

Faktoren, die ein Ansprechen auf die Therapie bei Hunden mit
eosinophiler Bronchopneumopathie beeinflussen

von Vanessa De Simoi

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Faktoren, die ein Ansprechen auf die Therapie bei Hunden mit
eosinophiler Bronchopneumopathie beeinflussen

von Vanessa De Simoi

aus Essen

München 2023

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Priv.-Doz. Dr. Bianka Schulz

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Bianka Schulz

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Matthias Eddicks

Tag der Promotion: 22. Juli 2023

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
III.	PUBLIKATION	27
IV.	DISKUSSION	44
V.	ZUSAMMENFASSUNG	52
VI.	SUMMARY.....	53
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	54
VIII.	ANHANG	60
IX.	DANKSAGUNG	66

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ASIT	allergenspezifische Immuntherapie
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BALF	bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit
<i>Bb</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
CIRDC	canine infectious respiratory disease complex (kaniner infektiöser Atemwegserkrankungskomplex)
EBP	eosinophile Bronchopneumopathie
IKT	Intrakutantest
IL	Interleukin
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
HNA	Hypophysen-Nebennieren-Achse
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase Kettenreaktion)
PIIINP	Procollagen type III amino terminal propeptide (aminoterminales Prokollagen-Typ-III-Propeptid)
z. B.	zum Beispiel

I. EINLEITUNG

Die eosinophile Bronchopneumopathie (EBP) tritt vorwiegend bei jungen, ausgewachsenen Hunden auf (CLERCX et al., 2002). Diese chronisch-entzündliche Erkrankung ist gekennzeichnet durch eine Infiltration der unteren Atemwege mit eosinophilen Granulozyten (CLERCX et al., 2000). Die Ätiologie der EBP ist noch nicht geklärt, eine Hypersensitivitätsreaktion auf Umweltallergene wird jedoch diskutiert (CLERCX et al., 2000; PEYRON et al., 2009). Bisher konnte diese Theorie aber noch nicht bestätigt und kein eindeutiger Auslöser bestimmt werden (JOHNSON, 2005).

Die Therapie besteht derzeit in den meisten Fällen in einer Behandlung mit Glukokortikoiden, die lokal und/oder systemisch appliziert werden (CLERCX et al., 2000; CANONNE et al., 2016b). Hunde mit EBP zeigen auf die Therapie mit Glukokortikoiden initial meist eine deutliche Verbesserung, sowohl der klinischen Symptomatik als auch der labordiagnostischen und bronchoskopischen Veränderungen (CLERCX et al., 2000; CLERCX et al., 2002). Häufig kommt es jedoch zu Rezidiven, wenn die Glukokortikoide abgesetzt oder nur für einen kurzen Zeitraum verabreicht werden (CLERCX et al., 2000; RAJAMAKI et al., 2002a).

Bisher gibt es kaum Untersuchungen zum langfristigen Ansprechen auf die Therapie oder zu Faktoren, die einen Therapieerfolg prognostisch beeinflussen. Eine Studie konnte keinen Zusammenhang zwischen akuten und chronischen Symptomen, Laborparametern, radiologischen Veränderungen und einem Ansprechen auf die Therapie bei 70 Hunden feststellen (CASAMIAN-SORROSAL et al., 2020). In einer anderen Studie, die das Ansprechen auf eine mindestens sechsmonatige Therapie mit inhalativem Fluticasonpropionat bei acht Hunden untersuchte, kam es nur bei zwei Hunden zu einer vollständigen klinischen Remission, während die übrigen sechs Hunde weiterhin leichte bis mäßige klinische Symptome aufwiesen (CANONNE et al., 2016b).

Ziel der Dissertation war es zu untersuchen, ob die Ergebnisse klinischer und labordiagnostischer Untersuchungen sowie Umweltfaktoren einen Einfluss auf den Therapieerfolg bei Hunden mit EBP haben.

Im Rahmen der Studie wurden Besitzer von Hunden mit EBP gebeten, einen standardisierten Fragebogen auszufüllen, in dem die Umwelt- und Haltungsbedingungen sowie die klinische Symptomatik und das Ansprechen auf die Therapie abgefragt wurden. Zusätzlich wurden aus den Krankenakten Informationen zu Signalement, klinischer Untersuchung, Befunde von bildgebenden Verfahren und Laborergebnisse ausgewertet und hinsichtlich ihrer prognostischen Aussage untersucht.

II. LITERATURÜBERSICHT

De Simoi V, Schulz B (2018): Eosinophile Bronchopneumopathie des Hundes. Kleintierprax 63(8): 475–488.

DOI: 10.2377/0023-2076-63-475

Übersichtsartikel

Eosinophile Bronchopneumopathie des Hundes

<https://www.vetline.de/eosinophile-bronchopneumopathie-des-hundes>

© M. & H. Schaper GmbH. 2018, Abdruckgenehmigung erteilt

Medizinische Kleintierklinik München, Ludwig-Maximilians-Universität München

Eosinophile Bronchopneumopathie des Hundes – Canine Eosinophilic Bronchopneumopathy

Vanessa De Simoi, Bianka Schulz

Zusammenfassung:

Die Eosinophile Bronchopneumopathie ist gekennzeichnet durch eine eosinophile Infiltration der Atemwege. Derzeit wird von einer Hypersensitivitätsreaktion als zugrunde liegender Ursache ausgegangen. Die betroffenen Hunde zeigen Husten, Dyspnoe und Leistungsinsuffizienz. Bei begleitender eosinophiler Rhinitis besteht zusätzlich Nasenausfluss. Eine periphere Bluteosinophilie liegt bei 60 % der betroffenen Hunde vor. Radiologisch fällt meist eine bronchointerstitielle Lungenzeichnung auf. Zur Diagnosestellung müssen die eosinophile Entzündung in den unteren Atemwegen nachgewiesen und andere Ursachen für die eosinophile Entzündung ausgeschlossen werden. Als Materialien zum Nachweis der eosinophilen Entzündung eignet sich eine Bronchoalveolarlavage oder eine Biopsie der Bronchialschleimhaut. Die Therapie erfolgt durch orale oder inhalative Gabe von Glukokortikoiden.

Schlüsselwörter: Respirationstrakt, pulmonary infiltration with eosinophils (PIE), Husten, Bronchitis

Summary:

Eosinophilic bronchopneumopathy is characterised as an eosinophilic infiltration of the airways. Currently, a hypersensitivity reaction is considered to be the underlying cause of this disease. Affected dogs show coughing, dyspnoea and exercise intolerance. Nasal discharge can occur as well in cases with additional eosinophilic rhinitis. Peripheral blood eosinophilia is seen in 60 % of the affected dogs. The most frequently described radiographic pulmonary abnormality is a broncho-interstitial lung pattern. For a firm diagnosis, it is necessary to prove the presence of eosinophilic inflammation in the lower airways and to exclude other causes for the eosinophilic inflammation. A bronchoalveolar lavage or a bronchial biopsy can be used to prove the presence of eosinophilic inflammation. At present, the treatment of this condition mainly consists of oral or inhaled glucocorticoids.

Keywords: respiratory tract, pulmonary infiltration with eosinophils (PIE), cough, bronchitis

Einleitung

Die Eosinophile Bronchopneumopathie (EBP) des Hundes ist eine chronisch entzündliche Erkrankung des unteren Respirationstraktes, die durch eine Infiltration der Lunge und der Bronchialschleimhaut mit eosinophilen Granulozyten gekennzeichnet ist (Clercx et al. 2000). Bei manchen Hunden liegt zusätzlich auch eine eosinophile Rhinitis vor (Clercx et al. 2000). Für die Erkrankung sind mehrere Namen bekannt, so wird sie auch als *pulmonary eosinophilia* (PE) oder *pulmonary infiltration with eosinophils* (PIE) bezeichnet (Corcoran et al. 1991, Rajamaki et al. 2002a). Die Ätiologie ist bislang nicht vollständig geklärt, es wird jedoch von einer Hypersensitivitätsreaktion ausgegangen (Clercx et al. 2000, Peyron et al. 2009). Von einigen Autoren wurden Schimmelpilze, Medikamente (wie z.B. Penicilline, Sulfonamide und Tetrazykline), Bakterien und Parasiten wie *Dirofilaria immitis* als Auslöser einer pulmonären Hypersensitivitätsreaktion bei Mensch und Tier diskutiert (Wessels et

al. 1973). Es gibt jedoch bisher keine aktuellen Studien, die diese Theorie belegen können. So konnte auch bei der caninen EBP bislang noch kein eindeutiger Auslöser gefunden werden (Johnson 2005).

Typischerweise tritt die EBP erstmals bei jungen adulten Hunde auf, das mittlere Alter lag in einer Studie bei 4,9 Jahren (Clercx et al. 2002). Weibliche Tiere scheinen häufiger betroffen zu sein als männliche (Clercx et al. 2002, Clercx et al. 2000, Rajamaki et al. 2002a). Die EBP kommt bei vielen verschiedenen Rassen und Mischlingen vor, von einer Rasseprädisposition von Siberian Husky, Alaskan Malamute und Rottweiler wird berichtet (Clercx et al. 2000, Cohn 2010).

Pathophysiologie

Derzeit wird die EBP als Manifestation einer immunologischen Hypersensitivität angesehen, mögliche auslösende Antigene sind jedoch nicht bekannt (Clercx et al. 2002, Peeters et al. 2005). Das Verhältnis von CD4:CD8-Lymphozyten in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BALF) ist bei Hunden mit EBP im Vergleich zu gesunden Hunden signifikant höher was durch einen erhöhten Anteil an CD4⁺-Zellen und einen niedrigeren Anteil an CD8⁺-Zellen zustande kommt (Clercx et al. 2002). Daher ist die eosinophile Infiltration wahrscheinlich durch Zytokine der CD4⁺-Zellen vermittelt. Dies deutet darauf hin, dass bei Hunden mit EBP wahrscheinlich eine Th2-vermittelte Immunantwort abläuft (Clercx et al. 2002, Peeters 2009). Auch bei allergischen Erkrankungen des Respirationstraktes im Mäusemodell konnte ein Anstieg der CD4⁺-Zellen und der eosinophilen Granulozyten in den Atemwegen nachgewiesen werden (Lee et al. 1997) und auch bei Menschen mit Asthma zeigt sich eine erhöhte Aktivität von CD4⁺-Zellen in der BALF (Robinson et al. 1993). Ebenso konnte bei Menschen mit allergischen Erkrankungen des Respirationstraktes nachgewiesen werden, dass der Antigenkontakt zu einer Aktivierung der allergenspezifischen Th2-Zellen in der Mukosa führt, und dass die Degranulation der eosinophilen Granulozyten abhängig von den CD4⁺-Zellen ist (Del Prete et al. 1993, Mould et al. 2000). Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied in der bronchialen Th2-Zytokin-Produktion bei Hunden mit EBP im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Peeters et al. 2006). Allerdings ermittelte man einen erhöhten mRNA-Gehalt von Eotaxin-2 und -3, sowie von MCP-3 (monocyte chemoattractant protein-

3) in Bronchialbiopsien von betroffenen Hunden (Peeters et al. 2006). Dies deutet darauf hin, dass diese Zytokine für die Einwanderung von eosinophilen Granulozyten und mononukleären Entzündungszellen in die Atemwege verantwortlich sind (Clercx und Peeters 2007). Eotaxine sind starke Chemokine für eosinophile und basophile Granulozyten (Lloyd 2002, Pease und Williams 2001). MCP-3 ist ebenfalls maßgeblich an der Anlockung von eosinophilen Granulozyten beteiligt (Lukacs 2001). Die Produkte der eosinophilen Granulozyten rufen eine Erosion und Paralyse der respiratorischen Zilien sowie Verschorfung der Mukosa hervor (Johnson 2005). Des Weiteren stimulieren die eosinophilen Granulozyten die Freisetzung von Mediatoren aus Mastzellen, wie Serotonin und Histamin, und führen zu einer Erhöhung von Leukotrien und PAF (platelet activating factor). Dies führt zu einer Erhöhung der Epithelpermeabilität und einer vermehrten Mukussekretion, dadurch bedingt kann es zu einem erhöhten Atemwegswiderstand kommen, was zu einer Hypoxämie führen kann (Johnson 2005).

Durch eine erhöhte Aktivität von Kollagenolyse und Proteinolyse kann es zu Zerstörung und Umbau der unteren Atemwege und des Parenchyms kommen (Peeters 2009). So zeigte sich in Studien eine Erhöhung von Matrix-Metalloproteinasen (MMP) in der BALF von an EBP erkrankten Hunden im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Rajamaki et al. 2002a, 2002b). Diese erhöhte Aktivität von MMP-8, MMP-9 und MMP-13 trägt zu einer vermehrten Kollagenolyse bei. Die MMP-Produktion scheint jedoch nicht von den eosinophilen Granulozyten auszugehen, sondern von Makrophagen und Epithelzellen (Rajamaki et al. 2002a, 2002b). In einer Studie von Heikkilä und Mitarbeitern (2013) zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Konzentration von PIIINP (procollagen type III amino terminal propeptide) in der BALF von Hunden mit EBP und idiopathischer pulmonärer Fibrose im Vergleich zu gesunden Hunden und Hunden mit chronischer Bronchitis. PIIINP wird während der Synthese von Kollagen Typ 3 abgespalten und steigt damit proportional zur gebildeten Kollagenmenge an (Fessler und Fessler 1978).

Durch Umbauvorgänge im Gewebe infolge der chronischen Entzündungsreaktion kommt es zur irreversiblen Schädigung der unteren Atemwege. So führt eine chronische Entzündungsreaktion z.B. zum vermehrten Auftreten von Bronchiektasien (Marolf und Blaik 2006). Klinisch führt die Entzündung zu Husten, Leistungsschwäche bis hin zu Dyspnoe.

Klinische Symptomatik

Leitsymptom bei der EBP ist chronischer Husten, der bei 95-100 % der an EBP erkrankten Hunde auftritt. Weitere beschriebene Symptome sind Würgen und Erbrechen (Clercx et al. 2000, Rajamaki et al. 2002a). Der Husten ist meist laut und rau, oft produktiv und kann in der klinischen Untersuchung leicht ausgelöst werden (Clercx und Peeters 2007, Meler et al. 2010). Andere häufig vorkommende klinische Symptome sind Leitungsinsuffizienz, Polypnoe und Dyspnoe (Clercx und Peeters 2007, Clercx et al. 2000). In vielen Fällen wird auch Nasenausfluss als Folge einer begleitenden eosinophilen Rhinitis beobachtet, dieser kann sowohl serös, mukös als auch mukopurulent sein (Clercx et al. 2000). Bei der selteneren akut verlaufenden Form der EBP müssen differentialdiagnostisch auch Probleme des Gastrointestinaltraktes abgeklärt werden, da hier manchmal neben Husten auch Würgen im Vordergrund der klinischen Symptomatik steht (Clercx et al. 2000). Die Lungenauskultation kann unauffällig sein, meist fallen aber verstärkte Atemgeräusche oder Pfeifen und Knistern über dem Lungenfeld auf (Clercx et al. 2000).

Diagnostische Abklärung

Der Nachweis der EBP erfolgt nach den Kriterien, die von Clercx und Mitarbeitern (2000) als typisch für diese Erkrankung beschrieben wurden. Diese umfassen eine typische klinische Symptomatik (Husten, Dyspnoe, Leistungsinsuffizienz), Veränderungen in Lungenröntgen oder CT, welche die Erkrankung der unteren Atemwege widerspiegeln, ein erhöhter Anteil an eosinophilen Granulozyten in Bronchial- oder BALF-Zytologie, eosinophile Infiltrate in Biopsien der Bronchialschleimhaut und dem Ausschluss anderer Ursachen für eine eosinophile Entzündung der Atemwege.

Labordiagnostik

Im Blutbild zeigt sich bei 50-75 % der erkrankten Hunde auch eine periphere Eosinophilie (Clercx et al. 2002, Clercx et al. 2000, Rajamaki et al. 2002a). Weitere Veränderungen des Blutbildes können eine Leukozytose, eine Neutrophilie und eine Basophilie sein (Clercx et al. 2000, Nelson 2008; Rajamaki et al. 2002a). In der Serumchemie zeigen sich keine typischen Veränderungen (Clercx und Peeters 2007, Rajamaki et al. 2002a).

Um eine parasitäre Infektion der Atemwege auszuschließen, sollte eine Sammelkotprobe (mindestens drei verschiedene Proben) auf Lungenwürmer untersucht werden und bei Hunden aus endemischen Gebieten ein Dirofiliarien-Antigen-Test und ein Test auf Mikrofilarien durchgeführt werden, da diese Parasiten bekannte Auslöser für eine eosinophile Pneumonie darstellen (Clercx et al. 2000, Cohn 2010, Johnson 2005). Die Kotuntersuchung sollte ein kombiniertes Zentrifugation-Flotationsverfahren mit Zinksulfatlösung und ein Baermann-Verfahren beinhalten (Sherding 2004), um verschiedene pulmonäre Parasiten detektieren zu können und im Zweifelsfall durch weitere Tests wie Antigennachweis oder PCR-Verfahren für *Angiostrongylus vasorum* aus Blut, Kot oder BALF ergänzt werden.

