m. er samme beregningsmetoder brugt til at beregne testens styrke. Resultatet fremgår af tabel 7.

Albumintesten er beregnet både ud fra en cut-off værdi for sygdom på CUS ≥ 1 og BUS ≥ 1 .

Ved tilsvarende beregning for hæmoglobintesten med en cut-off værdi for sygdom på VUS eller CUS ≥ 2 , var resultaterne ens, uanset om det blev beregnet ud fra CUS eller BUS. Der er ikke vist beregninger for *Gasterophilus*-larvernes indflydelse på hæmoglobin, da de 3 heste, der havde GUS = 3, alle testede H-.

Tabel 7: Beregninger på albumin- og hæmoglobintesten ud fra de 11 obduktioner af hele tarmsæt og samhørende testresultater. 95 % konfidensintervallet er angivet i parentes. Tarmscore dækker over både colon- og bagtarms ulcus score, da de gav ens resultat.

	Albumin		Hæmoglobin
	Colonscore ≥ 1	Bagtarmscore ≥ 1	Ventrikel og/eller tarmscore ≥ 2
Sensitivitet, %	86 (60-100)	89 (68-100)	40 (0-83)
Specificitet, %	25 (0-67)	50 (0-100)	67 (29-100)
Positiv prædiktiv værdi, %	67 (36-97)	89 (68-100)	50 (1-99)
Negativ prædiktiv værdi, %	50 (0-100)	50 (0-100)	57 (20-94)

Tarmsæt

Ser man isoleret på resultaterne af obduktionen af bagtarmene og sammenholder BUS med de fire mulige testudfald, fordeler disse sig ikke tilfældigt ($p=0,09$). Sammenholdes hæmoglobintesten med BUS findes der ingen sammenhæng ($p=1,00$). Sammenholdes albumintesten med BUS fordeler udfaldene sig ikke helt tilfældigt ($p=0,11$), men på den anden side følger de heller ingen trend ($p=0,65$). Altså, højere score udløser ikke nødvendigvis flere positive testresultater.

Ventrikler

Testes der for om VUS kan relateres til testudfaldet for ventrikelulceration (A-H+) bliver $p = 0,096$ (grønne område mod resten i figur 9).

Testes der for sammenhæng mellem VUS og positiv hæmoglobin test (A± H+) findes ingen sammenhæng ($p=1,00$).

Sammenholdes GUS med testudfaldet A-H+, ses der ingen sammenhæng ($p=1,00$).

Testes der for sammenhæng mellem GUS og positiv hæmoglobin test (A±H+), ses der ingen statistisk signifikant sammenhæng ($p=0,26$).

Summeres VUS og GUS, og sammenholdes med testudfaldet A– H+ findes der en vis, men ikke statistisk signifikant sammenhæng ($p=0,16$). Dette er dog således, at en højere score giver lavere sandsynlighed for A-H+.

Testes der for summeret VUS og GUS mod hæmoglobin (A±H+), ses ingen statistisk signifikant sammenhæng ($p=0,38$).

Testes der for GUS mod albumin (A+ H±) er der ingen statistisk signifikant sammenhæng ($p = 0,53$). Testes der for GUS mod albumin positiv hæmoglobin negativ, ses der er "statistisk nær-signifikant" sammenhæng ($p = 0,06$).

Diskussion

Fejlkilder

Da fæces evakueres fra exvicereret tarm, må kontaminering af fæcesprøven med blod mistænkes som mulig fejlkilde. I nærværende undersøgelse er kun 30 % af populationen positive i begge test. Desuden er 86 % positive for albumin, hvilket er væsentligt flere end de 39 % som er hæmoglobin positive. I tilfælde af kontaminering med udefrakommende blod, burde dette resultere i flere test, der er positive for både hæmoglobin og albumin. Til sammenligning er andelen af A+ 76 %, og andelen af H+ 64 % i baggrundsstudiet for producentens sensitivitet og specificitetsberegning⁽⁴⁾, og det antages derfor, at denne fejlkilde ikke har influeret nævneværdigt på resultatet.

