

**Kronisk gastroenterit hos hund  
med avseende på histopatologisk bild och förekomst av  
*Helicobacter* spp**

**Elin Lindell**

**Handledare: Gunilla Trowald-Wigh  
Institutionen för kirurgi  
och medicin, smådjur.**

**Biträdande handledare: Elisabet Ekman  
Institutionen för biomedicin och  
veterinär folkhälsovetenskap.**





## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<b>SUMMARY</b> .....	<b>1</b>
<b>SAMMANFATTNING</b> .....	<b>2</b>
<b>INLEDNING</b> .....	<b>3</b>
<b>LITTERATURÖVERSIKT</b> .....	<b>3</b>
SYMPTOM OCH DIAGNOSTIK VID GASTRIT.....	3
INFLAMMATORY BOWEL DISEASE (IBD).....	4
<i>HELICOBACTER</i> SPP VID KRONISKA GASTROENTERITER .....	5
<i>Behandling av Helicobacter spp hos hund</i> .....	7
HISTOPATOLOGISK KLASSIFICERING AV GASTRIT HOS HUND .....	8
METODER ATT PÅVISA <i>HELICOBACTER</i> SPP.....	9
<b>SYFTE</b> .....	<b>10</b>
<b>MATERIAL OCH METODER</b> .....	<b>10</b>
DJURMATERIAL .....	10
PROVTAGNING .....	11
ANALYS .....	12
HISTOPATOLOGISK UNDERSÖKNING .....	12
<b>RESULTAT</b> .....	<b>13</b>
<b>DISKUSSION</b> .....	<b>18</b>
<b>LITTERATURFÖRTECKNING</b> .....	<b>22</b>
Bilaga 1.....	25
Bilaga 2.....	28
Bilaga 3.....	32

## SUMMARY

It is well known that dogs often have *Helicobacter* spp in their stomach. The importance of these bacteria in the development of gastrointestinal disease in dogs is still unknown. In humans, *Helicobacter pylori* is a causative agent of chronic gastritis and gastric ulcers. In contrast to humans, dogs seldom harbour naturally acquired *H. pylori*. Instead they are more often colonized by other *Helicobacter* spp, like *Helicobacter bizzozeroni*, *Helicobacter salomonis* and *Helicobacter felis*. Usually different species are present simultaneously, which makes it difficult to know if some species are responsible for the symptoms or if all species are normal inhabitants of the stomach. The widespread occurrence of *Helicobacter* spp in dogs also makes it difficult to find bacteria-free control groups. Despite the uncertainty about the role of *Helicobacter* spp in the pathogenesis of gastritis, there are treatment recommendations in the literature, often combinations of antibiotics and antacids.

This investigation is part of a larger study, with the aim to identify *Helicobacter* spp in stomach, saliva and faeces in healthy dogs and in dogs with signs of gastrointestinal disease. In addition, the histopathological appearance of the stomach was investigated, and correlated to presence of *Helicobacter* spp.

The occurrence of *Helicobacter* spp in the stomach and the histopathological appearance of the mucosa were investigated in 7 family dogs with signs of gastrointestinal disease and in 5 healthy colony dogs without signs of gastrointestinal disease. The presence of *Helicobacter* spp in saliva and faeces was investigated in the two groups and in 17 healthy family dogs without signs of gastrointestinal disease. *Helicobacter*-bacteria were identified with polymerase chain reaction (PCR) and light microscopy of histological sections.

The results show that *Helicobacter* spp are common in saliva, faeces and gastric mucosa in both healthy dogs and in dogs with signs of gastrointestinal disease. In general, the healthy colony dogs showed higher degree of abnormal histopathological findings than did the dogs with signs of gastrointestinal disease. *Helicobacter* spp were found in stomachs from dogs in both groups. This study could not correlate occurrence of *Helicobacter* spp to occurrence of gastrointestinal disease.