Radiologie

Bei Röntgenaufnahmen von Hunden mit EBP ist eine generalisierte Lungenzeichnung unterschiedlicher Intensität zu beobachten, die meist stärker ausgeprägt ist als bei Hunden mit chronischer Bronchitis (Clercx und Peeters 2007). Die am häufigsten beschriebene Lungenzeichnung in einer retrospektiven Untersuchung von 23 Hunden war eine moderate bis hochgradige generalisierte bronchointerstitielle Lungenzeichnung bei 65 % der Patienten (Abb. 1), weiterhin auch eine alveoläre Komponente (40 %) (Clercx et al. 2000). Die Autoren der Studie diskutieren, dass es sich bei der alveolären Lungenzeichnung um eine eosinophile Infiltration der Alveolen handeln könnte. Differentialdiagnostisch kommen jedoch auch andere Erkrankungen in Frage, bei denen sich Flüssigkeit oder Zellen im Alveolarraum ansammeln (u.a. Ödeme, Infektionen, Lungenblutung) (Seiler 2010). Weitere röntgenologische Befunde waren Bronchiektasien (26 %) und peribronchiale Verdichtungen (21 %) (Clercx et al. 2000). Die radiologischen Veränderungen korrelierten in einer Studie mit der Zellzahl und dem Gehalt der eosinophilen Granulozyten in der BALF, jedoch nicht mit dem Gehalt an Eosinophilen im peripheren Blut (Rajamaki et al. 2002a). In einigen Fällen wurden röntgenologisch auch noduläre Veränderungen beschrieben, welche wahrscheinlich granulomatöse Infiltrate widerspiegeln (Haussler et al. 2010, Nelson 2008).



Abb. 1: Thoraxröntgen, laterolateraler Strahlengang, bei einem Hund mit eosinophiler Bronchopneumopathie mit bronchointerstitieller Lungenzeichnung

Mesquita und Mitarbeiter (2015) führten bei 15 Hunden mit EBP eine Computertomographie durch und konnten jedoch nur bei 14 dieser Hunde (93 %) Lungenveränderungen nachweisen. Die Veränderungen des Parenchyms in dieser Studie von Mesquita und Mitarbeitern (2015) waren sowohl generalisiert (47 %) als auch multifokal (40 %) verteilt; bei einem Hund war nur ein Lobus betroffen. Innerhalb der betroffenen Lungenlappen waren die Veränderungen vor allem peribronchial, aber auch diffus oder peripher lobulär verteilt. Am häufigsten lagen interstitielle Lungenveränderungen vor. Bei fünf Hunden (33 %) zeigte sich eine noduläre Lungenzeichnung. Weiterhin fiel häufig eine Verdickung der Bronchialwände auf (87 %), ein Verschluss des Bronchiallumens durch Mukus und Debris (73 %) und Bronchiektasien (60 %). Bei allen Hunden handelte es sich um fokale Bronchiektasien, die bei sechs von neun Hunden als zylindrisch und bei einem Hund als sakkulär klassifiziert wurden; bei den anderen beiden Hunden lag ein gemischter zylindrisch-sakkulärer Typ vor. Eine intrathorakale

Lymphadenopathie lag bei 67 % der Hunde vor.

Die Einschlusskriterien dieser Studie stimmen jedoch nicht mit der Definition einer EBP nach Clercx und Mitarbeitern (2000) überein. In dieser Studie wurde lediglich eine erhöhte Anzahl von eosinophilen Granulozyten in den Atemwegen, Untersuchung der BALF auf Parasiten und eine Kotuntersuchung zum Ausschluss einer Infektion mit *Angiostrongylus vasorum* zur Diagnosestellung herangezogen. Nach den Kriterien von Clercx und Mitarbeitern (2000) müssen jedoch auch radiologische Veränderungen der unteren Atemwege für die Diagnose einer EBP vorliegen, sodass die Ergebnisse dieser Studie mit etwas Vorbehalt zu beurteilen sind.

Bronchoskopie

Die Bronchoskopie kann mithilfe eines flexiblen Fiberglas- oder Videobronchoskops und einer Lichtquelle (Xenon oder Halogen) durchgeführt werden (Clercx und Peeters 2007, Johnson 2001). Das Standardbronchoskop für die meisten Hunde hat einen Durchmesser von ungefähr 5 mm, bei sehr kleinen Hunden ist auch ein Bronchoskop mit 3,7 mm Durchmesser geeignet. Bei besonders großen Hunden können die Standardbronchoskope mit 55 cm längenmäßig an ihre Grenze stoßen, hier empfiehlt sich der Einsatz eines extra langen Bronchoskops mit 75 cm Länge oder die Nutzung eines Pädiatriegastroskops mit 8 mm Durchmesser und 100 cm Länge, um auch die tieferen Atemwege größerer Hunde untersuchen zu können (Johnson 2001). Die Bronchoskopie findet unter Allgemeinanästhesie statt, welche tief genug sein sollte, um Husten und einen Laryngospasmus zu unterdrücken. Durch ein spezielles T-Verbindungsstück, welches auf den Tubus gesteckt wird, kann das Bronchoskop durch den Tubus in die Atemwege geleitet und der Patient gleichzeitig mit Sauerstoff versorgt werden (Abb. 2.). Dies setzt voraus, dass der Tubus groß genug für die Passage des Bronchoskops ist, dazu sollte der Tubus bei einem gängigen Hundebronchoskop größer als 7 mm sein (Johnson 2001). Bei kleineren Hunden muss gegebenenfalls eine Bronchoskopie ohne vorherige Intubation erfolgen, hier kann ersatzweise eine Larynxmaske verwendet werden. Dabei erfolgt bei der Bronchoskopie in der Regel eine Injektionsnarkose (Johnson 2001).



Abb. 2: Der T-Konnektor ermöglicht die Oxygenierung des Patienten während der Bronchoskopie

Bei der bronchoskopischen Untersuchung der Atemwege fallen bei Hunden mit EBP vor allem muköses bis mukopurulenten, oft grüngelbes Sekret in den unteren Atemwegen auf sowie polypoiden Verdickungen der Mukosa (Clercx et al. 2000). Die Mukosa zeigt meist eine deutliche Hyperämie (Johnson 2005) (Abb. 3). Teilweise kann auch eine partielle Atemwegsobstruktion in Expiration beobachtet werden (Clercx et al. 2000).

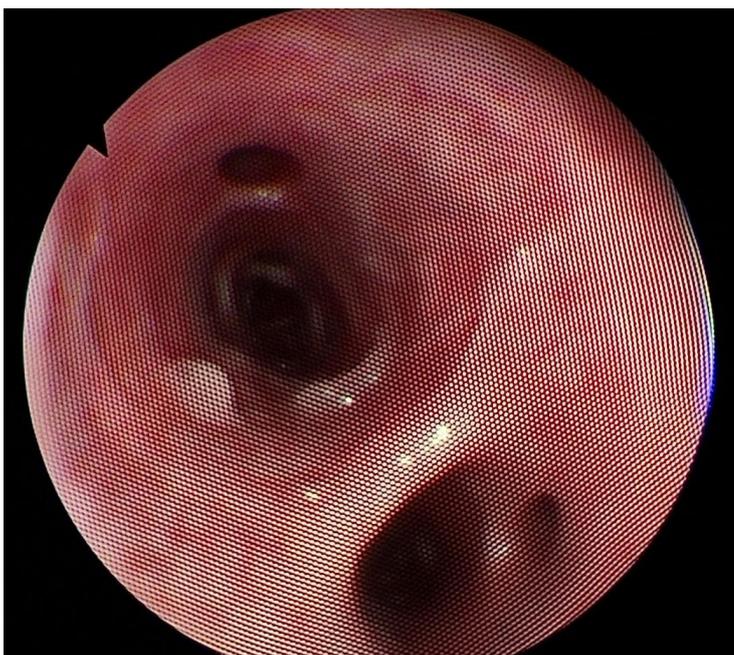


Abb. 3: Bronchoskopie bei einem Hund mit eosinophiler Bronchopneumopathie, hier fällt mukopurulentem Sekret in den Bronchien und eine Hyperämie der Mukosa auf.

Bronchoalveoläre Lavage

Zur Diagnosestellung muss die eosinophile Entzündung in den Atemwegen nachgewiesen werden: Dies kann entweder mithilfe einer bronchoalveolären Lavage (BAL) oder einer Bronchialschleimhautbiopsie geschehen (Clercx und Peeters 2007, Clercx et al. 2000).

Die Durchführung der BAL erfolgt während der Bronchoskopie. Das T-Stück am Ende des Trachealtubus ermöglicht zeitgleich eine Sauerstoffzufuhr und die Passage des Endoskops. Nach einer vollständigen bronchoskopischen Untersuchung erfolgt die Auswahl der zu beprobenden Lungenlappen. Die Beprobung mehrerer Lappen erhöht die Wahrscheinlichkeit eines aussagekräftigen Ergebnisses. Beim Vorfinden lokaler Veränderungen sollten diese unbedingt zusätzlich beprobt werden (Hawkins et al. 1990). Zur Gewinnung der BAL werden meist 1-2 ml warme, sterile NaCl-Lösung pro Kilogramm Körpergewicht über den Biopsiekanal des Bronchoskops in den jeweiligen Lungenlappen gespült und unmittelbar danach schonend mit einer Spritze wieder zurückgewonnen. Der Einsatz einer Pumpe zur Rückgewinnung ist möglich, sollte jedoch vorsichtig erfolgen, da es bei zu starker Absaugung zu einem Atemwegskollaps und zur Zerstörung fragiler Zellen in der Probe kommen kann. Sobald keine Flüssigkeit mehr zurückzugewinnen ist, kann der Vorgang bei Bedarf an derselben Stelle mit einer zweiten Spritze NaCl-Lösung wiederholt werden (Hawkins et al. 1990). Liegen diffuse Veränderungen vor, wie es bei der EBP meist der Fall ist, sollten mindestens zwei verschiedene Lungenlappen beprobt werden (Finke 2013). Eine BAL kann ebenfalls mittels eines sterilen Spülkatheters gewonnen werden. Dieser kann über den Arbeitskanal des Endoskops eingeführt werden oder blind über den Tubus. Der Vorteil ist eine geringere Kontaminationswahrscheinlichkeit, ein Nachteil stellt die blinde Entnahme dar, sodass keine gezielte Beprobung veränderter Bereiche möglich ist. Das zurückgewonnene Volumen einer BAL liegt bei ungefähr 50 % (Hawkins et al. 1995).

Zur zytologischen Untersuchung wird ein Teil des BALF in ein EDTA-Röhrchen überführt, abzentrifugiert und ein Ausstrich angefertigt (Abb. 4). Nach Färbung des Präparates z.B. mit einer Wright-Giemsa-Färbung erfolgt eine zytologische

Untersuchung, um den prozentualen Anteil an eosinophilen Granulozyten zu bestimmen (Clercx et al. 2002). Dazu sollten mindestens 200 Zellen ausgezählt werden (Finke 2013, Hawkins 2004). Die Bestimmung der Gesamtzellzahl kann mit einer unverdünnten, nicht zentrifugierten Probe im Hämozytometer erfolgen (Hawkins et al. 1990). Im BALF von Hunden mit EBP finden sich erhöhte Zellzahlen und ein erhöhter Anteil an eosinophilen, oft auch neutrophilen Granulozyten (Clercx et al. 2000, Heikkilä et al. 2013, Rajamaki et al. 2002a). Der Anstieg der eosinophilen Granulozyten ist dabei so hoch, dass die relative Anzahl an anderen Zellen wie Makrophagen, Lymphozyten und Mastzellen erniedrigt ist, während neutrophile Granulozyten und Epithelzellen meist auf einem normalen Niveau bleiben (Rajamaki et al. 2002a).

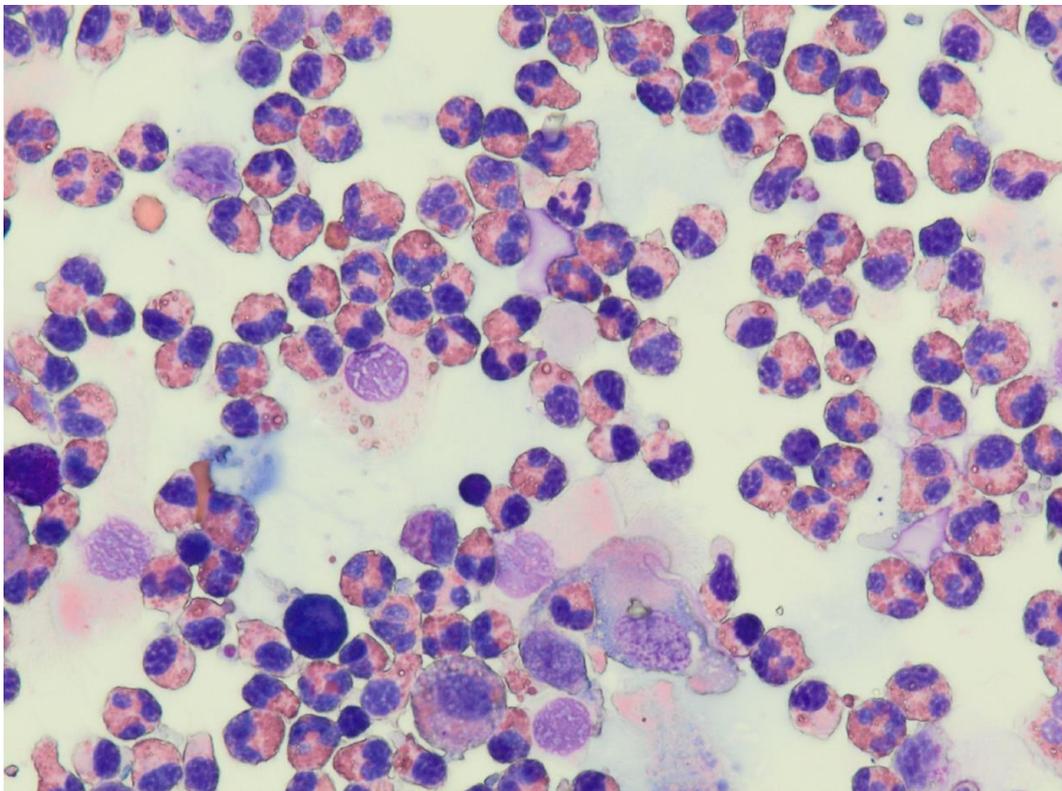


Abb. 4: BALF-Zytologie, 50x Objektiv, modifizierte Wright Färbung. Hier ist ein deutlich erhöhter Anteil an eosinophilen Granulozyten sichtbar.

Die BAL bei gesunden Hunden weist bis zu 500 kernhaltige Zellen/ μ L auf (Burkhard 2016). In der Zytologie dominieren Alveolarmakrophagen (70-80 %) außerdem sind 6-14 % Lymphozyten, <5 % Neutrophile, <5 % Eosinophile und 1-2 % Mastzellen in der BAL von gesunden Hunden physiologischerweise vorhanden

(Burkhard 2016). Es gibt keine klaren Grenzwerte, ab denen von einer eosinophilen Entzündung gesprochen werden kann. Hawkins und Mitarbeiter (1995) definierten diesen in einer Studie mit 14 % oder mehr eosinophilen Granulozyten. Jedoch zeigen auch klinisch gesunde Hunde teilweise einen Anteil von bis zu 19 % (Hawkins et al. 1990). Meist liegt bei Hunden mit EBP aber ein deutlich erhöhter Anteil an eosinophilen Granulozyten mit mehr als 50 % vor (Clercx et al. 2000). Bei einer fraglichen BAL, die zwischen 10 und 20 % eosinophile Granulozyten aufweist, können die Ergebnisse einer histopathologischen Untersuchung einer Bronchialbiopsie helfen, die eosinophile Entzündung sicher nachzuweisen (Clercx et al. 2000).

Ein Teil der BALF sollte zur mikrobiologischen Untersuchung eingesendet werden, um eine eventuelle bakterielle Infektion schnell zu erkennen und vor Beginn einer Glukokortikoidtherapie behandeln zu können (Clercx et al. 2002, Clercx et al. 2000). Die Atemwege von Hunden sind nicht steril, so dass eine quantitative Bakterienkultur benötigt wird, um die BALF genau bewerten zu können (Peeters et al. 2000). Der Grenzwert, ab der von einer Infektion der unteren Atemwege ausgegangen wird, liegt bei $1,7 \times 10^3$ KBE/ml (Peeters et al. 2000).

Bronchialbiopsie

Eine definitive Diagnose kann auch durch eine histopathologische Untersuchung einer Bronchialbiopsie erfolgen (Nelson 2008). Nach Färbung des Präparats (zum Beispiel mit Hämatoxylin-Eosin) erfolgt eine gründliche histopathologische Untersuchung des Präparats zum Nachweis des entzündlichen Geschehens (Clercx et al. 2000, Nelson 2008). Die Befunde der Histopathologie bei Vorliegen einer EBP können nach Clercx und Mitarbeitern (2000) in 3 verschiedene Entzündungsgrade eingeteilt werden (Tab. 1). Die Befunde der BALF-Analyse und der Histopathologie scheinen jedoch nicht miteinander zu korrelieren (Clercx et al. 2002, Clercx et al. 2000).