"Even if the test line is faint, the test is POSITIVE"⁽³⁾. Denne instruks giver utilsigtet anledning til tolkning, da testen iblandt har en overordentlig "faint" line. Positive udslag i kontrolfelterne er tydelige, og det kunne ønskes, at testfelterne var lige så tydelige i sine udslag. Men SEFBT er et færdigt produkt, og det må forventes, at det kan aflæses korrekt af brugeren.

Population

Det vides ikke, om de canadiske heste var til human konsum, og derved underlagt restriktioner for brug af medicin, ej heller oplyses årstiden for undersøgelsen⁽¹⁾. Desuden kan transportafstande og forhold under transport variere mellem de danske og canadiske slagtehestepopulationer. Alt sammen faktorer der kan påvirke mavetarmkanalen, og bevirke forskelle mellem populationerne.

Tarmsæt

Undersøgelsen viser, at 55 % af 11 tarmsæt har nogen grad af ulceration i colon, og 82 % har nogen grad af ulceration i bagtarmen. Dette er i overensstemmelse med de 44 % - 63 % colonulceration i Pellegrinis studie ⁽¹⁾, men viser også at der er en del ulcerationer, der overses ved kun at undersøge colon. Et mere retvisende, men mindre arbejdskrævende kompromis til fremtidige studier, kunne bestå i at undersøge tarmen fra ileum og distalt. Af figur 1 fremgår det, at der hos 27 % af tarmsættene er ulceration, der ikke relaterer sig til colon, mens der for grad 2 og grad 3 er sammenfald i frekvens for colon og bagtarm.

Følgende hestes tarmpatologi kunne især være af klinisk interesse (se tabel 5): hest 1: stillet lipom og ulcus i colon (figur 4), hest 7: kroniske ulcerationer i ceacum og colon (figur 2 og 3), hest 9: massiv bændelormsinfestation (figur 5) og evt. hest 11: multiple pinpoint ulcerationer. Kun hest 9 har VUS > 2, hvorfor de 3 øvrige hestes patologi i tarmen burde kunne relateres til testresultatet. Deres udfald er dog svære at forklare, og især giver det ingen mening at hest 7, der har kraftig ulceration i både ceacum og colon, tester negativ for både hæmoglobin og albumin. Når hest 1 medtages her, skyldes det blandt andet, at lipomer nævnes i brugsvejledningen som mulig årsag til fækal albumin og hæmoglobin ⁽³⁾. I dette tilfælde var der dog ingen affektion af mukosa nær lipomerne, og colonulcerationen vurderes derfor at være væsentligste kilde til fækal albumin og hæmoglobin.

Syv ventrikler fra gruppen af hele tarmsæt, havde VUS på 0 eller 1, hvilket betyder at disse tarmsæt ikke bør teste positive grundet patologi i ventriklen. Dette sandsynliggør at testudfaldet skyldes ulceration i tarmkanalen. På trods af dette, er det svært at se en klar sammenhæng mellem testudfald og patologi i tarmen.

Samlet set er 11 obduktioner et meget lavt antal at estimere testens styrke på, og når man studerer tabel 5 er det svært at se et mønster mellem testudfald og patologi. Derfor er det interessant om man statistisk kan relatere BUS og testudfald. Bortset fra at de 4 mulige testudfald ikke ser ud til at fordele sig helt tilfældigt ($p=0,09$), kan BUS i øvrigt ikke relateres til hverken positiv hæmoglobintest ($p=1,00$) eller positiv albumintest ($p=0,65$).

På denne baggrund kan det ikke afvises, at testen kan bruges som en indikator for ulcerationer i bagtarmen, men omvendt er evidensen for, at dette er en god test ikke særligt overbevisende.