## SAMMANFATTNING

Man vet att hundar härbärgerar *Helicobacter* spp i magsäcken. Det är dock inte klarlagt vilken betydelse dessa bakterier har för utveckling av sjukdom i mage och tarm hos hund. Hos människa spelar *Helicobacter pylori* en viktig roll för utveckling av gastrit och ulcus ventriculi. Hundar har, till skillnad från människa, sällan naturlig förekomst av *H. pylori*, istället dominerar andra arter såsom *Helicobacter bizzozeroni*, *Helicobacter salomonis* och *Helicobacter felis*. Ofta ses flera arter samtidigt, vilket gör det svårt att veta om några arter eventuellt ger upphov till symptom eller om alla arter är normalflora. Den utbredda förekomsten av helicobacterbakterier hos hund gör det dessutom komplicerat att hitta bakteriefria kontrollgrupper. Trots ovissheten om vad *Helicobacter* spp betyder för patogenesen vid gastrit, finns behandlingsrekommendationer i form av olika kombinationer av antibiotika och syrareglrande farmaka i litteraturen.

Denna undersökning är en del av en större studie med syfte att kartlägga förekomsten av helicobacterbakterier i magsäck, saliv och feces hos friska hundar samt hos hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom, för att se om grupperna skiljer sig åt. Målsättningen är också att karaktärisera den histopatologiska bilden i magsäcken hos friska hundar och hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom och korrelera den till förekomst av *Helicobacter* spp och helicobacterart.

Förekomsten av helicobacterbakterier i magsäcken och magsäckens histopatologiska bild undersöktes hos 7 familje/sällskapshundar med kroniska kräkningar samt hos 5 undervisningshundar utan symptom på gastrointestinal sjukdom. Helicobacterförekomst i saliv och avföring undersöktes hos hundarna i de båda grupperna samt hos ytterligare 17 friska familje/sällskapshundar. Helicobacterbakterier påvisades med polymerase chain reaction (PCR) och med ljusmikroskopisk undersökning av histologiska snitt från magsäcken.

Resultaten visar att *Helicobacter* spp är vanligt förekommande hos både friska hundar och hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom. De friska undervisningshundarna hade generellt mer höggradiga histopatologiska förändringar i sina magsäcksbiopsier än hundarna med symptom på gastrointestinal sjukdom. *Helicobacter* spp fanns i magsäcken hos hundar från båda grupperna. I den här studien kunde förekomst av *Helicobacter* spp således inte korreleras till sjukdom.

## INLEDNING

Det är känt att hundar i stor utsträckning härbärgerar Gastric Helicobacter-Like Organisms med typisk morfologi för *Helicobacter* spp (GHLO) i magsäcken men man vet ännu inte vilken betydelse dessa bakterier har för utveckling av sjukdom i mage och tarm. I en undersökning fann man att mer än 70 % av alla hundar, både sjuka och friska, har helicobacterbakterier i magsäcken (Neiger och Simpson, 2000). Man vet att det finns flera olika sorters helicobacterbakterier och att hundar ofta är infekterade med flera sorter samtidigt, vilket försvårar bedömningen av bakteriernas patogenicitet. De GHLO som koloniserar hundars magsäck är stora, spiralformade och syratåliga. *Helicobacter* spp är svårödlade men syns ofta vid histopatologisk undersökning av biopsier från hundar med mag- och tarmsjukdomar. Man har i högre utsträckning börjat behandla sådana hundar med antibiotika då man misstänker att bakterierna är orsak till deras symptom. Orsaken till den ökade behandlingsfrekvensen kan bero på att det ofta är svårt att hitta någon orsak till kronisk gastroenterit hos hund, samt upptäckten av betydelsen av infektion med *Helicobacter pylori* hos människa.

Förr trodde man att magsäcken var så gott som steril. Nu vet man att valpens magsäck koloniserar av en blandflora av aerobes och anaerobes kort efter födseln. Redan hos 6-veckors valpar har man hittat GHLO, vilka troligen förs över från tiken (Happonen, 1999). Andra bakterier än de som koloniserar magsäcken förekommer i magsäcken efter att hunden ätit, så kallad "transient flora". Denna flora, som kan bestå av *Proteus* spp, *Streptococcus* spp och *Lactobacillus* spp, regleras troligen av magsäckens syrasekretion och tömning (Simpson, 2005c). En pH-höjning genom hyposekretion av magsyra och/eller medicinsk inhibering av magsäckens syrautsöndring, skulle kunna leda till att bakterierna kan proliferera. De GHLO som påträffats hos hund är i likhet med *H. pylori* ureasproducerande. Urea, som finns i magsaften, bryts av ureas ned till ammoniak och bikarbonatjoner, och denna buffrande effekt kan göra det möjligt för *Helicobacter* spp att överleva i sura miljöer. Fynd av spiralformade organismer i tarm finns rapporterade från Sverige i samband med diarré hos perserkatter (Feinstein och Olsson, 1992). Det finns även studier där *Helicobacter* spp påvisats i tarm hos beaglar (Lee *et al.*, 1992).