Tab.1: Histologische Entzündungsgrade von Bronchialbiopsien bei Hunden mit eosinophiler Bronchopneumopathie (modifiziert nach Clercx et al. 2000)

	GRAD DER ENTZÜNDUNG	HISTOLOGISCHES ERSCHEINUNGSBILD
Grad 0	Keine	- unauffällig
Grad 1	Milde Entzündung	- Ödem der oberflächlichen Lamina propria - viele eosinophile Granulozyten, wenige Mastzellen
Grad 2	Moderate Entzündung	- in oberflächlicher Mukosa zusätzlich zahlreiche Plasmazellen, Lymphozyten, Makrophagen und Mastzellen
Grad 3	Hochgradige Entzündung	- Verdickung der Mukosa - Metaplasie oder Ulzeration des Epithels mit Hyperplasie der Drüsenelemente - zelluläre Infiltration v. a. mit Makrophagen und eosinophilen Granulozyten, aber auch Plasmazellen und Lymphozyten - teilweise: - Mikrohämmorrhagien - hämosiderinhaltige Makrophagen - Kollagenolyse und Fibrose

Rhinoskopie

Bei gleichzeitig vorliegendem Nasenausfluss sollte zusätzlich eine Rhinoskopie durchgeführt werden (Clercx und Peeters 2007). Dabei sollten ebenfalls Proben für eine zytologische und ggf. bakteriologische Untersuchung entnommen werden (Clercx und Peeters 2007). Die endoskopischen Befunde gleichen denen in den tiefen Atemwegen; auch hier zeigt sich eine ödematöse Mukosa und eine muköse oder mukopurulente Sekretion (Clercx et al. 2000). In der zytologischen oder histopathologischen Untersuchung zeigt sich auch hier häufig eine eosinophile Entzündung (Clercx und Peeters 2007, Clercx et al. 2000).

Allergiediagnostik

Bei der EBP wird derzeit davon ausgegangen, dass ätiologisch eine Hypersensitivitätsreaktion zugrunde liegt (Clercx et al. 2002, Clercx et al. 2000). In einer Studie wurde bei Hunden mit EBP vor Beginn der Glukokortikoidtherapie ein Intrakutantest (IKT) mit 48 Antigenen durchgeführt. Dabei reagierten vier von zwölf Hunden positiv (Clercx et al. 2002). In einer anderen Studie wurde ein Intrakutantest bei drei Hunden nach Beendigung der Glukokortikoidtherapie durchgeführt, wobei alle drei Hunde negativ reagierten (Corcoran et al. 1991). In beiden Studien wurde jedoch keine Vergleichsgruppe von gesunden Hunden

getestet. Da bisher zu wenige Informationen über die Bedeutung von Allergenen bei der EBP vorliegen, sind die Ergebnisse von Allergietests schwierig zu interpretieren (Clercx und Peeters 2007). Eine positive Reaktion im IKT heißt nicht, dass das gefundene Antigen auch unbedingt für die pulmonäre Reaktion verantwortlich ist (Peeters 2009). Aus dermatologischen Studien ist bekannt, dass auch gesunde Hunde positive Reaktionen im IKT zeigen können (Koebrich et al. 2012).

Differentialdiagnostik

Differentialdiagnostisch kommen bei Hunden mit chronischem Husten vor allem andere chronisch-entzündliche Atemwegserkrankungen (chronische Bronchitis, idiopathische Lungenfibrose) in Frage, weiterhin infektiöse Ursachen (bakterielle Infektionen, Lungenwurminfektionen) und Kollaps der Atemwege (Tracheal-, Bronchialkollaps). Seltener sind pulmonäre Neoplasien, Fremdkörper oder intrathorakale Prozesse (Erguss, Massen, Zwerchfellhernien) ätiologisch beteiligt. Die Abgrenzung von diesen möglichen Grundursachen kann mittels bildgebender Verfahren (Röntgen, Ultraschall, CT), Bronchoskopie und BAL und nachfolgender Zytologie und mikrobiologischer oder parasitologischer Diagnostik erfolgen. In seltenen Fällen ist eine Feinnadelaspiration oder Lungenbiopsie zur Diagnosestellung erforderlich (Neoplasien, Lungenfibrose) (Hartmann et al. 2011, Nelson 2008). Eine mögliche kardial bedingte Ursache für den Husten sollte vor allem berücksichtigt werden, wenn klinisch Hinweise auf ein Herzproblem bestehen (Herzgeräusch, Arrhythmie) (Hartmann et al. 2011). In diesem Fall würde die weitere Abklärung Röntgen, EKG und Herzultraschall umfassen.

Wird bei der Abklärung einer Atemwegssymptomatik eine eosinophile Entzündung in den unteren Atemwegen nachgewiesen, sollten differentialdiagnostisch vor allem Lungenparasitosen, Dirofilariose und allergische Reaktionen ausgeschlossen werden. Für die Einteilung von eosinophilen Atemwegserkrankungen beim Hund erstellten Clercx und Peeters (2007) eine Klassifizierung, die an die Einteilung der eosinophilen Lungenerkrankungen in der Humanmedizin angelehnt ist. Die verschiedenen eosinophilen Krankheitskomplexe werden hierbei in vier Klassen eingeteilt:

1. Erkrankung der Atemwege
2. Erkrankungen des Parenchyms mit bekannter Ursache

3. Idiopathische Erkrankungen des Lungenparenchyms

4. Idiopathische Erkrankung der Atemwege und des Lungenparenchyms.

Wichtige Differentialdiagnosen für chronischen Husten sind vor allem die chronische Bronchitis, Neoplasien, Lungenfibrose, infektiöse Tracheobronchitis (parasitär oder bakteriell) oder Bronchopneumonie, Laryngitis oder ein Atemwegskollaps (Hartmann et al. 2011, Nelson 2008). Auch eine mögliche kardial bedingte Ursache für den Husten sollte berücksichtigt werden (Hartmann et al. 2011).

Therapie

Medikamente zur Therapie der eosinophilen Bronchopneumopathie

Falls vorberichtlich ein auslösendes Antigen bekannt ist, sollte es vermieden oder eliminiert werden (Johnson 2005, Nelson 2008). Da es noch unklar ist, ob es sich um eine Typ-1-Hypersensibilitätsreaktion handelt, muss der Nutzen einer allergenspezifischen Immuntherapie (ASIT) nach Durchführung eines Intrakutantests noch untersucht werden (Clercx et al. 2002). Die wichtigste Komponente in der Therapie der EBP sind Kortikosteroide, dabei ist sowohl eine inhalative als auch systemische Anwendung möglich (Canonne et al. 2016, Clercx und Peeters 2007, Nelson 2008). Sollte eine Therapie mit Glukokortikoiden in seltenen Fällen nicht ausreichen, kann eine zusätzliche immunsuppressive Therapie mit Cyclophosphamid oder Azathioprin erfolgen, um die Entzündung zu kontrollieren (Clercx und Peeters 2007, Nelson 2008). Ebenso kann eine zusätzliche Gabe von Bronchodilatoren hilfreich sein, um einen Bronchospasmus zu reduzieren und die mukozilliäre Clearance zu erhöhen (Nelson 2008). Beschrieben sind hierfür Methylxanthinderivate wie Aminophyllin oder Theophyllin sowie Terbutalin, Albuterol oder Ipratropiumbromid (Nelson 2008). Am gebräuchlichsten sind Methylxanthinderivate und β_2 -Agonisten wie Terbutalin. Aufgrund der schlechten Resorption von Ipratropiumbromid nach oraler Gabe wäre hier nur eine inhalative Verabreichung möglich (Mevissen und Abraham 2016). Derzeit ist jedoch kein veterinärmedizinisches Präparat mit diesem Wirkstoff zugelassen. Methylxanthine haben eine relativ enge therapeutische Breite und sollten nicht bei bekannten Herzerkrankungen, Magen- Darm- Ulcera sowie bei

einer Leber- und Nierenschädigung eingesetzt werden. Da Methylxanthine zentralnervöse Erregung hervorrufen können, sollte die Anwendung bei Tieren mit neurologischen Vorerkrankungen vorsichtig erfolgen (Dörfelt et al. 2015, Mevissen und Abraham 2016). Terbutalin als kurzwirksamer β_2 -Agonist kann ebenfalls Tachykardie/-arrhythmie und einen Muskelzittern zur Folge haben. Durch eine Steigerung der Glukoneogenese kann es zu einer Hyperglykämie und einer Hypokaliämie kommen (Dörfelt et al. 2015, Mevissen und Abraham 2016). Bei gleichzeitig bestehender eosinophiler Rhinitis ist eine zusätzliche intranasale Therapie mit NaCl-Lösung, Mukolytika, Vasokonstriktiva oder Kortikosteroiden möglich (Clercx et al. 2000). Auch bei Hunden ohne eine Kontraindikation für systemische Glukokortikoide sollte zur Vermeidung von systemischen Nebenwirkungen nach Möglichkeit eine Umstellung auf inhalative Glukokortikoidgabe erfolgen (Bexfield et al. 2006).

Systemische Glukokortikoide

Der Beginn der Therapie erfolgt meist mit kurzwirksamen systemischen Kortikosteroiden wie Methylprednisolon oder Prednisolon (Clercx und Peeters 2007, Clercx et al. 2000). Die vorgeschlagene Initialdosis ist 1 mg/kg KG zweimal täglich gefolgt von stufenweiser Reduktion, sofern die klinische Symptomatik dies zulässt. Langfristig erfolgt dann die Gabe derselben Dosis an alternierenden Tagen und nach einer weiteren Woche 1 mg/kg einmal täglich an alternierenden Tagen. Es erfolgt eine weitere stufenweise Reduktion bis zur Erhaltungsdosis. Die Erhaltungsdosis variiert zwischen 0,125–0,5 mg/kg KG an alternierenden Tagen (Clercx et al. 2000). Alternativ kann auch eine tägliche Glukokortikoidgabe erfolgen und eine langsame Reduktion der täglichen Gabe.

Wenn bei gleichzeitigem Bestehen anderer Erkrankungen eine systemische Glukokortikoidgabe kontraindiziert ist, wie zum Beispiel bei Diabetes mellitus, Adipositas oder begleitenden kardialen Erkrankungen, wird eine inhalative Glukokortikoidtherapie empfohlen (Canonne et al. 2016, Clercx und Peeters 2007).

Inhalative Glukokortikoide

Der Vorteil einer inhalativen Therapie mit Glukokortikoiden liegt in der Reduktion von steroidinduzierten Nebenwirkungen. Eine inhalative Therapie ist mit verschiedenen inhalativen Steroiden möglich. Beschrieben wurden inhalative Therapien mit Fluticasonpropionat, Beclomethasondipropionat (Bexfield et al.

2006, Canonne et al. 2016) oder Budesonid. Die Gabe des Inhalationssprays erfolgt über eine Inhalationskammer mit Maske, die von verschiedenen Herstellern speziell für Hunde mit verschiedenen Maskengrößen erhältlich sind (z.B. AeroDawg©, RC Chamber©). Hierbei sollte eine schrittweise Gewöhnung der Hunde an die Inhalationstherapie erfolgen (Bexfield et al. 2006). Zur Gewöhnung sollte sich der Besitzer ein bis zwei Wochen Zeit nehmen; zunächst sollte nur ein kurzes Überstülpen der Inhalationskammer ohne Medikation mehrmals täglich erfolgen (Abb. 5). Bei der Anwendung kann das Betätigen des Inhalers bereits vorher mit ein wenig Abstand zum Hund erfolgen; die nun gefüllte Kammer wird mit einer Maske entsprechend dem Hund aufgesetzt (Canonne et al. 2016). Die Größe der Maske sollte so gewählt werden, dass diese die Schnauze vollständig umschließt (Canonne et al. 2016). Die Inhalation sollte 5-10 Atemzüge andauern (Bexfield et al. 2006). Die Initialdosis Fluticasonpropionat beträgt 100-250 µg zweimal täglich je nach Gewicht des Hundes, danach kann abhängig von der klinischen Symptomatik und dem Ansprechen auf die Therapie eine Reduktion stattfinden (Canonne et al. 2016).



Abb. 5: Durchführung der inhalativen Glukokortikoidtherapie beim Hund

Therapieerfolg und Nebenwirkungen

Das Ansprechen auf eine immunsuppressive Therapie mit Glukokortikoiden ist bei den meisten Patienten gut (Clercx et al. 2000). In einer Studie von Clercx und Mitarbeitern (2000) wurde nur bei zwei von 22 Hunden keine Besserung der Symptomatik beobachtet. Bei fünf von 22 Hunden verschwanden die klinischen Symptome vollständig. Bei den restlichen 15 Tieren kam es zu einer deutlichen Reduktion der Symptomatik. Sofern eine zusätzliche intranasale Therapie aufgrund einer eosinophilen Rhinitis notwendig war, zeigte sich bei zehn von zwölf Hunden eine Besserung der Rhinitis (Clercx et al. 2000). In einer anderen Studie von Clercx und Mitarbeitern (2002), bei der zwölf an EBP erkrankte Hunde eingeschlossen wurden, zeigte sich bei allen Hunden eine Besserung der Symptomatik und eine deutliche Reduktion der Bluteosinophilie. In dieser Studie wurde eine Bronchoskopie nach Therapiestart wiederholt und zeigte bei allen Hunden eine deutliche Besserung der endoskopischen Befunde, bei vier Hunden zeigte sich hier sogar wieder ein vollständig physiologisches Bild. Auch röntgenologisch zeigt sich eine Besserung der Lungenbefunde unter Therapie (Rajamaki et al. 2002a). Auch der Quotient von CD4⁺/CD8⁺-Lymphozyten, bedingt durch einen erhöhten Anteil an CD4⁺-Zellen und einen niedrigeren Anteil an CD8⁺-Zellen, normalisierte sich unter Glukokortikoidtherapie in einer Studie (Clercx et al. 2002). Die eosinophile Infiltration der Atemwege nimmt ebenfalls unter Glukokortikoidtherapie ab, wie in einer Studie mit Kontroll-BAL unter Glukokortikoidtherapie nachgewiesen werden konnte (Clercx et al. 2002). Bei einer diskontinuierlichen oder zu kurzen Kortikosteroidtherapie kommt es jedoch häufig zu Rezidiven (Clercx et al. 2000, Rajamaki et al. 2002a).

Bei einer Kombination der oralen Glukokortikoidtherapie mit der inhalativen Therapie kann die orale Dosis verringert werden. Auch die Nebenwirkungen sind dann im Vergleich zu einer rein oralen Therapie geringer (Bexfield et al. 2006). Die Nebenwirkungen einer Glukokortikoidtherapie sind bekanntermaßen unter anderem Polyurie, Polydipsie und Polyphagie sowie eine verzögerte Wundheilung (Richter und Ungemach 2014). Zudem ist die Infektionsanfälligkeit gesteigert. Weitere Nebenwirkungen können Osteoporose, Katarakt oder ein Glaukom sein (Richter und Ungemach 2014). Durch die Gabe von Kortison kommt es durch eine negative Rückkopplung zu einer verminderten Ausschüttung von ACTH. Dies führt zu einer Atrophie der Nebennierenrinde, weshalb Kortisonpräparate nicht abrupt

abgesetzt werden sollten (Richter und Ungemach 2014). Bei langfristiger oraler Glukokortikoidgabe besteht außerdem die Gefahr des iatrogenen Hyperadrenokortizismus; daher sollte, sofern möglich, eine inhalative Therapie bevorzugt werden (Canonne et al. 2016). Bekannte Nebenwirkungen der inhalativen Therapie in der Humanmedizin sind neben möglichen systemischen auch lokale Nebenwirkungen wie eine periorale Dermatitis, Zungenhypertrophie, Candidiasis und Entzündungen im Bereich des Pharynx (Roland et al. 2004). Zu möglichen Nebenwirkungen bei Hunden liegen bisher keine Berichte vor. Treten unter inhalativer Therapie mit Fluticasonpropionat Anzeichen von systemischen Nebenwirkungen auf, könnte eine Umstellung auf ein inhalatives Budesonidpräparat eine Verbesserung bringen, da diese Therapie in einer Studie an gesunden Versuchshunden einen geringeren Einfluss auf die Hypophysen-Nebennieren-Achse gezeigt hat als die Inhalation von Fluticasonpropionat (Melamies et al. 2012).

Conflict of interest

Hiermit erklären die Autoren, dass sie keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder anderen persönlichen Interessen haben, welche die im Manuskript dargestellten Inhalte oder Meinungen beeinflussen könnten.

Literatur

- Bexfield NH, Foale RD, Davison LJ, Watson PJ, Skelly BJ, Herrtage ME (2006): Management of 13 cases of canine respiratory disease using inhaled corticosteroids. *J Small Anim Pract* 47: 377-382.
- Burkhard MJ (2016): Respiratory Tract. In: Raskin RE & Meyer DJ (Hrsg.), *Canine and feline cytology a color atlas and interpretation guide* Elsevier, St. Louis, Missouri, 138- 190.
- Canonne AM, Bolen G, Peeters D, Billen F, Clercx C (2016): Long-term follow-up in dogs with idiopathic eosinophilic bronchopneumopathy treated with inhaled steroid therapy. *J Small Anim Pract* 57: 537-542.
- Clercx C, Peeters D (2007): Canine eosinophilic bronchopneumopathy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 37: 917-935.