Testens styrke

Til sammenligning med de originale beregninger af testens styrke af albumintesten (se tabel 3 og 7) opnås en sensitivitet = 86 %, der svarer til de oplyste 89 % ⁽⁴⁾ men hvad angår specificitet = 25 % er lavere end de oplyste 81 % (4). Beregnes specificiteten ud fra BUS er den 50 %. For hæmoglobintesten forholder det sig nærmest modsat, idet sensitiviteten = 40 % er det halve af det oplyste (80), mens specificiteten = 67 % er tættere på det oplyste 90 ⁽⁴⁾. Da 95 % konfidensintervallet i nærværende studie i flere tilfælde 0 % - 100 %, giver det ingen mening at konkludere på disse resultater, ud over at antallet er for lille til at beregningerne giver mening.

Af tabel 7 fremgår det, at BUS giver højere specificitet (50 %) og positiv prædiktiv værdi (89 %), end de tilsvarende 25 % og 67 % for CUS. Teoretisk set er dette ikke overraskende, da testen måler over hele mavetarmkanalen.

Den skala, der er anvendt til bedømmelse af colon- og bagtarms ulcer score kan med fordel justeres. Eksempelvis vil en grad 4 ulceration sandsynligvis kun ses hos en moribund hest, og er derfor næppe relevant i en slagtehusundersøgelse. Et estimat af samlet ulceret overflade vil desuden være interessant, da dette kunne være en mere objektiv parameter på hvor stor overflade, der eksuderer serum/blod fra, og hvor stort et areal testens cutt-off værdi svarer til.

Ventrikler

I undersøgelsen har 68 % mavesår og sammenlignes med Pellegrini ⁽¹⁾, hvor der i de to grupper var 55 % og 87 % der havde mavesår, er dette i samme niveau som nærværende undersøgelse. Desuden fandtes i nærværende studie 34 % med VUS grad 2 eller højere. For Pellegrinis gruppe 2, der er vurderet ud fra en sammenlignelig skala, kan det udledes, at 64 % havde mavesår i grad 2 eller højere ⁽¹⁾, men det er uvist om dette er vurderet med eller uden parasitære ulcera.

I valideringsrapporten ⁽²¹⁾ oplyses det specifikt at VUS er uafhængig af ætiologien. Da *Gasterophilus*-larver generelt er hyppigt forekommende ^{(16) (17)}, klinisk irrelevante ^{(5) (6) (25)}, og findes i 97 % af de her undersøgte ventrikler, er det relevant at tildele separate scores for ulcus ventriculi af nonparasitær oprindelse og for *Gasterophilus*. Dette for at undersøge om testen slår ud grundet mavebremselarver, mavesår eller en kombination heraf. Ingen af disse parametre kan statistisk signifikant relateres til testudfaldet A-H+ eller H+ A±, derimod findes en "statistisk nær-signifikant" sammenhæng ($p=0,06$) mellem stigende forekomst af *Gasterophilus* og testudfaldet A+ H-. Dette indikerer at forekomsten af *Gasterophilus* sandsynligvis har indflydelse på testudfaldet, muligvis grundet eksudering af albumin fra parasiternes tilhæftningssted.

Desuden stiller det spørgsmålstejn ved, om albumin nedbrydes i ventriklen, og albuminnedbrydning i ventriklen er essentielt for at testen kan fortolkes som anvist.

Både albumin og hæmoglobin er proteiner, der i et vist omfang må forventes at blive nedbrudt af proteolytiske enzymer: i mavesækken af pepsin, og i tyndtarmen af eksempelvis trypsin og chymotrypsin fra bugspytkirtlen. Hvorvidt dette finder sted, og i hvilket omfang, har ikke været muligt at finde beskrevet.

Det skal retfærdigvis siges, at testen måler albumin og hæmoglobin og ikke mavesår eller *Gasterophilus*-infestation; men når 92 % af ventriklerne huser *Gasterophilus*, der altid betinger en VUS (såfremt parasitære ulcera er inkluderet i denne) på mindst 2 og ergo en positiv hæmoglobintest, bliver det relevant om testen kan differentiere mellem disse to diagnoser.