## LITTERATURÖVERSIKT

### Symptom och diagnostik vid gastrit

Det är viktigt att ha i åtanke att kräkningar kan ha sitt ursprung i en mängd olika sjukdomar. För att utesluta sjukliga förändringar utanför mag-tarmkanalen som orsak till symptomen är det därför av stor betydelse att ha ett systematiskt tillvägagångssätt när man hanterar hundar med kräkningar (Simpson, 2005a).

Akut gastrit karaktäriseras kliniskt av plötsligt insättande kräkningar (Simpson, 2005b). Diagnostiken består av utförlig anamnesupptagning och noggrann klinisk undersökning, vilket för det mesta är tillräckligt då akuta kräkningar ofta upphör spontant. Om djuret har nedsatt allmäntillstånd eller om den kliniska undersökningen

ger fynd som avslöjar allvarligare problem (exempelvis buksmärta eller ikterus) bör ytterligare undersökningar såsom röntgen av buken samt hematologiska och kliniskt kemiska blodanalyser utföras. Beroende på djurets kliniska symptom utförs även andra relevanta undersökningar. Den vanligaste orsaken till akuta kräkningar är att djuret har ätit något olämpligt, andra orsaker kan vara tarmobstruktion av främmande kropp eller tarminvagination, och infektiösa sjukdomar. (Simpson, 2005a)

Olika författare definierar kronisk gastrit och kroniska kräkningar olika. Exempelvis betecknar Twedt (2000) kräkningar som pågått mer än 5-7 dagar och/eller inte svarat på behandling som kroniska, medan Simpson (2005a) benämner kräkningar som pågått längre än 5 dagar som kroniska. Symptomen vid kronisk gastrit är huvudsakligen kräkningar innehållande foder eller galla. Dålig aptit, viktsförlust, melena och hematemesis förekommer också. Vid foderöverkänslighet ses ofta gastrointestinala och dermatologiska symptom tillsammans. Precis som vid akut gastrit består diagnostiken av noggrann anamnes och klinisk undersökning, för att utesluta andra orsaker till symptomen. Vid kroniska kräkningar bör dessutom alltid hematologiska och kliniskt kemiska blodparameterar, röntgen och/eller ultraljud av buken samt urinanalys och träckundersökning ingå. Eosinofili kan öka misstanken om foderöverkänslighet, endoparasiter och mastcellstumörer. Hypoproteinemi förekommer bland annat vid mer omfattande inflammatoriska tillstånd i mag- och tarmkanalen och vid alimentärt lymfom. Träckprov kan avslöja förekomst av parasiter och bakterier som kan orsaka kräkningar och diarré (såsom *Giardia* spp och *Salmonella* spp) och ultraljud kan ge information om lokala och utbredda slemhinneförändringar i mag- och tarmkanalen, förstörade lymfknotor med mera. Vid kronisk gastrit är den kliniska undersökningen, hematologiska och kliniskt kemiska blodparametrar samt ultraljud och röntgenundersökningar i de flesta fall utan anmärkning eller med ospecifika avvikelser. För att få en diagnos krävs ofta endoskopi eller kirurgi för att ta biopsier från magsäck och tarm för histopatologisk undersökning. (Simpson, 2005a; Simpson, 2005b) Det är viktigt att man tar biopsier även om slemhinnan makroskopiskt ser normal ut, då de flesta gastritförändringar är på mikroskopisk nivå.