- Clercx C, Peeters D, German AJ, Khelil Y, McEntee K, Vanderplasschen A, Schynts F, Hansen P, Detilleux J, Day MJ (2002): An immunologic investigation of canine eosinophilic bronchopneumopathy. *J Vet Intern Med* 16: 229-237.
- Clercx C, Peeters D, Snaps F, Hansen P, McEntee K, Detilleux J, Henroteaux M, Day MJ (2000): Eosinophilic bronchopneumopathy in dogs. *J Vet Intern Med* 14: 282-291.
- Cohn LA (2010): Pulmonary Parenchymal Disease. In Ettinger SJ & Feldmann EC (Hrsg.), *Textbook of veterinary internal medicine* (Vol. 2), Saunders, St. Louis, Missouri, 1096- 1119.
- Corcoran B, Thoday K, Henfrey J, Simpson J, Burnie A, Mooney C (1991): Pulmonary infiltration with eosinophils in 14 dogs. *J Small Anim Pract* 32: 494-502.
- Del Prete GF, De Carli M, D'Elisio MM, Maestrelli P, Ricci M, Fabbri L, Romagnani S (1993): Allergen exposure induces the activation of allergen-specific Th2 cells in the airway mucosa of patients with allergic respiratory disorders. *Eur J Immunol* 23: 1445-1449.
- Dörfelt R, Abbrederis N, Hirschberger J (2015): Kraft W, Emmerich IU (Hrsg.) *Dosierungsvorschläge für Arzneimittel bei Hund und Katze*. Schattauer, 6. Aufl., Stuttgart.
- Fessler JH, Fessler LI (1978): Biosynthesis of Procollagen. *Annual Review of Biochemistry* 47: 129-162.
- Finke MD (2013): Transtracheal wash and bronchoalveolar lavage. *Top Companion Anim Med* 28: 97-102.
- Hartmann K, Berg G, Dorsch R, Fischer A, Hirschberger J, Müller R, Neuerer F, Schulz B, Wess G (2011): Schmid S (Hrsg.), *Rule-Outs für die Kleintiermedizin*. Schlütersche, Hannover.
- Haussler N, Scharvogel S, Stockhaus C (2010): Nodular lesions in the lung of a dog with eosinophilic bronchopneumopathy. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 38: 238-244.

- Hawkins EC (2004): Bronchoalveolar Lavage. In: King LG (Hrsg.), Textbook of respiratory disease in dogs and cats. Saunders, St. Louis, Missouri, 118-127.
- Hawkins EC, DeNicola DB, Kuehn NF (1990): Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease in the dog and cat. State of the art. *J Vet Intern Med* 4: 267-274.
- Hawkins EC, DeNicola DB, Plier ML (1995): Cytological Analysis of Bronchoalveolar Lavage Fluid in the Diagnosis of Spontaneous Respiratory Tract Disease in Dogs: A Retrospective Study. *J Vet Intern Med* 9: 386-392.
- Heikkilä HP, Krafft E, Jespers P, McEntee K, Rajamäki MM, Clercx C (2013): Procollagen type III amino terminal propeptide concentrations in dogs with idiopathic pulmonary fibrosis compared with chronic bronchitis and eosinophilic bronchopneumopathy. *Vet J* 196: 52-56.
- Johnson LR (2001): Small animal bronchoscopy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 31: 691-705.
- Johnson LR (2005): Bronchopulmonary Disease. In: Birchard SJ & Sherding RG (Hrsg.), Saunders manual of small animal practice (3 Ed.), Elsevier Health Sciences, St. Louis, Missouri, 1665-1683.
- Koebrich S, Nett-Mettler C, Wilhelm S, Favrot C. (2012): Intradermal and serological testing for mites in healthy beagles dogs. *Vet Dermatol* 23: 192-e39.
- Lee JJ, McGarry MP, Farmer SC, Denzler KL, Larson KA, Carrigan PE, Brenneise IE, Horton MA, Haczku A, Gelfand EW (1997): Interleukin-5 expression in the lung epithelium of transgenic mice leads to pulmonary changes pathognomonic of asthma. *J Exp Med* 185: 2143-2156.
- Lloyd C (2002): Chemokines in allergic lung inflammation. *Immunology* 105: 144-154.
- Lukacs NW (2001): Role of chemokines in the pathogenesis of asthma. *Nat Rev Immunol* 1: 108-116.

- Marolf A, Blaik M (2006): Bronchiectasis. *Compend Contin Educ Small Anim Pract* 28: 766-775.
- Melamies M, Vainio O, Spillmann T, Junnila J, Rajamäki MM (2012): Endocrine effects of inhaled budesonide compared with inhaled fluticasone propionate and oral prednisolone in healthy Beagle dogs. *Vet J* 194: 349-353.
- Meler E, Pressler BM, Heng HG, Baird DK (2010): Diffuse cylindrical bronchiectasis due to eosinophilic bronchopneumopathy in a dog. *Can Vet J* 51: 753-756.
- Mesquita L, Lam R, Lamb CR, McConnell JF (2015): Computed tomographic findings in 15 dogs with eosinophilic bronchopneumopathy. *Vet Radiol Ultrasound* 56: 33-39.
- Mevisen M, Abraham G (2016): Pharmakologie des Atmungsapparates. In: Löscher W, Richter A (Hrsg.), *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. Enke Verlag, 4. Aufl., Stuttgart.
- Mould AW, Ramsay AJ, Matthaei KI, Young IG, Rothenberg ME, Foster PS (2000): The effect of IL-5 and eotaxin expression in the lung on eosinophil trafficking and degranulation and the induction of bronchial hyperreactivity. *J Immunol* 164: 2142-2150.
- Nelson LO (2008). Pulmonary Parenchymal Diseases. In: Morgan RV (Hrsg.), *Handbook of small animal practice (5 Ed.)* Saunders, St. Louis, Missouri, 173-190.
- Pease JE, Williams TJ (2001): Eotaxin and asthma. *Curr Opin Pharmacol* 1: 248-253.
- Peeters D (2009): Canine Eosinophilic Bronchopneumopathy: Immunopathogenesis. *Proceedings of the 2009 ACVIM Forum*.
- Peeters D, Day MJ, Clercx C (2005): Distribution of leucocyte subsets in bronchial mucosa from dogs with eosinophilic bronchopneumopathy. *J Comp Pathol* 133: 128-135.

- Peeters D, McKiernan BC, Weisiger RM, Schaeffer DJ, Clercx C (2000): Quantitative Bacterial Cultures and Cytological Examination of Bronchoalveolar Lavage Specimens in Dogs. *J Vet Intern Med* 14: 534-541.
- Peeters D, Peters IR, Clercx C, Day MJ (2006): Real-time RT-PCR quantification of mRNA encoding cytokines, CC chemokines and CCR3 in bronchial biopsies from dogs with eosinophilic bronchopneumopathy. *Vet Immunol Immunopathol* 110: 65-77.
- Peyron C, Derer M, Day M, Clercx C, Peeters D (2009): Concentration of allergen-specific IgE in serum and bronchoalveolar lavage fluid in dogs with eosinophilic bronchopneumopathy and dogs with chronic bronchitis. *Proceedings of the 19th Annual Congress of the ECVIM-CA*.
- Rajamaki MM, Jarvinen AK, Sorsa T, Maisi P (2002a): Clinical findings, bronchoalveolar lavage fluid cytology and matrix metalloproteinase-2 and -9 in canine pulmonary eosinophilia. *Vet J* 163: 168-181.
- Rajamaki MM, Jarvinen AK, Sorsa T, Maisi P (2002b): Collagenolytic Activity in Bronchoalveolar Lavage Fluid in Canine Pulmonary Eosinophilia. *J Vet Intern Med* 16: 658-664.
- Richter A, Ungemach FR (2014): Pharmaka zur Beeinflussung von Entzündungen. In: Löscher W, Richter A & Potschka H (Hrsg.), *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Enke, Stuttgart, 446- 486.
- Robinson DS, Bentley AM, Hartnell A, Kay AB, Durham SR (1993): Activated memory T helper cells in bronchoalveolar lavage fluid from patients with atopic asthma: relation to asthma symptoms, lung function, and bronchial responsiveness. *Thorax* 48: 26-32.
- Roland NJ, Bhalla RK, Earis J (2004): The local side effects of inhaled corticosteroids: current understanding and review of the literature. *Chest* 126: 213-219.
- Seiler GS (2010): Interpretation der Lungenmuster beim Hund und bei der Katze. <http://www.vin.com/doc/?id=4516424>

Sherding RG (2004): Parasites of the lung. In: L. G. King (Hrsg.), Textbook of Respiratory Diseases in Dogs and Cats. Saunders, Missouri, St.Louis, 548-559.

Wessels F, Salvaggio J, Lopez M (1973): Animal models of hypersensitivity pneumonitis. J Am Anim Hosp Assoc 9: 588-597.

III. PUBLIKATION

eingereicht am: 01.11.2022

akzeptiert am: 16.01.2023

Tierärztliche Praxis Ausgabe K Kleintiere Heimtiere

© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart

Abdruckgenehmigung erteilt, Onlineversion jedoch für 12 Monate nicht im Volltext

Factors influencing the response to therapy in dogs with eosinophilic bronchopneumopathy

Faktoren, die ein Ansprechen auf Therapie bei Hunden mit eosinophiler Bronchopneumopathie beeinflussen

Autoren: Vanessa De Simoi¹; Bianca Désirée Ballhausen²; Anna-Lena Proksch³; Ralf Müller¹; Yury Zablotski¹; Bianka Schulz¹

Institutsangaben:

¹Medizinische Kleintierklinik München, Ludwig Maximilians Universität München, München.

²AniCura Tierklinik Haar, Haar.

³Klinik für Kleintiere – Innere Medizin, Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen.

Keywords: EBP, cough, eosinophilic lung disease, therapy success

Schlüsselwörter: EBP, Husten, eosinophile Lungenerkrankung, Therapieerfolg

Abstract:

Objectives: Canine eosinophilic bronchopneumopathy (EBP) is a poorly understood disease characterised by chronic inflammation of the lower airways. To date, factors affecting the course of the disease are largely unknown. The objective of this study was to investigate the influence of clinical, laboratory, and environmental factors on therapeutic outcome in dogs with EBP.

Material and methods: Environmental and housing conditions, course of disease, and response to treatment were evaluated using a standardised questionnaire for owners of 29 dogs diagnosed with EBP from three different veterinary referral centres in Germany. Data of diagnostic tests (haematology, radiographs, bronchoalveolar-lavage-fluid-(BALF) cytology) were retrospectively obtained from medical records. The influence of the different factors was assessed using Fisher's-exact-test and Mann-Whitney-U- or Kruskal-Wallis-test.

Results: The proportion of neutrophilic granulocytes in BALF-cytology was significantly higher in dogs with persistent clinical signs compared to dogs that achieved clinical remission ($p = 0.029$). Duration of clinical signs before treatment was significantly longer in dogs with persistent clinical signs (16 ± 12 months) compared to dogs that achieved clinical remission (6 ± 7 months) ($p = 0.017$).

Conclusion: Early diagnosis and therapy have a decisive influence on the success of treatment.

Clinical relevance: Dogs with respiratory signs suspicious for EBP should be evaluated in a timely manner to increase the likelihood of clinical remission with an early start of therapy.

Zusammenfassung:

Gegenstand und Ziel: Die eosinophile Bronchopneumopathie des Hundes (EBP) ist eine wenig erforschte Krankheit, die durch eine chronische Entzündung der unteren Atemwege charakterisiert ist. Bislang sind Faktoren, die den Verlauf beeinflussen, weitgehend unbekannt. Ziel der Studie war es, den Einfluss von klinischen, labordiagnostischen und Umweltfaktoren auf den Therapieerfolg bei Hunden mit EBP zu untersuchen.

Material und Methoden: Daten zu Umwelt- und Haltungsbedingungen, Krankheitsverlauf und Ansprechen auf Behandlung wurden anhand eines standardisierten Fragebogens für Besitzer von 29 Hunden mit diagnostizierter EBP in drei verschiedenen tierärztlichen Referenzzentren in Deutschland erhoben und ausgewertet. Die Befunde der diagnostischen Tests (Hämatologie, Röntgenbilder, Bronchoalveolarlavage-Flüssigkeit (BALF)-Zytologie) wurden retrospektiv aus den Krankenakten entnommen. Der Einfluss der verschiedenen Faktoren auf das Ansprechen auf Therapie wurde mit Hilfe des exakten Tests nach Fisher und des Mann-Whitney-U- bzw. Kruskal-Wallis-Tests untersucht.

Ergebnisse: Der Anteil der neutrophilen Granulozyten in der BALF-Zytologie war bei Hunden mit persistierenden klinischen Symptomen signifikant höher als bei Hunden, die eine klinische Remission erreichten ($p = 0,029$). Die Dauer der klinischen Symptome vor Behandlung war bei Hunden mit persistierenden klinischen Symptomen signifikant länger (16 ± 12 Monate) als bei Hunden, die eine klinische Remission erreichten (6 ± 7 Monate) ($p = 0,017$).

Schlussfolgerung: Eine frühzeitige Diagnosestellung und Therapie hat entscheidenden Einfluss auf den Therapieerfolg.

Klinische Relevanz: Hunde mit Atemwegssymptomen, die verdächtig für EBP sind, sollten zeitnah abgeklärt werden, um die Wahrscheinlichkeit einer klinischen Remission durch einen frühen Therapiebeginn zu erhöhen.

Introduction:

Eosinophilic bronchopneumopathy (EBP) in dogs represents a chronic inflammatory disease that especially affects young adult animals and is characterised by eosinophilic infiltration of the lower airways and pulmonary interstitium (1, 2). Predisposed breeds include the Siberian husky, Alaskan malamute, and the Rottweiler (1, 3). The aetiology of EBP has not yet been determined, but hypersensitivity reactions as a response to environmental allergens have been discussed (2). Currently, therapy in most cases consists of treatment with glucocorticoids administered locally or systemically or both (1, 4).

For most dogs, studies evaluating treatment for EBP reported a good initial response to glucocorticoids. In one study, clinical signs improved in 20/22 dogs. Of those, five dogs experienced complete clinical remission while the remaining 15 dogs improved significantly (1). In another study, all 12 included dogs showed initial improvement of clinical signs accompanied by a marked reduction in blood eosinophilia. Additionally, improvement or normalisation of bronchoscopic changes, reduction of the proportion of eosinophils in the bronchoalveolar-lavage-fluid (BALF) cytology, and normalisation of the CD4+/CD8+ lymphocyte ratios were observed in most patients (2). However, when glucocorticoids are discontinued or administered for a short time only, clinical signs recur frequently (1, 5). The literature on elimination diets and allergen immunotherapy (AIT) in dogs with EBP is poor. In one study, 4 of 12 dogs showed positive intradermal reactions, of which two were hyposensitised but still required a low dose of glucocorticoids to remain clinically asymptomatic (2).

So far, only few studies have evaluated the long-term follow-up in affected dogs. A recently published study found no correlation between acute (< 1 month) or chronic (> 1 month) disease, laboratory parameters, radiographic abnormalities and response to therapy (6). Regarding long-term therapeutic outcome, there was no correlation between the duration of clinical signs and the maintenance dose of glucocorticoids (1). In another study, dogs were treated with inhaled fluticasone propionate for more than six months. Only 2/8 dogs showed complete remission, while the remaining six dogs continued to show mild to moderate clinical signs. In addition to the efficacy, adverse effects of long-term treatment were also investigated, and ACTH stimulation tests were performed in six dogs, which showed suppression of the pituitary-adrenal axis in two patients and clinical signs

of iatrogenic hyperadrenocorticism in one of them (4). However, studies evaluating the influence of environmental and husbandry conditions have not been published so far. Thus, the aim of this study was to investigate whether results of clinical, laboratory testing and environmental factors have an influence on the therapeutic outcome in dogs with EBP.

Materials and Methods:

The study retrospectively evaluated medical data of dogs with EBP included from three veterinary referral centres. However no common protocol was applied for diagnosing or treating the dogs with EBP. In addition, a prospective survey was performed among owners of affected dogs. Dogs with EBP diagnosed between 2014 and 2019 were included in the study. Inclusion criteria were the presence of respiratory signs consistent with EBP (e.g. chronic cough, exercise intolerance, and dyspnoea), detection of eosinophilic airway inflammation (defined as $> 14\%$ eosinophils on BALF cytology or as a marked eosinophilic inflammation, if no cell count was performed), and exclusion of other causes of eosinophilic airway inflammation. Lung worm infection was addressed by *Angiostrongylus vasorum* serum-antigen-testing, Baermann-Wetzel fecal exam, and/or diagnostic deworming. Semi-quantitative bacterial cultures of BALF were performed in all cases.

Owners of eligible dogs were contacted no earlier than six months after the diagnosis of EBP and filled out a standardised questionnaire assessing environmental and housing conditions (for example rural or urban living, indoor or outdoor housing, exposure to smoke and dust in the environment). The questionnaire also asked about clinical signs as well as response to therapy and possible adverse effects of the treatments administered. The dogs were divided into two groups according to their response to therapy: dogs with complete clinical remission (CR), defined as no clinical signs observed by owner for at least 3 months and dogs with persistent clinical signs (PS). For dogs with PS, owners were asked to estimate the clinical improvement as a percentage.

For each patient, the following data were obtained from medical records: signalment, clinical examination, thoracic imaging, bronchoscopic and laboratory findings. Thoracic imaging included thoracic radiographs or computed tomography (CT), images were assessed by the attending veterinarian. BALF or a direct smear

of bronchial secretion obtained from the tip of the bronchoscope were evaluated cytologically. Differentiation of cells was performed by microscopic review of 100 cells of the BALF samples, or an estimate of the proportion of cells was made after evaluating five slides. Depending on either percentage or estimated proportion of granulocytes, samples were subdivided into three categories: mild (15-34 %), moderate (35-74 %), or marked (> 75 %) amount of eosinophilic or neutrophilic granulocytes.

Statistics

Statistical evaluation was performed using R version 3.6.3.(7). Statistical tests included the Fisher`s exact test to compare the categorised variables of the questionnaire with achievement of remission. The normality of the numeric data was assessed via Shapiro-Wilk-test. Data was not normally distributed, so non-parametric tests including Mann-Whitney-U- and Kruskal-Wallis-test with Dunn pairwise post-hoc tests were used to compare the metric data for their influence on improvement of clinical signs. The level of significance for all tests was $p \leq 0.05$.