Når der testes for, om testen kan relatere en lidelse til mavesår i ventriklen (A-H+), bliver $p = 0,096$. Det er interessant, men altså ikke statistisk signifikant, at højere ulcusscore tilsyneladende resulterer i et andet udfald end A- H+. Det interessante består i, at højere score medfører faldende sandsynlighed for udfaldet A- H+. Dette er visualiseret i figur 9, hvor det grønne område repræsenterer udfaldet A-H+, og hvor det ses, at arealet mindsker med højere ulcusscore. Forestiller man sig, at man udvidede undersøgelsen og fik tilstrækkeligt mange målinger – med samme fordeling – til at det blev signifikant, ville man stå med en test, der havde en negativ korrelation mellem udfaldet A-H+ og mavesår.

I figur 9 er det blå og røde område udtryk for de albuminpositive test. Det fornemmes, at de tilsammen danner en svagt stigende kurve. Antages det, at den var signifikant, får man stadig ikke en god test for mavesår, da hældningen ikke er særlig stejl.

Nioghalvtreds ventrikler er ikke et ubetydeligt antal, men for at opnå statistisk signifikante resultater, skal der med det nuværende materiales fordeling, testes cirka 3 gange så mange ventrikler.

Anvendelighed

For at testen er klinisk relevant skal den kunne skelne mellem læsioner, der i praksis tillægges betydning, eksempelvis ulcus ventrikuli fra *Gasterophilus*, og lavgradig encystrering af larver fra ulcus colon. Undersøgelserne kan dog ikke bekræfte dette, da der hverken findes en sammenhæng mellem graden af ulceration i ventriklen (uanset årsag) og det ifølge producenten relevante testudslag; ej heller mellem graden af bagtarmsulceration og det ifølge producenten relevante testudslag.

Konklusion

Denne undersøgelses metodik afviger ikke væsentligt fra valideringsundersøgelsen⁽²¹⁾, dog er ventrikel ulcus adskilt i parasitær- og nonparasitær ulcus.

Ud fra 11 obduktioner af hele tarmsæt fandtes, at de mulige testudfald ikke fordelte sig tilfældigt i forhold til BUS ($p = 0,09$), ej heller mellem BUS og hæmoglobintest positive ($p=1,00$) eller albumintest positive ($p = 1,00$).

I tarmsættene fandtes colon ulceration hos 55 % og bagtarmsulcerationer hos 82 %. Patologi af mulig klinisk relevans fandtes i 36 % af tarmsættene.

Testen er primært vurderet ud fra de obducerede ventrikler, og der fandtes en trend ($p=0,096$) mellem aftagende grad af mavesår og testudslaget for ventrikelrelateret patologi (A- H+). Der findes ingen sammenhæng mellem positiv hæmoglobintest (A± H+) og VUS ($p = 1,00$).

Af 7 testudfald, der enten kunne stille en ventrikel relateret diagnose (A- H+) eller fortælle, at der ingen klinisk relevant ulceration fandtes i mavetarmkanalen (A- H-), kunne obduktionerne kun bekræfte testresultet i 2 af tilfældene.

Ingen sammenhæng kan påvises mellem graden af *Gasterophilus*-infestation og testudfaldet A-H+ ($p=1,00$). Det samme gælder for positiv hæmoglobintest (A± H+) og graden af *Gasterophilus*-infestation ($p=0,26$). Testes der derimod for GUS mod positiv albumintest (A+ H±), ses der en "nær-signifikant" statistisk sammenhæng ($p=0,06$). Med hensyn til teorien bag fortolkningen af testen – nemlig at albumin fra ventriklen nedbrydes i denne, er det tankevækkende, at der er en klar tendens mod højere forekomst af *Gasterophilus*-larver og øget sandsynligheden for albumin positiv test.