### **Inflammatory Bowel Disease (IBD)**

IBD har kliniskt definierats som persisterande gastrointestinala symptom förknippade med histologiskt påvisbar kronisk inflammation av okänd etiologi, som generellt svarar på behandling med immunosupprimerande medel (Jergens, 2004). IBD är i princip en uteslutningsdiagnos och tarmsjukdomar av annan orsak såsom systemiska sjukdomar, parasitinfektioner, födoämnesöverkänslighet, infektiösa sjukdomar och alimentära neoplasier ska uteslutas (Jergens och Zoran, 2005). Förr förknippades IBD med förändringar huvudsakligen i grovtarmen (Sherding and Burrows, 1992). Detta har omvärderats och på senare tid har man förstått att hela gastrointestinalkanalen kan vara inblandad. Enligt Washabau (2005) och German (2005) kan magsäcken och tunntarmarna och/eller grovtarmen vara involverad. De flesta hundarna har diarré, men symptomen beror på vilken del av gastrointestinalkanalen som är inflammerad (Hall och Simpson, 2000). Enligt Washabau (2005) ska IBD misstänkas kliniskt vid kroniska (det vill säga mer än 3 veckors duration) gastrointestinala problem, vid dåligt eller inget svar på symptomatisk behandling (som exempelvis avmaskning,

antibiotika, magslemhinneskyddande medel), och när histopatologisk undersökning av biopsier visar inflammatoriska förändringar.

Det finns flera olika former av IBD hos hund, troligen förekommer tjocktarmsformen oftast. Beroende på vilka sorters inflammatoriska celler som återfinns vid den histopatologiska undersökningen definieras IBD som neutrofil, eosinofil, lymfocytär, plasmacytär eller granulomatös. Även arkitektoniska slemhinneförändringar (exempelvis villusatrofi, kryptkollapser), skadans utbredning (fokal eller generell, ytlig eller djup), omfattning (mild, måttlig, höggradig) samt topografin (magsäck, duodenum, jejunum, ileum etc) är av vikt för bedömningen. (Washabau, 2005)

En hypotes är att IBD orsakas av en förlust av tolerans för normalfloran och/eller födoämnesantigen, som leder till onormal T-cellsaktivitet i mag- och tarmkanalen (Washabau, 2005; Simpson, 2005c). Guilford och Strombeck (1996) föreslår att GHLO hos hund skulle kunna vara en predisponerande faktor för födoämnesallergi, gastrit och IBD. I försök har man sett att inflammation i grovtarmen leder till störd motilitet vilket kan vara orsak till symptomen vid grovtarms-IBD (diarré, slemmig avföring, tenesmus, smärta etc). Det finns inget bevis för genetisk predisposition men vissa hundraser (ex schäfer och boxer) verkar löpa större risk att drabbas än andra hundraser. Detta kan jämföras med Crohn's sjukdom och ulcerös colit som är vanligare hos människor med vissa genotyper. (Washabau, 2005)

### ***Helicobacter* spp vid kroniska gastroenteriter**

Mer än hälften av världens alla människor är kroniskt infekterade med *H. pylori* (Brown, 2000). Vissa typer av *H. pylori*, så kallade typ I stammar, förknippas med inflammation i magsäcken och uttryck av vissa proinflammatoriska cytokiner. Dessa stammars ökade virulens beror bland annat på produktion av ett toxin (VacA) som är cytopatiskt för magsäckens epitelceller. Typ I-stammarna har dessutom en samling gener som kodar för andra virulensfaktorer, bland annat induceras syntes av interleukin 8 av magsäckens epitelceller. Interleukin 8 är ett cytokin som verkar kemotaktiskt och aktiverande för neutrofiler. Dessa typ-I stammar är kopplade till utveckling av peptiska ulcera och magsäckscancer. (Rossi *et al.*, 1999). Något samband mellan cytokinuttryck och kolonisering av GHLO har dock ej påvisats hos hund (Wiinberg *et al.*, 2005).

I en studie där en koloni beaglar infekterades med *H. pylori*, sågs samma histologiska mönster som hos människor infekterade med *H. pylori*. En vecka efter per oral infektion sågs, framför allt i corpus och antrum, hyperemi och ödem i lamina propria med infiltrat av granulocyter. Efter två veckor sågs en minskning av granulocyter och en ökning av mononukleära celler. Vid gastroskopi 4 veckor efter infektion syntes erosioner i antrum och 8 veckor efter infektion såg magsäcksslemhinnan ojämn ut, vilket är typiskt för kronisk follikulär gastrit. Histopatologiskt sågs små ansamlingar av lymfocyter och plasmaceller samt lymffolliklar. (Rossi *et al.*, 1999)