Results:

Study Population

Twenty-nine dogs were included in the study, 45 % (13/29) were males (10/13 neutered) and 55 % (16/29) females (12/16 neutered). One dog was excluded because lungworm larvae were detected in the faeces. Affected breeds in this study were crossbreeds (10), old German shepherd dogs (Altdeutsche Schäferhunde) (2) and one each of the following breeds: flat coated retriever, Labrador retriever, dachshund, miniature spitz, Italian greyhound, Belgian shepherd, German shepherd, Maltese dog, Rhodesian ridgeback, German wirehaired pointer, beagle, Jack Russel terrier, miniature poodle, German hunting terrier, Staffordshire bull terrier, Hanover hound, and Siberian husky. Median age at the time of diagnosis was 4 years (1-16 years).

Clinical findings

The most common clinical sign was a cough in 89.6 % (26/29) of dogs. Other clinical signs comprised exercise intolerance (55.2 %, 16/29), dyspnoea (37.9 %, 11/29), nasal discharge (13.8 %, 4/29), sneezing (17.2 %, 5/29), and reverse sneezing (6.9 %, 2/29). In addition to respiratory signs, 37.9 % (11/29) showed

vomiting and gagging, 3.4 % (1/29) diarrhoea, and 10.3 % (3/29) had skin diseases. On physical examination, abnormal lung sounds were reported in 34.5 % (10/29) of dogs, and 10.3 % (3/29) showed increased respiratory effort.

Response to treatment

After diagnosis, systemic glucocorticoid therapy was provided to 24/29 (82 %) dogs, whilst 4/29 (14 %) dogs were solely treated with inhaled glucocorticoids. A combination therapy of inhaled and systemic glucocorticoids was provided to 21/24 (88 %) dogs. Among them 16/24 (67 %) dogs were eventually managed only with inhaled glucocorticoids for maintenance therapy. In 4/24 (17 %) dogs receiving both inhaled and systemic glucocorticoids, clinical signs improved after additional inhalation therapy. One dog received no glucocorticoids but elimination diet only. CR was achieved in 10/29 dogs (34 %) compared to 19/29 dogs (66 %) with PS. In 90 % (9/10) of the dogs with CR, therapy could be discontinued permanently after a median duration of nine months (mean 1 year \pm 10.8 months). The remaining dog in CR (1/10) went into remission only with an elimination diet and never received any glucocorticoid therapy. This dog previously showed skin problems and diarrhoea in addition to respiratory problems. Elimination diet was added in 6/29 dogs (21 %), of which 3/6 (50 %) achieved CR and thus additional treatment could be discontinued. Four of these dogs got the diet due to suspected food intolerance due to skin problems and diarrhoea. In two of these dogs, initial systemic glucocorticoid administration for three weeks was followed by a one-year course of inhalation therapy before elimination diet was performed, while in the third dog elimination diet was begun after six months of therapy with inhaled glucocorticoids. In 2/29 (7 %) dogs, complete response was achieved with AIT after intradermal testing and in both dogs all additional therapy could be discontinued. In one of these dogs, AIT was started after a four-week treatment with systemic glucocorticoids, in the other dog AIT was started after one year of therapy with glucocorticoids. In 8/19 dogs (42 %) with PS, clinical signs initially completely disappeared with glucocorticoids, but recurred when the dosage of the drug was decreased. In 7/19 dogs (37 %) with PS, 80 % improvement compared to pretreatment signs was reported, one dog (4 %) showed 60 % improvement, and 3/19 (16 %) improved 50 % or less, whereas 1 patient (4 %) showed no clinical improvement. The dosages of oral or inhaled glucocorticoids varied significantly between patients and were modified in most dogs during the course of treatment. Therefore, exact dosages

could not be given for the patient population.

Mean duration of clinical signs at the time of diagnosis was 11.4 months (0-30 months). With respect to CR, the duration from the onset of clinical symptoms to the time therapy was started had a significant influence on clinical outcome. Dogs with CR had been symptomatic for a mean of 6 ± 7 months compared to a mean of 16 ± 12 months in dogs with PS ($p = 0.017$) (Fig 1). A seasonal influence on clinical signs was observed by 14/29 of owners (48 %).

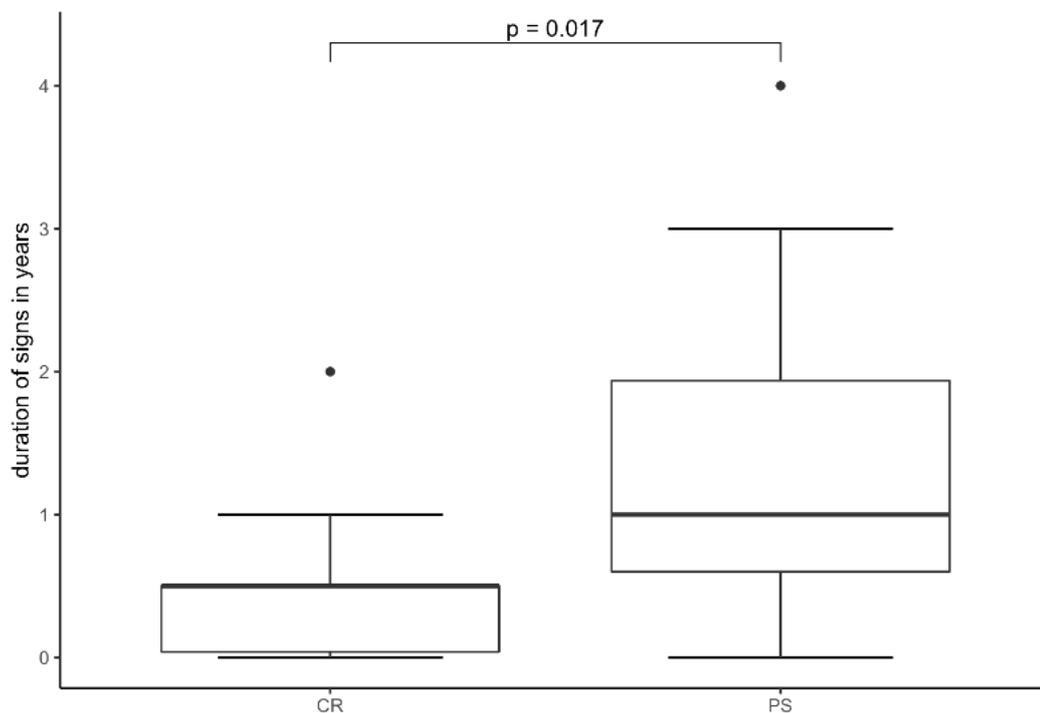


Figure 1:

Box plot graph comparing the duration of clinical signs until start of therapy in dogs that achieved complete clinical remission (CR) and dogs with persistent clinical signs (PS). Dogs that achieved CR had a significantly shorter duration of signs before starting therapy ($p = 0.017$). Source: © Medizinische Kleintierklinik München.

Abbildung 1:

Boxplot-Diagramm zum Vergleich der Dauer der klinischen Symptome bis zum Beginn der Therapie bei Hunden, die eine vollständige klinische Remission (CR) erreicht haben und Hunden mit persistierenden klinischen Symptomen (PS). Hunde, die eine CR erreichten, hatten eine signifikant kürzere Dauer der Symptomatik vor Therapiebeginn ($p = 0,017$). Quelle: © Medizinische Kleintierklinik München.

Comorbidities

Food intolerance was reported by 24 % (7/29) of the owners and one dog had been diagnosed with atopic dermatitis. The presence of food intolerance was not significantly associated with the therapeutic success ($p = 0.709$). In 24 % of the dogs the following comorbidities were detected: ataxia of unknown aetiology (1/29), ocular disease (2/29), heart disease (1/29), chronic kidney disease (2/29), hypertension (1/29), and hypothyroidism (1/29). The presence of comorbidities was not significantly associated with the response to treatment ($p > 0.99$).

Environmental and housing conditions

Type of food ($p = 0.552$), presence of other animals in the household ($p = 0.630$), exposure to cigarette or chimney smoke ($p = 0.690$), residential location (urban or rural) ($p = 0.370$), dust load ($p = 0.690$), and living conditions (indoor or outdoor) ($p > 0.99$) had no significant effect on treatment success.

Adverse effects

Adverse effects were reported by 15/28 owners (53 %) during the course of treatment. Of these 15 dogs, five (33 %) were treated with oral prednisolone, eight (53 %) received monotherapy with inhaled fluticasone propionate, one (7 %) an injectable long- corticosteroid formulation, and one (7 %) a combination of systemic prednisolone and inhaled fluticasone propionate. Polyuria and polydipsia were the most commonly reported adverse effects in 87 % (13/15) of patients, followed by skin changes in 27 % (4/15), polyphagia in 20 % (3/15), and skin infections in 7 % (1/15).

Haematology

Peripheral eosinophilia ($> 0.6 \times 10^9/l$) was detected in 18/29 dogs (62 %) at the time of diagnosis; and in 15/29 (52 %) a haematocrit above the reference range

(> 0.58 l/l) was diagnosed. Eosinophilia ($p = 0.356$) and increased haematocrit ($p = 0.484$) had no significant influence on the success of the therapy.

Thoracic imaging

Thoracic radiographs were performed in 28/29 dogs whereas in one dog CT of the thorax was performed. In two dogs (7 %), thoracic radiographs were reported as unremarkable. The remaining dogs were diagnosed with a broncho-interstitial (46 %, 13/28) or a bronchial (36 %, 10/28) lung pattern (Fig 2). Interstitial and alveolar lung patterns were documented in two (7 %) and one (4 %) dog, respectively. The character of the lung pattern was not significantly associated with the success of therapy ($p = 0.504$).

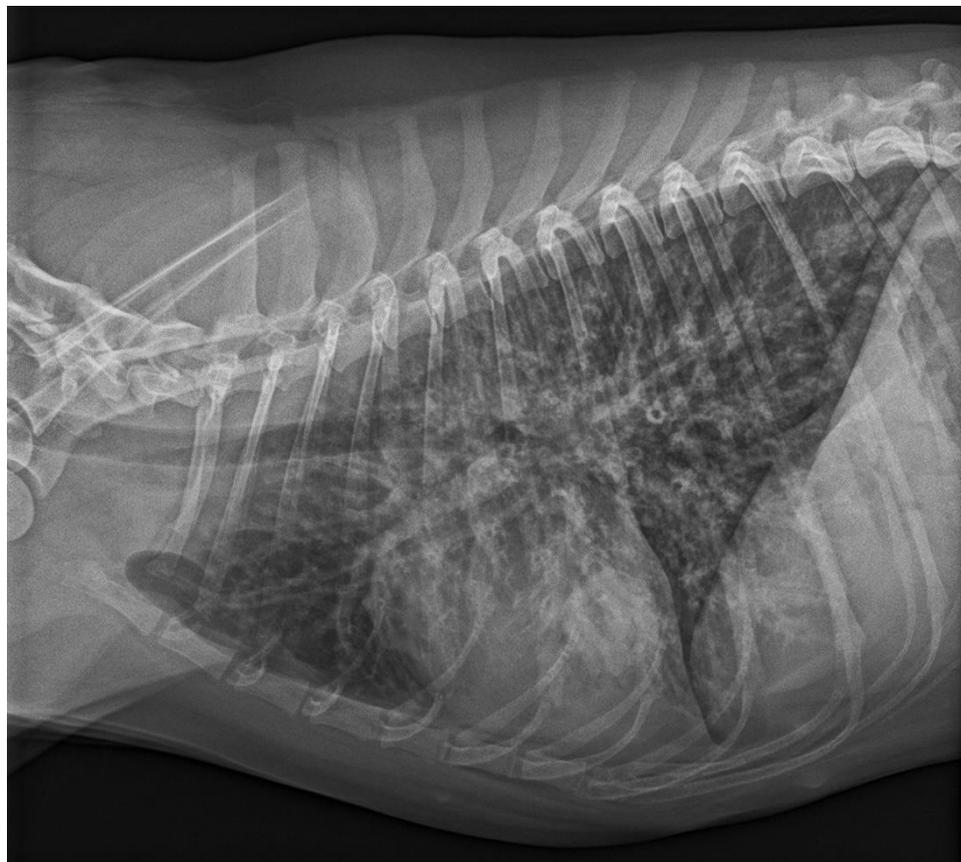


Figure 2:

Chest radiograph, laterolateral, in a dog with eosinophilic bronchopneumopathy with broncho-interstitial lung pattern. Source: © Medizinische Kleintierklinik München.

Abbildung 2:

Thoraxröntgen, laterolateral, bei einem Hund mit eosinophiler Bronchopneumopathie mit bronchointerstitieller Lungenzeichnung. Quelle: © Medizinische Kleintierklinik München.

Bronchoalveolar-lavage-fluid

A differential cell count was performed in 52 % (15/29) of dogs, whereas in 48 % (14/29) of patients the cell count was estimated after evaluating five slides. In dogs with CR, none of the dogs had a mild inflammation, whilst 3/10 (30 %) had a moderate and 7/10 (70 %) a marked eosinophilic inflammation. In dogs with PS no patient had a mild, but 8/19 (42 %) had a moderate and 11/19 (57 %) a marked eosinophilic inflammation of the lower airways. The grade of eosinophilic inflammation was not significantly different between both groups ($p = 0.696$). Eight of ten dogs with CR (80 %) had less than 15 % neutrophils in BALF cytology and 2/10 (20 %) showed a moderate inflammation but no dog had a mild or a marked neutrophilic inflammation. In dogs with PS, 8/19 (42 %) had less than 15 % neutrophils in BALF, 8/19 (42 %) had a mild, one dog (5 %) a moderate, and 2/19 (10 %) a marked neutrophilic inflammation. The grade of neutrophilic inflammation was significantly higher in PS dogs ($p = 0.029$). A significant association between the duration of clinical signs until start of therapy and the number of neutrophils in the BALF could not be detected ($p = 0.059$).

Bacterial cultures of BALF were negative in 90 % (26/29) of dogs. In three (10 %) dogs, bacterial pathogens were cultured in low numbers (+ in semi-quantitative culture): *Pasteurella canis* and *Bordetella bronchiseptica* were detected in one dog. *Pasteurella multocida* and *Pasteurella sp.* were each detected in two other dogs. None of the three dogs achieved CR despite additional antibiotic therapy.

Bronchoscopic examination

Bronchoscopy was performed in 27/29 dogs (93 %). In the remaining 2 dogs, blind bronchoalveolar lavage was obtained. In 22/27 cases (81 %) an increased amount of secretion was detected within the tracheobronchial tree. Hyperaemia of the mucosa was documented in 6/27 dogs (22 %). A generalised irregular mucosal surface was seen in 9/27 dogs (33 %). In 4/27 dogs (15 %), bronchomalacia was documented.

Discussion:

The results of the study indicate an association between the neutrophil granulocyte content in the BALF and the duration of clinical signs and the response to treatment. Dogs with a shorter duration of clinical signs were more likely to respond to treatment and achieve a CR. This is in contrast to a recent study that found no correlation between duration of clinical signs and treatment outcome (6). However, in the cited study, duration of clinical signs was only differentiated in longer or shorter than one month duration. One possible explanation for the duration of clinical signs influencing the success of treatment could be the process of tissue remodeling in response to chronic airway inflammation. Enhanced collagenolysis and proteinolysis may lead to destruction and remodelling of the lower airways and parenchyma (8). Compared to a healthy control group, studies have shown an increase in matrix metalloproteinases (MMPs) in the BALF of EBP-affected dogs (5, 9). The increased activity of MMP-8, MMP-9, and MMP-13 is known to contribute to collagenolytic tissue remodeling (5, 9). In addition, dogs with EBP were shown to have significantly elevated concentrations of procollagen type III amino terminal propeptide (PIIINP) in BALF compared to healthy dogs and dogs with chronic bronchitis (10). PIIINP is cleaved during the synthesis of collagen type III and thus increases in proportion to the amount of collagen formation (11). Increased expression of MMPs has also been described in other species with chronic respiratory diseases in which a chronic remodeling process has been demonstrated, such as in recurrent airway obstruction, asthma and bronchiectasis in humans (12-15). In humans with asthma and bronchiectasis, the MMP expression correlates with the severity of the disease (12, 13, 15).

In a previous study, no correlation between duration of clinical signs and the maintenance dosage of prednisolone in dogs with EBP was detected. In that study, only 13 % of the dogs achieved CR, however, a potential association with duration of clinical signs was not investigated (1). Compared to that study, the response to therapy was much better in the present investigation. Interestingly, in the previous study, time to diagnosis was longer with means of 18 and 11.4 months, respectively, which might explain the less favourable outcome (1).

EBP occurs commonly in young dogs (1, 2). A diagnostic work-up and consequent

treatment are rarely pursued immediately, as clinical disease in many cases initially is associated with the canine infectious respiratory disease complex (CIRDC). However, according to the results of the present study, early diagnostic work-up in young dogs with non-responsive cough and initiation of appropriate therapy in a timely manner seems important to achieve optimal outcome in dogs finally diagnosed with EBP. No breed predisposition was identified in the current study. Of the breeds that have been described as frequently affected, only one husky was included (1, 3). This might be explained by the impression of the authors that this is not a very common breed within the hospital population, however, a statistical comparison of patients with all dog breeds of the hospital population has not been performed.