Summeres ventrikel ulcus score med score for *gasterophilus*, findes en vis men ikke signifikant sammenhæng ($p=0,16$), således at højere score giver lavere sandsynlighed for udfaldet A-H+. Med andre ord, jo større ulceration, der findes i ventriklen, jo mindre er sandsynligheden for at testen indikerer, at der er ulceration i ventriklen.

Det har derfor ikke været muligt at bekræfte hypotesen om, at øget grad af mavesår, giver øget sandsynlighed for hæmoglobin positivt testudfald.

I undersøgelsen blev 86 % af albumintestene og 39 % af hæmoglobintestene positive blandt de undersøgte ventrikler. En test, som i baggrundsmaterialet tester positiv på mindst 60 procent af hestene⁽²²⁾, og tester

positiv på 93 % af slagtehestepopulationen er problematisk. Enten har vi nogle meget syge heste – hvilket ikke understøttes af post mortem undersøgelserne af 11 tarmsæt, eller cut-off er forkert i forhold til at give mening klinisk.

Perspektivering:

Yderligere undersøgelser bør udføres for at vurdere anvendeligheden af testen på levende heste, eksempelvis , ved hjælp af gastroskopi og samhørende testudfald. Desuden vil undersøgelse af den kliniske relevans af colonulcerationer være interessant.

Litteraturliste

1. **Pellegrini, FL.** Results of a Large-Scale Necroscopic Study of Equine Colonic Ulcers. *Journal of Equine Veterinary Science.* 2005, Årg. 25, 3, s. 113-117.
2. **Murray, MJ.** Diseases of the stomach. [forfatter] T Mair, T Divers og N Ducharme. *Manual of Equine Gastroenterology.* s.l. : WB Saunders, 2002, s. 241-248.
3. **NN.** Use Instructions and Technical Information. *SucceedFBT.* [Online] 24. 02 2010. <http://www.succeedfbt.com/FBTInstructions09.pdf>.
4. **Hall, John.** *Personlig meddelelse.* 18. 03 2010.
5. **Cogley TP, Cogley MC.** Inter-relationship between Gasteropilus larvae and the horse's gastric and duodenal wall with special reference to penetration. *Veterinary Parasitology.* 1999, 86, s. 127-142.
6. **Reinemeyer, CR og Nielsen, MK.** Parasitism and Colic. *Veterinary Clinics of North America. Equine Practice.* 2009, Årg. 25, s. 233 - 245.
7. **Bruijn CM de, Schutrups AH, Seesing EHAL.** Prevalence of equine gastric ulceration in standardbreds. *Veterinary Record.* 2009, Årg. 164, 26, s. 814-815.
8. **Bell RJW, Kingston JK, Mogg TD, Perkins NR.** The prevalence of gastric ulceration in racehorses in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal.* 200, Årg. 55, 1, s. 13-18.
9. **Chameroy KA, Nadeau JA, Buschmich SL, Dinger JE, Hoagland TA.** Prevalence of non-glandular gastric ulcers in horses involved in a university riding program. *Journal of Equine Veterinary Science.* 2006, Årg. 26, 5, s. 207-211.
10. **Jonsson, H og Egenvall, A.** Prevalence of gastric ulceration in Swedish Standardbreds in race training. *Equine Veterinary Journal.* 2006, Årg. 38, 3, s. 209-213.
11. **le Jeune, SS, et al.** Prevalence of gastric ulcers in Thoroughbred broodmares in pasture: A preliminary report. *The Veterinary Journal.* 2008, 181, s. 251-255.

12. **Luthersson N, Hou Nielsen K, Parkin TDH.** The prevalence and anatomical distribution of equine gastric ulceration syndrome (EGUS) in 201 horses in Denmark. *Equine Veterinary Journal*. 2009, Årg. 41, 7, s. 619-624.
13. **Niedwiedz A, Matyszczyk, Nicpon J.** Prevalence of gastric ulcers in cold-blooded horses in Poland. *Ippologia*. 2008, Årg. 19, 4, s. 15-19.
14. **Nieto, JE, et al.** Prevalence of gastric ulcers in endurance horses - a preliminary report. 2004. 167, s. 33-37.
15. **Vastitas, NJ, et al.** Cross-sectional study of gastric ulcers of the squamous mucosa in Thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal*. 1999, Suppl. 29, s. 34-39.
16. **Otranto, D, et al.** Species composition of *Gasterophilus* spp. (Diptera, Oestridae) causing equine gastric myiasis in southern Italy: Parasite biodiversity and risk for extinction. *Veterinary Parasitology*. 2005, 133, s. 111-118.
17. **Reinemeyer, CR, et al.** Efficacy of moxidectin equine oral gel against endoscopically-confirmed *Gasterophilus nasalis* and *Gasterophilus intestinalis* (Diptera: Oestridae) infections in horses. *Veterinary Parasitology*. 2000, 88, s. 287-291.
18. **Bain, SA og Kelly, JD.** Prevalence and pathogenicity of *Anoplocephala perfoliata* in a horse population in South Auckland. *New Zealand Veterinary Journal*. 1977, Årg. 25, 1/2, s. 27-28.
19. **Bello, TR og Abell, JE.** Are equine tapeworms an emerging disease? A retrospective study. *Journal of Equine Veterinary Science*. 1999, Årg. 19, 11, s. 723-727.
20. **Pellegrini, FL og Carter, SD.** An Equine Necroscopic Study to Determine the Sensitivity and Specificity of a Dual Antibody Test, 2007. *SucceedFBT*. [Online] 27. 09 2009. Link fra <http://www.succeedfbt.com/testedAccurate.asp>.
21. —. An Equine Necroscopic Study to Determine the Sensitivity and Specificity of a Dual Antibody Test. 2008. *SucceedFBT*. [Online] 25. 02 2010. <http://www.succeedfbt.com/NecropsyStudy08.pdf>.
22. **Carter, S og Pellegrini, FL.** The Use of Novel Antibody Tools to Detect the Presence of Blood in Equine Feces. 2006. *SucceedFBT*. [Online] 24. 02 2010. http://www.succeedfbt.com/Antibody_Summary.pdf.
23. —. The Use of Novel Antibody Tools to Detect the Presence of Blood in Equine Feces. 2007. *SucceedFBT*. [Online] 25. 02 2010. http://www.succeedfbt.com/Antibody_Study_11-28-07.pdf.
24. **Pellegrini, FL.** Results of a Large-Scale Necroscopic Study of Equine Colonic Ulcers. 2006. *SucceedFBT*. [Online] 25. 02 2010. http://www.succeedfbt.com/Colonic-Ulcer_Study.pdf.
25. **Love, S.** Parasite-associated gastrointestinal disease. [forfatter] T Mair, T Divers og N Ducharme. *Manual of Equine Gastroenterology*. s.l. : WB Saunders, 2002, s. 53-60.
26. **NN.** The Succeed FBT is accurate and reliable. *SucceedFBT*. [Online] Freedom Health, LCC, 27. 09 2009. <http://www.succeedfbt.com/testedAccurate.asp>.

27. Equidan, Succeed FBT. *Equidan*. [Online] 20. 01 2010.
<http://www.equistro.dk/DK/Produkter%20til%/hest/Blodtest/SUCCEED%20FBT.sapx>.
28. **NN**. SEFBT abstrakt. *Succeed*. [Online] 27. 09 2009. www.succeedfbt.com/Vetabstract.pdf.
29. **Brown CM, Slocombe RF, Derksen FJ**. Fiberoptic gastroduodenoscopy in the horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 186, 1985, 9, s. 965-968.
30. **Chameroy, KA, et al**. Prevalence of non-glandular gastric ulcers in horses involved in a university riding program. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2006, Årg. 25, 5, s. 207-211.
31. **JR, Rooney**. Gastric ulceration in foals. *Pathol Vet*. 1964, 1, s. 497-503.