Another important finding of this investigation was the association between the number of neutrophilic granulocytes in BALF-cytology and therapeutic success. None of the other clinical findings had an influence on the success of therapy, which is in accordance with a recent study investigating the long-term follow-up in dogs with EBP. That study, however, did not investigate the influence of neutrophilic granulocytes on therapeutic outcome (6). In the current study, higher numbers of neutrophils in BALF were associated with a poorer therapeutic outcome. A potential explanation could be the influence of MMPs on the remodeling process in the lower airways. Expression of MMP-8 can be detected in ciliated epithelium, glandular cells, and macrophages, but neutrophils are also involved in the expression of this collagenase (12). An increased proportion of neutrophilic granulocytes in BALF can also be a consequence of inflammatory or infectious airway diseases. Thus, the influence of neutrophilic granulocytes on therapeutic outcome could be an indication of bacterial involvement in the pathogenesis of EBP or a consequence of secondary bacterial infection. In the current study, data on the cytological appearance of neutrophilic granulocytes were not available in most dogs, thus, it was not possible to assess, whether neutrophils were predominantly intact or degranulated. In a study using quantitative PCR for detection of *Bordetella bronchiseptica* and *Mycoplasma species* in BALF of dogs with EBP, high PCR load of *Bordetella bronchiseptica* was associated with an increased proportion of neutrophils in BALF samples and more severe clinical courses (16). It therefore is possible that in the present study EBP dogs with an increased proportion of BALF-neutrophils were also infected with *Bordetella bronchiseptica*, as this was only

evaluated by semi-quantitative bacterial cultures but not PCR, and some dogs had been pre-treated with antibiotics. Previous studies have shown that bacterial cultures for this organism can be false negative in such dogs (17).

In the present study, adverse effects occurred in more than half of the dogs. These were reported not only in patients receiving oral glucocorticoid therapy but also in those treated with inhaled fluticasone propionate alone. It is known that inhibition of the pituitary-adrenal-axis (PAA) can also occur with the use of inhaled fluticasone propionate, even if patients do not show clinical signs of iatrogenic hyperadrenocorticism (4, 18). In the present study, however, no ACTH-stimulation-tests were performed. To reduce adverse effects, it has been recommended that the administration of systemic prednisolone should be minimised or replaced by inhaled fluticasone propionate or beclomethasone dipropionate (18). If patients treated with inhalation of steroids show signs of PAA-inhibition with these inhaled drugs, a switch to inhaled budesonide may be helpful, as this drug has been shown to have less influence on the PAA in healthy beagle dogs (19). In this study, 62 % of the dogs showed blood eosinophilia which is comparable to data from other studies (1, 2). However, neither the proportion of eosinophilic granulocytes in BALF-cytology nor the absolute number of eosinophils in peripheral blood influenced the therapeutic outcome. Peripheral eosinophilia can therefore be regarded as an indicator for the presence of EBP, but it cannot be used as a prognostic factor.

In the present study, two dogs achieved CR following AIT and additional four patients reached corticosteroid-free remission with a hypoallergenic diet. However, both dogs that responded to AIT and three of the dogs that achieved remission with an elimination diet also received glucocorticoid therapy initially. Hence it is possible that glucocorticoid therapy was the main cause for remission, so these findings should be interpreted with caution. However, an allergic aetiology of EBP has been postulated by several authors, although large prospective studies investigating the role of allergens in EBP have not been performed so far (1, 2).

The present study has several limitations. Firstly, the questionnaire on environmental and husbandry conditions was completed by the owners. In some cases, quite some time elapsed between diagnosis and investigation and this could have distorted the memory and therefore influenced the data. Secondly, due to the retrospective and multi-centre study design, a standardised cytological

differentiation of BALF-cells was not available for most patients, instead proportions of inflammatory cells were assigned to categories. Therefore, results of BALF-cytology have to be interpreted with some caution and further studies are warranted to confirm the role of neutrophils as a potential prognostic parameter.

Conclusion for practice:

The study was able to show that duration of clinical signs prior to therapy has a significant effect on the therapeutic outcome. Therefore, dogs with respiratory signs suspicious for EBP should have a diagnostic work-up and treatment without timely delay.

Conflict of interest statement:

Ralf Mueller acted as a consultant, or received support for studies or lectures from Artuvet, Bayer Animal Health, Ceva Animal Health, Ecuphar, Elanco Animal Health, Greer Laboratories, Heska Laboratories, Hill's, Royal Canin, MSD Animal Health, Nextmune, Synlab, Virbac Animal Health and Zoetis. The other authors declare no conflict of interest.

References:

1. Clercx C, Peeters D, Snaps F et al. Eosinophilic bronchopneumopathy in dogs. *J Vet Intern Med* 2000; 14: 282-291
2. Clercx C, Peeters D, German AJ et al. An immunologic investigation of canine eosinophilic bronchopneumopathy. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 229-237
3. Cohn LA. Pulmonary Parenchymal Disease. In: Ettinger SJ, Feldmann EC, Hrsg. *Textbook of veterinary internal medicine*. St. Louis, Missouri: Saunders; 2010: 1096- 1119
4. Canonne AM, Bolen G, Peeters D et al. Long-term follow-up in dogs with idiopathic eosinophilic bronchopneumopathy treated with inhaled steroid therapy. *J Small Anim Pract* 2016; 57: 537-542
5. Rajamaki MM, Jarvinen AK, Sorsa T et al. Clinical findings,

bronchoalveolar lavage fluid cytology and matrix metalloproteinase-2 and -9 in canine pulmonary eosinophilia. *Vet J* 2002; 163: 168-181

6. Casamian-Sorrosal D, Silvestrini P, Blake R et al. Clinical features and long-term follow-up of 70 cases of canine idiopathic eosinophilic lung disease. *Vet Rec* 2020; 187: e65-e65. doi:10.1136/vr.105193

7. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. In: R Foundation for Statistical Computing; 2020

8. Peeters D. Canine Eosinophilic Bronchopneumopathy: Immunopathogenesis. In, *Proceedings of the 2009 ACVIM Forum*; 2009

9. Rajamaki MM, Jarvinen AK, Sorsa T et al. Collagenolytic Activity in Bronchoalveolar Lavage Fluid in Canine Pulmonary Eosinophilia. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 658-664

10. Heikkilä HP, Krafft E, Jespers P et al. Procollagen type III amino terminal propeptide concentrations in dogs with idiopathic pulmonary fibrosis compared with chronic bronchitis and eosinophilic bronchopneumopathy. *Vet J* 2013; 196: 52-56

11. Fessler JH, Fessler LI. Biosynthesis of Procollagen. *Annual Review of Biochemistry* 1978; 47: 129-162

12. Prikk K, Pirilä E, Sepper R et al. In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocytes/macrophages in bronchiectasis. *J Pathol* 2001; 194: 232-238

13. Prikk K, Maisi P, Pirilä E et al. Airway obstruction correlates with collagenase-2 (MMP-8) expression and activation in bronchial asthma. *Lab Invest* 2002; 82: 1535-1545

14. Raulo SM, Sorsa TA, Kiili MT et al. Evaluation of collagenase activity, matrix metalloproteinase-8, and matrix metalloproteinase-13 in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res* 2001; 62: 1142-1148

15. Sepper R, Kontinen YT, Ding Y et al. Human neutrophil collagenase (MMP-8), identified in bronchiectasis BAL fluid, correlates with severity of disease. *Chest* 1995; 107: 1641-1647

-
16. Canonne A, Peters I, Roels E et al. Detection of specific bacterial agents by quantitative PCR assays in the bronchoalveolar lavage fluid of dogs with eosinophilic bronchopneumopathy vs. dogs with chronic bronchitis and healthy dogs. *Vet J* 2018; 232: 52-56

 17. Canonne A, Billen F, Tual C et al. Quantitative PCR and cytology of bronchoalveolar lavage fluid in dogs with *Bordetella bronchiseptica* infection. *J Vet Intern Med* 2016; 30: 1204-1209

 18. Bexfield NH, Foale RD, Davison LJ et al. Management of 13 cases of canine respiratory disease using inhaled corticosteroids. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 377-382

 19. Melamies M, Vainio O, Spillmann T et al. Endocrine effects of inhaled budesonide compared with inhaled fluticasone propionate and oral prednisolone in healthy Beagle dogs. *Vet J* 2012; 194: 349-353

IV. DISKUSSION

Die Ergebnisse der Studie weisen darauf hin, dass es bei der kaninen Eosinophilen Bronchopneumopathie (EBP) sowohl einen Zusammenhang zwischen dem Gehalt an neutrophilen Granulozyten in der bronchoalveolaren Lavageflüssigkeit (BALF) als auch der Dauer der klinischen Symptomatik auf das Ansprechen auf die Therapie gibt. Bei Hunden mit einer kürzeren Dauer der klinischen Symptomatik war die Wahrscheinlichkeit größer, dass sie gut auf die Behandlung ansprachen und eine vollständige klinische Remission erreichten. Dies steht jedoch Erkenntnissen aus einer anderen Studie entgegen, in der bei 70 Hunden mit EBP kein Zusammenhang zwischen der Dauer der Symptomatik und dem Behandlungsergebnis festgestellt wurde (CASAMIAN-SORROSAL et al., 2020). In dieser Studie erfolgte jedoch nur eine Einteilung der Symptombdauer in mehr oder weniger als einen Monat und es erfolgte keine genauere zeitliche Differenzierung.

Eine mögliche Erklärung dafür, dass die Dauer der klinischen Symptomatik den Behandlungserfolg beeinflusst, könnten Umbauprozesse als Reaktion auf die chronische Entzündung der unteren Atemwege sein. So können eine verstärkte Kollagenolyse und Proteinolyse zur Zerstörung und zum Umbau der unteren Atemwege und des Lungenparenchyms führen (PEETERS, 2009). Studien haben gezeigt, dass es bei an EBP erkrankten Hunden, im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe, einen Anstieg der Matrix-Metalloproteinasen (MMP) in der BALF gibt (RAJAMAKI et al., 2002a, 2002b). Die erhöhte Aktivität von MMP-8, MMP-9 und MMP-13 trägt zum kollagenolytischen Gewebeumbau bei (RAJAMAKI et al., 2002a, 2002b). Darüber hinaus wurde bei Hunden mit EBP im Vergleich zu gesunden Hunden und Hunden mit chronischer Bronchitis eine signifikant erhöhte Konzentration des aminoterminalen Prokollagen-Typ-III-Propeptids (PIIINP) in der BALF nachgewiesen (HEIKKILÄ et al., 2013). PIIINP wird während der Synthese von Kollagen Typ III gespalten und steigt daher proportional zur Menge der Kollagenbildung an (FESSLER & FESSLER, 1978). Auch bei anderen Spezies wurde eine erhöhte Expression von MMPs bei chronischen Atemwegserkrankungen beschrieben, in deren Verlauf chronische Umbauprozesse nachgewiesen wurden, wie z. B. bei rezidivierender Atemwegsobstruktion, Asthma und Bronchiektasien beim Menschen (SEPPER et al., 1995; PRIKK et al., 2001; RAULO et al., 2001; PRIKK et al., 2002). Bei Menschen mit Asthma und

Bronchiectasien korreliert die MMP-Expression mit dem Schweregrad der Erkrankung (SEPPER et al., 1995; PRIKK et al., 2001; PRIKK et al., 2002).

Ein Zusammenhang zwischen der Dauer der klinischen Symptomatik und der Erhaltungsdosis von Prednisolon konnte in einer früheren Studie nicht nachgewiesen werden. In dieser Studie erreichten auch nur 13 % der Hunde eine klinische Remission, jedoch wurde der Zusammenhang zwischen der klinischen Remission und der Dauer der Symptomatik nicht untersucht (CLERCX et al., 2000). Im Vergleich zu dieser Studie war das Ansprechen auf die Therapie in der vorliegenden Studie, bei der 34 % der Hunde eine vollständige klinische Remission erreichten, besser. Die durchschnittliche Zeit vom Auftreten der klinischen Symptome bis zum Therapiebeginn war in der vorliegenden Studie mit 11,4 Monaten im Vergleich zu der Studie von CLERCX et al. (2000) mit 18 Monaten kürzer, was das bessere Ansprechen auf die Therapie erklären könnte.

EBP tritt besonders häufig bei jungen adulten Hunden in einem Alter von 4 - 5 Jahren auf (CLERCX et al., 2000; CLERCX et al., 2002; CASAMIAN-SORROSAL et al., 2020). In der vorliegenden Studie lag das mediane Alter mit 4 Jahren ähnlich wie in den vorangegangenen Studien. Insbesondere bei jungen Hunden erfolgt meist nicht sofort eine weitere diagnostische Abklärung, da die klinische Symptomatik häufig mit dem kaninen infektiösen Atemwegserkrankungskomplex (CIRDC) in Verbindung gebracht wird. Bei Hunden mit CIRDC klingen die Symptome jedoch meist schnell ab und es erfolgt in der Regel innerhalb der ersten 7 Tage eine deutliche Besserung. Sollte dies nicht der Fall sein, sollte in jedem Fall eine weitere Diagnostik erfolgen (LAPPIN et al., 2017). Dabei sollte die EBP als mögliche Differentialdiagnose betrachtet werden und gegebenenfalls eine Bronchoskopie mit bronchoalveolärer Lavage (BAL) erfolgen, da aufgrund der hier durchgeführten Studie eine zeitnahe Diagnose und Therapiebeginn entscheidenden Einfluss auf den Therapieerfolg haben.

Eine Rasseprädisposition konnte in der aktuellen Studie nicht nachgewiesen werden. Von den als prädisponiert geltenden Rassen Siberian Husky, Alaskan Malamute und Rottweiler war lediglich ein Husky in der Studienpopulation vertreten (CLERCX et al., 2000; COHN, 2010). Subjektiv könnte das darauf zurückzuführen sein, dass diese Rassen generell nicht sehr häufig in den Klinikpopulationen vertreten sind. Allerdings wurde kein statistischer Vergleich der Patienten mit allen Hunderassen der Klinikpopulationen durchgeführt.

Neben der Dauer bis zum Therapiebeginn hatte in der vorliegenden Studie auch der Gehalt der neutrophilen Granulozyten in der BALF-Zytologie einen Einfluss auf den Therapieerfolg. Eine höhere Anzahl der neutrophilen Granulozyten in der BALF-Zytologie war in dieser Studie mit einem schlechteren Therapieerfolg assoziiert. Eine mögliche Erklärung dafür könnten MMPs sein, die, wie bereits erwähnt, zum Umbauprozess in den unteren Atemwegen beitragen (RAJAMAKI et al., 2002a, 2002b). Die Expression von MMP-8 kann sowohl in Flimmerepithel und Drüsenzellen als auch in Makrophagen nachgewiesen werden, aber auch Neutrophile sind an der Expression dieser Kollagenase beteiligt (PRIKK et al., 2001). Bei Hunden mit EBP korreliert der MMP-9 Spiegel in der BALF mit der Anzahl der neutrophilen Granulozyten der BALF (RAJAMAKI et al., 2002a). Bei Kindern mit Asthma konnte ein Zusammenhang zwischen der Höhe der neutrophilen Granulozyten in der BALF und der Schwere der Erkrankung nachgewiesen werden (MARGUET et al., 1999; BARBATO et al., 2001). Allerdings konnte in einer Studie, die die Kollagenaseaktivität in der BALF von Hunden mit EBP untersuchte, kein Zusammenhang zwischen dem abgebauten Kollagen I und dem Gehalt an neutrophilen Granulozyten in der BALF nachgewiesen werden (RAJAMAKI et al., 2002b). Der erhöhte Anteil der neutrophilen Granulozyten in der BALF könnte auch auf eine entzündliche oder infektiöse Atemwegserkrankung zurückzuführen sein. Der Einfluss der neutrophilen Granulozyten in der BALF auf den Therapieerfolg könnte eine Folge einer bakteriellen Sekundärinfektion sein oder auch als Hinweis einer bakteriellen Beteiligung bei der Pathogenese der EBP interpretiert werden. In der aktuellen Studie lagen bei den meisten Hunden keine Daten über das zytologische Erscheinungsbild der neutrophilen Granulozyten vor, so dass nicht beurteilt werden konnte, ob die Neutrophilen überwiegend intakt oder degranuliert vorlagen. In der vorliegenden Studie wurde eine semiquantitative bakteriologische Kultur aus der BALF durchgeführt. Jedoch ist bekannt, dass sich nicht alle Bakterien kultivieren lassen und zum Nachweis des vollständigen Mikrobioms molekularbiologische Methoden notwendig wären (AMANN et al., 1995; KASPAR et al., 2016). In einer Studie, in der eine quantitative PCR zum Nachweis von *Bordetella bronchiseptica* (*Bb*) und *Mycoplasma* Spezies in der BALF von Hunden mit EBP eingesetzt wurde, war eine hohe PCR-Belastung mit *Bb* mit einem erhöhten Anteil an Neutrophilen in den BALF-Proben sowie einem schwereren klinischen Verlauf assoziiert (CANONNE et al., 2018). In früheren Studien hat sich gezeigt, dass ein kultureller

Nachweis für *Bb* bei Hunden durch verschiedene Faktoren falsch negativ ausfallen kann (CANONNE et al., 2016a). Es ist daher nicht komplett auszuschließen, dass in der vorliegenden Studie EBP-Hunde mit einem erhöhten Anteil an BALF-Neutrophilen auch mit *Bb* infiziert waren, da nur eine semiquantitative Bakterienkultur, nicht aber eine PCR durchgeführt wurde. Auch waren einige Hunde antibiotisch vorbehandelt, so dass es sein könnte, dass die Bakterienkultur durch den Hemmstoffgehalt falsch negativ war. Interessanterweise ging in einer Studie ein PCR-Nachweis von *Bb* und *Mycoplasma cynos* bei Hunden mit EBP mit einem erhöhten Anteil an neutrophilen Granulozyten einher, aber sowohl *Bb* als auch *Mycoplasma cynos* wurde bei Hunden mit EBP nicht signifikant häufiger nachgewiesen als bei Hunden mit chronischer Bronchitis und einer gesunden Kontrollgruppe (CANONNE et al., 2018). Hohe Nachweismengen von *Bb* in der BALF wurden in dieser Studie aber nur bei Hunden mit EBP nachgewiesen (CANONNE et al., 2018). Eine mögliche Erklärung wäre daher, dass eine Sekundärinfektion von an EBP erkrankten Hunden mit *Bb* zusätzlich die neutrophile Migration ins Lungengewebe auslösen und den Gewebeumbau beschleunigen kann.

Die übrigen in der vorliegenden Studie untersuchten klinischen und labordiagnostischen Befunde hatten keinen Einfluss auf den Therapieerfolg, was mit den Ergebnissen einer kürzlich durchgeführten Studie übereinstimmt, in der das Langzeitansprechen auf die Therapie bei Hunden mit EBP untersucht wurde. In dieser Studie wurde jedoch der Einfluss der neutrophilen Granulozyten in der BALF auf den Therapieerfolg nicht untersucht (CASAMIAN-SORROSAL et al., 2020). In dieser Studie zeigte sich allerdings ein Zusammenhang zwischen den radiologischen Veränderungen und den eosinophilen Granulozyten in der BALF und im peripheren Blut. Hunde, die keine radiologischen Veränderungen des Lungenparenchyms zeigten, hatten einen geringen Anteil eosinophiler Granulozyten in der BALF und keine periphere Eosinophilie. Allerdings konnte kein Zusammenhang zwischen den radiologischen Veränderungen des Lungengewebes und dem Therapieerfolg nachgewiesen werden (CASAMIAN-SORROSAL et al., 2020). Dies entspricht auch den Ergebnissen in der vorliegenden Studie, in der ebenfalls kein Zusammenhang zwischen den radiologischen Veränderungen des Lungengewebes und dem Therapieerfolg gezeigt werden konnte.

In der vorliegenden Studie wurden bei mehr als der Hälfte der Hunde unerwünschte Wirkungen der Glukokortikoidtherapie durch die Besitzer beobachtet. Diese Nebenwirkungen traten nicht nur bei Patienten auf, die eine orale Glukokortikoidtherapie erhielten, sondern auch bei solchen, die nur mit inhalativem Fluticasonpropionat behandelt wurden. Es ist bekannt, dass eine Suppression der Hypophysen-Nebennieren-Achse (HNA) auch bei der Anwendung von inhaliertem Fluticasonpropionat auftreten kann, selbst wenn die Patienten keine klinischen Anzeichen eines iatrogenen Hyperadrenokortizismus zeigen (BEXFIELD et al., 2006; CANONNE et al., 2016b). Ein ACTH- Stimulationstest wurde in dieser Studie jedoch bei keinem der Hunde durchgeführt, sodass Angaben zu Nebenwirkungen rein auf den Beobachtungen der Tierbesitzer beruhen. Um unerwünschte Nebenwirkungen möglichst gering zu halten, wird empfohlen, die Dosierung von systemischem Prednisolon bei entzündlichen Atemwegserkrankungen möglichst zu minimieren oder durch inhalative Glukokortikoide zu ersetzen (BEXFIELD et al., 2006). Wenn Patienten, die nur mit inhalativen Glukokortikoiden behandelt werden, immer noch Anzeichen einer HNA-Suppression zeigen, kann auch ein Wechsel des Inhalationspräparats indiziert sein. Bei gesunden Beagle-Hunden konnte gezeigt werden, dass inhalatives Budesonid einen geringeren Einfluss auf die HNA hatte als inhalatives Fluticasonpropionat (MELAMIES et al., 2012). Die Autoren dieser Studie diskutierten, dass dies wahrscheinlich auf Unterschiede in den pharmakologischen Eigenschaften zurückzuführen ist (MELAMIES et al., 2012). Humanmedizinische Studien zeigen, dass Budesonid sich aufgrund seiner geringeren Lipophilie besser in der Bronchialflüssigkeit auflöst (HÖGGER et al., 1993). Außerdem kann Budesonid, im Gegensatz zu Fluticasonpropionat, Fettsäureester in den Zellen des Respirationstraktes bilden; dies sorgt für ein lokales Depot mit allmählich freiwerdendem aktivem Wirkstoff und damit für eine Verlängerung der Wirkung (TUNEK et al., 1997; NAVE et al., 2007). In der vorliegenden Studie erhielten jedoch alle Hunde, die ein inhalatives Glukokortikoid erhielten, ein Fluticasonpropionat. Von den 82 % der Hunde in dieser Studie, die ein systemisches Glukokortikoid erhielten, konnten immerhin 67 % auf das inhalative Fluticasonpropionat umgestellt werden, bzw. erhielten 14 % bereits initial Fluticasonpropionat. Da die Hunde in dieser Studie zur Vermeidung von unerwünschten Nebenwirkungen sobald wie möglich auf Fluticasonpropionat umgestellt wurden, erklärt dies auch, warum ein Großteil (53 %) der unerwünschten

Wirkungen auf das Fluticasonpropionat zurückzuführen waren. Die bei der Besitzerbefragung detektierten unerwünschten Wirkungen (Polyurie, Polydipsie, Hautveränderungen, Polyphagie) lassen sich durch einen durch das Fluticason induzierten, iatrogenen Hyperadrenokortizismus erklären (CANONNE et al., 2016b).

In der vorliegenden Studie wiesen 62 % der Hunde eine Bluteosinophilie auf, was vereinbar mit Daten aus anderen Studien ist (CLERCX et al., 2000; CLERCX et al., 2002). Weder der Anteil der eosinophilen Granulozyten in der BALF-Zytologie noch die absolute Zahl der Eosinophilen im peripheren Blut hatten in dieser Studie einen Einfluss auf das Therapieansprechen. Die periphere Eosinophilie kann daher als Indikator für das Vorhandensein einer EBP angesehen werden, sie kann jedoch nicht als prognostischer Faktor verwendet werden. Wichtige Differentialdiagnosen bei einer markanten Bluteosinophilie sind neben der EBP auch andere Organsysteme betreffende Erkrankungen, wie eine akute Gastritis oder Enteritis, eine bakterielle oder parasitäre Dermatitis, eine Otitis externa, Neoplasien, Endoparasitosen, Hypoadrenokortizismus sowie Allergien (LILLIEHÖÖK et al., 2000; GUIJA-DE-ARESPACOHAGA et al., 2022). Bei einem erhöhten Anteil eosinophiler Granulozyten in der BALF sollte als wichtige Differentialdiagnose eine Lungen- oder Herzwurminfektion ausgeschlossen werden (CLERCX et al., 2000). In der vorliegenden Studie wurde eine Lungenwurminfektion durch einen *Angiostrongylus vasorum* Serum-Antigen-Test, eine Baermann-Wetzel-Kotuntersuchung und/oder eine diagnostische Entwurmung ausgeschlossen. Der Anteil der eosinophilen Granulozyten in der BALF hatte in dieser Studie ebenfalls keinen Einfluss auf den Therapieerfolg, was mit Erkenntnissen einer anderen Studie übereinstimmt (CASAMIAN-SORROSAL et al., 2020). Das ist insbesondere deswegen erwähnenswert, da, im Gegensatz zu der Anzahl der neutrophilen Granulozyten, die Anzahl der eosinophilen Granulozyten in der BALF mit dem abgebauten Kollagen I in der BALF von Hunden mit EBP korreliert (RAJAMAKI et al., 2002b). Daher würde man erwarten, dass der Anteil der eosinophilen Granulozyten mit dem Therapieerfolg zusammenhängt. Wie genau die eosinophilen Granulozyten am Kollagenaseabbau beteiligt sind, ist noch unklar. Es konnte in Studien in den eosinophilen Granulozyten bei Menschen und bei Hunden keine MMP-1-, MMP-8- und MMP-13-Aktivität nachgewiesen werden, jedoch ein Abbau von Kollagen I und II. Sowohl ein bisher unbekanntes Enzym für den

Kollagenabbau als auch eine indirekte kollagenolytische Aktivität der eosinophilen Granulozyten durch Entzündungsmediatoren werden diskutiert (SHLOPOV & HASTY, 1998; RAJAMAKI et al., 2002b). Es ist bekannt, dass eosinophile Granulozyten unter anderem Interleukin-8 (IL-8) freisetzen (BRAUN et al., 1993). Bei Menschen mit Asthma wurde auch nachgewiesen, dass die Sekretion von IL-8 erhöht ist (YOUSEFI et al., 1995). IL-8 gilt als wichtiger Faktor für die Aktivierung und Chemotaxis von neutrophilen Granulozyten (MUKAIDA et al., 2003). Es wäre also auch denkbar, dass die neutrophilen Granulozyten durch IL-8-Ausschüttung der eosinophilen Granulozyten zur Migration in das Lungengewebe angeregt werden.

In der vorliegenden Studie erreichten zwei Hunde nach Durchführung einer allergenspezifischen Immuntherapie (ASIT) eine vollständige kortikosteroidfreie Remission und weitere vier Patienten gingen mit Umstellung auf eine hypoallergene Diät ebenfalls in vollständige Remission. Allerdings erhielten beide Hunde, die auf die ASIT ansprachen, und drei der Hunde, die mit einer Eliminationsdiät eine Remission erreichten, anfangs ebenfalls eine Glukokortikoidtherapie. Daher ist es möglich, dass die Glukokortikoidtherapie die Hauptursache für die Remission war, so dass diese Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren sind. Von mehreren Autoren wurde jedoch eine allergische Ätiologie der EBP postuliert, obwohl bislang keine großen prospektiven Studien zur Untersuchung der Rolle von Allergenen bei der EBP durchgeführt wurden (CLERCX et al., 2000; CLERCX et al., 2002). Für das Vorliegen einer allergischen Ätiologie spricht das höhere Verhältnis von CD4:CD8-Lymphozyten in der BALF von Hunden mit EBP im Vergleich zu gesunden Hunden, was auf eine CD4⁺-vermittelte Th2-Immunantwort hindeutet (CLERCX et al., 2002; PEETERS et al., 2005; PEETERS, 2009). Diese erhöhten CD4⁺-Lymphozytenkonzentrationen und eine Th2-vermittelte Immunantwort wurden auch bei allergischen Atemwegserkrankungen bei Menschen und Mäusen nachgewiesen (DEL PRETE et al., 1993; ROBINSON et al., 1993; LEE et al., 1997; MOULD et al., 2000; BRIGHTLING et al., 2002). Die Ergebnisse von Allergietests in Form von Intrakutantests (IKT) aus vorherigen Studien sind jedoch nicht so eindeutig. In einer Publikation, in der IKT-Ergebnisse von zwölf Hunden mit EBP aufgeführt wurden, zeigten nur vier von zwölf Hunden positive Reaktionen, während sechs Hunde auf kein Allergen reagierten und die Tests bei zwei Patienten nicht auswertbar waren

(CLERCX et al., 2002). In einer anderen Fallserie zeigte der IKT bei drei Hunden mit EBP durchweg negative Reaktionen (CORCORAN et al., 1991). Die geringe Anzahl von Patienten, eine mögliche Vorbehandlung mit Kortikosteroiden oder Antihistaminika und die fehlende Standardisierung könnten die geringe Anzahl positiver Reaktionen in diesen Studien erklären; außerdem fehlte in beiden Untersuchungen eine Kontrollgruppe.

Die vorliegende Studie hat mehrere Limitationen. Zum einen wurde der Fragebogen zu den Umwelt- und Haltungsbedingungen von den Besitzern ausgefüllt. In einigen Fällen lag zwischen der Diagnosestellung und der Befragung der Besitzer eine längere Zeitspanne, was die Erinnerung verzerrt und somit die Daten beeinflusst haben könnte. Zum anderen lag aufgrund des retrospektiven und multizentrischen Studiendesigns für die meisten Patienten keine standardisierte zytologische Differenzierung der BALF-Zellen vor, stattdessen wurden die Anteile der Entzündungszellen bei einem Großteil der Patienten nach Einschätzung des klinischen Pathologen Kategorien zugeordnet. Daher sind die Ergebnisse der BALF-Zytologie mit einer gewissen Vorsicht zu interpretieren und es sind weitere Studien erforderlich, um die Rolle der neutrophilen Granulozyten als einen potenziellen prognostischen Parameter zu bestätigen.

Die Studie konnte zeigen, dass die Dauer der Symptomatik bis zum Therapiebeginn einen signifikanten Einfluss auf den Therapieerfolg bei Hunden mit EBP hat. Daher sollte, insbesondere bei jungen, adulten Hunden mit passender klinischer Symptomatik wie Husten, Leistungsschwäche und/oder Polypnoe, zeitnah weitere Diagnostik durchgeführt werden. Insbesondere, wenn weitere diagnostische Hinweise wie eine Bluteosinophilie vorliegen, sollte eine bronchoskopische Untersuchung mit BAL zeitnah erfolgen, um einen optimalen Therapieerfolg zu erzielen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die eosinophile Bronchopneumopathie des Hundes (EBP) ist eine chronische Erkrankung der unteren Atemwege, die durch die Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten charakterisiert ist. Auch die Ätiologie ist bisher wenig erforscht. Faktoren, die den Verlauf beeinflussen, sind bislang weitgehend unbekannt. Ziel der Studie war es, den Einfluss von klinischen, labordiagnostischen und Umweltfaktoren auf den Therapieerfolg bei Hunden mit EBP zu untersuchen.

Dazu wurden Daten zu Umwelt- und Haltungsbedingungen, dem Krankheitsverlauf und das Ansprechen auf die Behandlung anhand eines standardisierten Fragebogens für Besitzer von 29 Hunden mit diagnostizierter EBP in drei verschiedenen tierärztlichen Überweisungscentren in Deutschland erhoben und ausgewertet.

Das häufigste klinische Symptom war Husten bei 89,6 % der Hunde, gefolgt von Leistungsschwäche (55,2 %). Dyspnoe und Erbrechen/Würgen lagen bei 37,9 % der Hunde vor. Bei 34 % der Hunde konnte nach einer medianen Dauer von 9 Monaten die medikamentelle Therapie dauerhaft abgesetzt werden, ohne dass Rezidive auftraten. Die übrigen Hunde (66 %) mussten zur Kontrolle der Symptome dauerhaft therapiert werden, bis auf einen Hund zeigten jedoch alle Patienten unter Therapie eine Besserung der Symptomatik.

Es konnte gezeigt werden, dass der Anteil der neutrophilen Granulozyten in der Zytologie der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit (BALF) bei Hunden mit persistierenden klinischen Symptomen signifikant höher war als bei Hunden, die eine klinische Remission erreichten. Ebenso war die Dauer der klinischen Symptomatik vor Behandlungsbeginn bei Hunden mit persistierenden klinischen Symptomen signifikant länger (16 ± 12 Monate) als bei Hunden, die eine klinische Remission erreichten (6 ± 7 Monate).

Eine frühzeitige Diagnosestellung und gezielte Therapiemaßnahmen haben daher entscheidenden Einfluss auf den Therapieerfolg. Hunde mit Atemwegssymptomen, bei denen eine EBP differentialdiagnostisch in Frage kommt, sollten deshalb zeitnah diagnostisch abgeklärt werden, um die Wahrscheinlichkeit einer klinischen Remission durch einen frühen Therapiebeginn zu erhöhen.

VI. SUMMARY

Canine eosinophilic bronchopneumopathy (EBP) is a chronic lower respiratory tract disease characterised by tissue infiltration with eosinophilic granulocytes. To date, the aetiology is still poorly understood. Factors influencing the course of disease are largely unknown so far. The aim of the study was to investigate the influence of clinical, laboratory diagnostic and environmental factors on the therapeutic response in dogs with EBP.

For this purpose, data on environmental and husbandry conditions, the course of the disease and the response to treatment were collected and analysed using a standardised questionnaire for owners of 29 dogs diagnosed with EBP in three different veterinary referral centres in Germany.

The most common clinical sign was cough in 89.6 % of the dogs, followed by exercise intolerance (55.2 %). Dyspnoea and vomiting/gagging were present in 37.9 % of dogs. In 34 % of the patients, after a median duration of 9 months, therapy could be permanently discontinued without recurrence of clinical signs. In the remaining dogs (66 %), therapy could not be discontinued, but all except one dog showed an improvement in clinical signs during therapy.

The percentage of neutrophilic granulocytes in bronchoalveolar-lavage-fluid (BALF)-cytology was found to be significantly higher in dogs with persistent clinical signs than in dogs that achieved clinical remission. Similarly, the duration of clinical signs before start of therapy was significantly longer in dogs with persistent clinical signs (16 ± 12 months) than in dogs that achieved clinical remission (6 ± 7 months).

Early diagnosis and specific therapy therefore have a significant influence on the success of treatment. Dogs with respiratory signs in which EBP is a possible differential diagnosis should therefore undergo a diagnostic work-up in a timely manner in order to increase the probability of clinical remission by early start of therapy.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Amann RI, Ludwig W, Schleifer K-H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 1995; 59: 143-69.

Barbato A, Panizzolo C, Gheno M, Sainati L, Favero E, Faggian D, Giusti F, Pesscolderung L, La Rosa M. Bronchoalveolar lavage in asthmatic children: evidence of neutrophil activation in mild-to-moderate persistent asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 12: 73-7.

Bexfield NH, Foale RD, Davison LJ, Watson PJ, Skelly BJ, Herrtage ME. Management of 13 cases of canine respiratory disease using inhaled corticosteroids. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 377-82.

Braun RK, Franchini M, Erard F, Rihs S, De Vries IJM, Blaser K, Hansel TT, Walker C. Human peripheral blood eosinophils produce and release interleukin-8 on stimulation with calcium ionophore. *Eur J Immunol* 1993; 23: 956-60.

Brightling CE, Symon FA, Birring SS, Bradding P, Pavord ID, Wardlaw AJ. TH2 cytokine expression in bronchoalveolar lavage fluid T lymphocytes and bronchial submucosa is a feature of asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 899-905.

Canonne A, Billen F, Tual C, Ramery E, Roels E, Peters I, Clercx C. Quantitative PCR and cytology of bronchoalveolar lavage fluid in dogs with *Bordetella bronchiseptica* infection. *J Vet Intern Med* 2016a; 30: 1204-9.

Canonne A, Peters I, Roels E, Desquilbet L, Clercx C. Detection of specific bacterial agents by quantitative PCR assays in the bronchoalveolar lavage fluid of dogs with eosinophilic bronchopneumopathy vs. dogs with chronic bronchitis and healthy dogs. *Vet J* 2018; 232: 52-6.

- Canonne AM, Bolen G, Peeters D, Billen F, Clercx C. Long-term follow-up in dogs with idiopathic eosinophilic bronchopneumopathy treated with inhaled steroid therapy. *J Small Anim Pract* 2016b; 57: 537-42.
- Casamian-Sorrosal D, Silvestrini P, Blake R, Kortum A, Watson PJ, Martínez Y, Lopez Alvarez J, Keegan S. Clinical features and long-term follow-up of 70 cases of canine idiopathic eosinophilic lung disease. *Vet Rec* 2020; 187: e65-e.
- Clercx C, Peeters D, Snaps F, Hansen P, McEntee K, Detilleux J, Henroteaux M, Day MJ. Eosinophilic bronchopneumopathy in dogs. *J Vet Intern Med* 2000; 14: 282-91.
- Clercx C, Peeters D, German AJ, Khelil Y, McEntee K, Vanderplasschen A, Schynts F, Hansen P, Detilleux J, Day MJ. An immunologic investigation of canine eosinophilic bronchopneumopathy. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 229-37.
- Cohn LA. Pulmonary Parenchymal Disease. In: *Textbook of veterinary internal medicine*. Ettinger SJ, Feldmann EC, eds. St. Louis, Missouri: Saunders 2010: 1096- 119.
- Corcoran B, Thoday K, Henfrey J, Simpson J, Burnie A, Mooney C. Pulmonary infiltration with eosinophils in 14 dogs. *J Small Anim Pract* 1991; 32: 494-502.
- Del Prete GF, De Carli M, D'Elios MM, Maestrelli P, Ricci M, Fabbri L, Romagnani S. Allergen exposure induces the activation of allergen-specific Th2 cells in the airway mucosa of patients with allergic respiratory disorders. *Eur J Immunol* 1993; 23: 1445-9.
- Fessler JH, Fessler LI. Biosynthesis of Procollagen. *Annu Rev Biochem* 1978; 47: 129-62.

- Guija-de-Arespacochaga A, Kremer L, Künzel F, Schwendenwein I. Peripheral blood eosinophilia in dogs: Prevalence and associated diseases. *Vet Med Sci* 2022; 8: 1458-65.
- Heikkilä HP, Krafft E, Jespers P, McEntee K, Rajamäki MM, Clercx C. Procollagen type III amino terminal propeptide concentrations in dogs with idiopathic pulmonary fibrosis compared with chronic bronchitis and eosinophilic bronchopneumopathy. *Vet J* 2013; 196: 52-6.
- Högger P, Rawert I, Rohdewald P. Dissolution, tissue binding and kinetics of receptor binding of inhaled glucocorticoids. *Eur Respir J* 1993; 6: 584s.
- Johnson LR. Bronchopulmonary Disease. In: Saunders manual of small animal practice, 3 edn. Birchard SJ, Sherding RG, eds. St. Louis, Missouri Elsevier Health Sciences 2005: 1665-83.
- Kaspar U, Kriegeskorte A, Schubert T, Peters G, Rudack C, Pieper DH, Wos-Oxley M, Becker K. The culturome of the human nose habitats reveals individual bacterial fingerprint patterns. *Environ Microbiol* 2016; 18: 2130-42.
- Lappin MR, Blondeau J, Boothe D, Breitschwerdt EB, Guardabassi L, Lloyd DH, Papich MG, Rankin SC, Sykes JE, Turnidge J, Weese JS. Antimicrobial use Guidelines for Treatment of Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *J Vet Intern Med* 2017; 31: 279-94.
- Lee JJ, McGarry MP, Farmer SC, Denzler KL, Larson KA, Carrigan PE, Brenneise IE, Horton MA, Haczku A, Gelfand EW. Interleukin-5 expression in the lung epithelium of transgenic mice leads to pulmonary changes pathognomonic of asthma. *J Exp Med* 1997; 185: 2143-56.

- Lilliehöök I, Gunnarsson L, Zakrisson G, Tvedten H. Diseases associated with pronounced eosinophilia: a study of 105 dogs in Sweden. *J Small Anim Pract* 2000; 41: 248-53.
- Marguet C, Jouen-Boedes F, Dean T, Warner J. Bronchoalveolar cell profiles in children with asthma, infantile wheeze, chronic cough, or cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care* 1999; 159: 1533-40.
- Melamies M, Vainio O, Spillmann T, Junnila J, Rajamäki MM. Endocrine effects of inhaled budesonide compared with inhaled fluticasone propionate and oral prednisolone in healthy Beagle dogs. *Vet J* 2012; 194: 349-53.
- Mould AW, Ramsay AJ, Matthaei KI, Young IG, Rothenberg ME, Foster PS. The effect of IL-5 and eotaxin expression in the lung on eosinophil trafficking and degranulation and the induction of bronchial hyperreactivity. *J Immunol* 2000; 164: 2142-50.
- Mukaida N, Ketlinsky SA, Matsushima K. Interleukin-8 and other CXC chemokines. In: *The cytokine handbook*: Elsevier Inc. 2003: 1049-81.
- Nave R, Fisher R, McCracken N. In vitro metabolism of beclomethasone dipropionate, budesonide, ciclesonide, and fluticasone propionate in human lung precision-cut tissue slices. *Respir Res* 2007; 8: 1-9.
- Peeters D, Day MJ, Clercx C. Distribution of leucocyte subsets in bronchial mucosa from dogs with eosinophilic bronchopneumopathy. *J Comp Pathol* 2005; 133: 128-35.
- Peeters D (2009) Canine Eosinophilic Bronchopneumopathy: Immunopathogenesis. Proceedings of the 2009 ACVIM Forum. Montreal, Canada: 03-06.06.2009.

- Peyron C, Derer M, Day M, Clercx C, Peeters D (2009) Concentration of allergen-specific IgE in serum and bronchoalveolar lavage fluid in dogs with eosinophilic bronchopneumopathy and dogs with chronic bronchitis. Proceedings of the 19th Annual Congress of the ECVIM-CA. Porto, Portugal: 10-12-09.2009.
- Prikk K, Piriälä E, Sepper R, Maisi P, Salo T, Wahlgren J, Sorsa T. In vivo collagenase-2 (MMP-8) expression by human bronchial epithelial cells and monocytes/macrophages in bronchiectasis. *J Pathol* 2001; 194: 232-8.
- Prikk K, Maisi P, Piriälä E, Reintam M-A, Salo T, Sorsa T, Sepper R. Airway obstruction correlates with collagenase-2 (MMP-8) expression and activation in bronchial asthma. *Lab Invest* 2002; 82: 1535-45.
- Rajamäki MM, Jarvinen AK, Sorsa T, Maisi P. Clinical findings, bronchoalveolar lavage fluid cytology and matrix metalloproteinase-2 and -9 in canine pulmonary eosinophilia. *Vet J* 2002a; 163: 168-81.
- Rajamäki MM, Jarvinen AK, Sorsa T, Maisi P. Collagenolytic Activity in Bronchoalveolar Lavage Fluid in Canine Pulmonary Eosinophilia. *J Vet Intern Med* 2002b; 16: 658-64.
- Raulo SM, Sorsa TA, Kiili MT, Maisi PS. Evaluation of collagenase activity, matrix metalloproteinase-8, and matrix metalloproteinase-13 in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res* 2001; 62: 1142-8.
- Robinson DS, Bentley AM, Hartnell A, Kay AB, Durham SR. Activated memory T helper cells in bronchoalveolar lavage fluid from patients with atopic asthma: relation to asthma symptoms, lung function, and bronchial responsiveness. *Thorax* 1993; 48: 26-32.
- Sepper R, Konttinen YT, Ding Y, Takagi M, Sorsa T. Human neutrophil collagenase (MMP-8), identified in bronchiectasis BAL fluid, correlates with severity of disease. *Chest* 1995; 107: 1641-7.

Shlopov BV, Hasty KA. Collagenase expression by normal human eosinophils. *J Leukoc Biol* 1998; 63: 451-5.

Tunek A, Sjödin K, Hallström G. Reversible Formation of Fatty Acid Esters of Budesonide, an Antiasthma Glucocorticoid, in Human Lung and Liver Microsomes. *Drug Metab Dispos* 1997; 25: 1311-7.

Yousefi S, Hemmann S, Weber M, Hölzer C, Hartung K, Blaser K, Simon H-U. IL-8 is expressed by human peripheral blood eosinophils. Evidence for increased secretion in asthma. *J Immunol* 1995; 154: 5481-90.

VIII. ANHANG

Fragebogen für Besitzer von Hunden mit Eosinophiler Bronchopneumopathie

Eosinophile Bronchopneumopathie

Vielen Dank, dass Sie an der Studie zur Eosinophilen Bronchopneumopathie teilnehmen!

Das Ausfüllen des Fragebogens wird ca. 10 Minuten in Anspruch nehmen.

Die Auswertung des Fragebogens erfolgt anonym, Ihre persönlichen Daten werden hierbei nicht gespeichert oder veröffentlicht.

Bitte versuchen Sie den Fragebogen möglichst vollständig auszufüllen. Sollten Sie Probleme mit einer Frage haben, können Sie uns natürlich gerne kontaktieren, wir werden Ihnen gerne weiterhelfen.

Kontakt:

Vanessa De Simoi

Tierärztin

v.de.simoi@medizinische-kleintierklinik.de

Tel. Anmeldung: (089) 2180-2650

Medizinische Kleintierklinik der LMU München

Veterinärstr. 13

80539 München

Allgemeine Angaben zum Tier:

ID- Nummer (von der Klinik auszufüllen): _____

Geburtsjahr: _____

Rasse: _____

Geschlecht:

- weiblich
- männlich

kastriert:

- ja
- nein

Krankheitsgeschichte

1. Wie alt war Ihr Hund zum Zeitpunkt der Diagnose?

2. Wie alt war Ihr Hund beim Auftreten der ersten Symptome?

3. Welche Beschwerden zeigte ihr Hund?

- Husten
- Niesen
- Nasenausfluss
- Atemnot
- Leistungsschwäche
- Hautveränderungen
- Erbrechen/ Würgen
- wiederkehrender Durchfall
- andere _____

4. Treten/traten die Beschwerden zu bestimmten Jahreszeiten/saisonal auf?

- Es gibt keine Saisonalität
- Frühling
- Sommer
- Herbst
- Winter

5. Wurden bei Ihrem Hund schon mal allergische Grundkrankheiten vermutet oder diagnostiziert?

(Futtermittelunverträglichkeit, allergische Hauterkrankung, etc.)

- nein, noch nie
- ja, und zwar _____

6. Hat Ihr Hund noch andere Erkrankungen? (Herzproblematik, Schilddrüsenunterfunktion etc.)

- nein
- ja, und zwar _____

Haltung und Umgebungsfaktoren

7. Womit wurde der Hund bis zum Auftreten der Symptome hauptsächlich gefüttert?

- kommerzielles Trockenfutter
- kommerzielles Nassfutter
- Nass- und Trockenfutter
- selbstgekocht
- BARF
- sonstiges

8. In welcher Umgebung lebte der Hund bis zum Auftreten der Symptome?

- eher ländlich
- eher städtisch

9. Verbrachte Ihr Hund bis zum Auftreten der Symptome die meiste Zeit des Tages in der Wohnung/Haus oder draußen (Zwinger, Hof)?

- vorwiegend drinnen
- vorwiegend draußen
- beides gleich

10. Gab es einen Kamin/Ofen im Haus?

- ja
- nein

11. Wurde im Beisein des Hundes geraucht?

- ja
- nein
- gelegentlich

12. Hatten Sie zum Zeitpunkt der ersten Symptome in Ihrem Haushalt noch weitere Tiere bzw. hatte Ihr Hund regelmäßigen Kontakt zu anderen Tieren?

- nein
- ja und zwar:
 - Hund
 - Katze
 - Kleinsäuger (Kaninchen, Meerschweinchen, Maus etc.)
 - Reptilien
 - Vögel
 - Großtiere (Rind, Pferd, Schwein)
 - andere _____

13. Wie würden Sie die Intensität der Staubbelastung in Ihrer Umgebung beurteilen?

Einschätzung im Bezug auf Baustellen, Feinstaubbelastung, Fabriken, etc.

- keine
- gering
- mäßig
- hoch

Therapie

14. Bekommt oder bekam Ihr Hund ein Kortisonpräparat als Dauertherapie für seine eosinophile Bronchopneumopathie?

- nein
- ja, oral (Tabletten) Präparat: _____
(z.B. Prednisolontabletten)
- ja systemisch (Kortisonspritzen) Präparat: _____
- ja, als Inhalationsspray Präparat: _____
(z.B. Flutide)

15. Welche anderen Medikamente bekommt oder bekam Ihr Hund zur Behandlung der Eosinophilen Bronchopneumopathie und über welchen Zeitraum wurden diese gegeben?

- Antibiotika
Präparat: _____ Zeitraum: -

- Bronchodilatoren (z.B. Terbutalin, Theophyllin, Karsivan oder Salbutamolspray)
Präparat: _____ Zeitraum: _____

- weitere
Präparat: _____ Zeitraum: _____

- Mein Hund bekommt oder bekam keine weiteren Medikamente zur Behandlung der Eosinophilen Bronchopneumopathie

Folgende Fragen bitte nur beantworten, sofern die Therapieform bei Ihrem Hund zutreffend ist.

16. Wie sehr haben sich die Krankheitserscheinungen unter systemischer Kortisontherapie (Injektion oder Tablette, z. B. Prednisolontabletten) verbessert?

- keine Besserung
- 20 %
- 40 %
- 60 %
- 80 %
- keine Beschwerden mehr

17. Wie sehr haben sich die Krankheitserscheinungen unter inhalativer Kortisontherapie (Kortison spray) verbessert? (z.B. Flutide, Budesonid)

- keine Besserung
- 20 %
- 40 %
- 60 %
- 80 %
- keine Beschwerden mehr

18. Wurde zusätzlich zum Kortisonpräparat ein bronchienerweiterndes Medikament als Spray (z.B. Salbutamol) oder in Tablettenform (z.B. Terbutalin, Theophyllin, Karsivan) gegeben?

- Ja
- Nein

18. a) Falls Sie Frage Nr. 18 mit Ja beantwortet haben:

a) welches Präparat? _____

b) brachte das eine weitere Verbesserung der Symptomatik?

- Ja
- Nein

19. Erhielt Ihr Hund eine Allergenspezifische Immuntherapie (Desensibilisierung)?

- Ja
- Nein

19. a) Falls Sie Frage Nr. 19 mit Ja beantwortet haben, wie sehr verbesserte sich die

Symptomatik auf diese Therapie hin?

- keine Besserung
- 20 %
- 40 %
- 60 %
- 80 %
- keine Beschwerden mehr

20. Wurde bei Ihrem Hund schon einmal eine Eliminations-/Ausschlussdiät durchgeführt?

- Ja
- Nein

20. a) Falls Sie Frage Nr. 20 mit Ja beantwortet haben, wie sehr verbesserte sich die

Symptomatik auf diese Therapie hin?

- keine Besserung
- 20 %
- 40 %
- 60 %
- 80 %
- keine Beschwerden mehr

21. Welche Therapie erhält/erhielt Ihr Hund als Dauertherapie der Eosinophilen Bronchopneumopathie?

- Präparate: _____

- Wie lange wird er damit bereits behandelt?

22. Haben Sie jemals Nebenwirkungen (z.B. übermäßiger Durst/Harndrang, schütteres Fell, Infektionen von Haut, Blase, Infektionen im Bereich der Schnauze) durch die Therapie bemerkt?

- Ja
 Nein

22. a) Falls Sie Frage Nr. 22 mit Ja beantwortet haben:

a) mit welcher Therapieform traten die Nebenwirkungen auf?:

b) Welche Nebenwirkungen traten auf?:

23. Bekommt Ihr Hund noch andere Medikamente als die zur Therapie der eosinophilen

Bronchopneumopathie?

z.B. Aufgrund einer zusätzlichen Erkrankung des Herzens oder Schilddrüse etc.

- nein
 ja, und zwar _____

24. Möchten Sie über die Ergebnisse dieser Studie informiert werden?

- Ja, in diesem Fall geben Sie uns bitte eine Emailadresse an:

- nein

Vielen Dank für Ihre Teilnahme!

IX. DANKSAGUNG

Als erstes gilt mein Dank meiner Doktormutter **Dr. Bianka Schulz** für ihre Hilfe und Unterstützung sowie ihre unermüdliche Geduld bei der Erstellung dieser Arbeit.

Bei meinen **Eltern** möchte ich mich für die Unterstützung in allen Lebenslagen, natürlich auch während der Doktorarbeit, bedanken.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei meinem **Freund** für die moralische Unterstützung gerade in den schwierigen letzten Zügen der Doktorarbeit.

Ich danke herzlich den **Kollegen und Freunden aus der Medizinischen Kleintierklinik** für die schöne gemeinsame Zeit.