Endast i en studie har *H. pylori* påvisats hos naturligt infekterade hundar (Buczolits *et al.*, 2003). Hundar koloniserar istället av en mängd stora, spiralformade GHLO. De arter som oftast förekommer och som påvisats med nuvarande metoder är:



*Helicobacter heilmannii*, *Helicobacter bizzozeroni*, *Helicobacter felis*, *Helicobacter bilis*, *Flexispira rappini* och *Helicobacter salomonis* (Wiinberg *et al.*, 2005). De GHLO som finns hos hund fäster, till skillnad från *H. pylori*, inte till magsäckens epitel utan koloniserar istället slemlagret och magsäckskörtlarna och kan även förekomma intracellulärt (Simpson *et al.*, 2000). Företrädelsetvis verkar GHLO hos hund finnas i magsäckens fundus och cardia (Happonen *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1996a; Geyer *et al.*, 1993; Eaton *et al.*, 1996; Yamasaki *et al.*, 1998). Den typ av inflammation som setts i samband med *H. pylori* infektion hos människa har inte setts i studier hos hundar koloniserade med GHLO (Simpson *et al.*, 1999a; Simpson *et al.*, 1999b). Hos människor infekterade med *H. pylori* ser man också förändringar i magsäckens pH. Initialt, när magsäckens fundus och corpus är inflammerade stiger pH, för att senare sjunka till under normalt till följd av ökad syraproduktion. I två studier där man utvärderade magsäckens funktion genom en rad parametrar (bland annat faste- och måltids-stimulerad magsyreutsöndring, plasmagastrin, samt faste-pH), och såg ingen signifikant skillnad mellan hundar utan GHLO och hundar med GHLO (Simpson *et al.*, 1999a; Simpson *et al.*, 1999b).

De flesta författare är eniga om att GHLO förekommer minst lika ofta hos friska hundar som hos hundar med mag- och tarmproblem (Happonen *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1996a; Simpson *et al.*, 2000; Wiinberg *et al.*, 2005) och prevalensen är enligt Simpson (2005b) hög, 67-100 % hos friska sällskapshundar, 74-90 % hos hundar med kräkningar och 100 % hos laboratoriebeaglar. I en studie där man använde sig av enbart histologisk undersökning för att påvisa GHLO var prevalensen lägre (Geyer *et al.*, 1993).

Man vet att hundar ofta har saminfektion av olika helicobacterarter. I en studie från Danmark där man artbestämde helicobacterstammar från hund med hjälp av PCR förekom *H. bizzozeroni* hos 15 av 23 hundar. Sex av dessa hundar var dessutom positiva för *H. heilmannii*. Man hittade även saminfektion med *H. felis* och *H. bizzozeroni*. (Wiinberg *et al.* 2005)

Det finns många studier gjorda på hundar där man har försökt undersöka om och hur magsäckens histopatologiska utseende och funktion påverkas hos hundar koloniserade av GHLO. Neiger och Simpson (2000) konstaterar i en sammanfattning att hundar infekterade med GHLO har ökad förekomst av körteldegeneration och en varierande ökning av lymffolliklar, medan magsäckens sekretoriska funktion och graden av mononukleär inflammation inte skiljer sig från de ej infekterade hundarna. Enligt Simpson (2005b) kan man associera infektion med *Helicobacter* spp med mild till måttlig mononukleär inflammation.

I många studier ses ingen skillnad, avseende kliniska symptom och histopatologiskt utseende, mellan koloniserade och ej koloniserade hundar. Exempelvis finns en studie där SPF-hundar inokulerade med *H. felis* jämfördes med SPF-hundar som inte var inokulerade, utan att se skillnad i kliniska symptom eller grad av inflammation i magsäcksslemhinnan (Simpson *et al.*, 1999a). Samma resultat sågs i en studie där hundar naturligt koloniserade med GHLO jämfördes med ej koloniserade SPF-hundar (Simpson *et al.*, 1999b).

Det finns även flera studier gjorda på hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom avseende histopatologiska förändringar och förekomst eller koloniseringsgrad av GHLO. I en sådan studie såg man att hundar koloniserade med GHLO oftare hade histopatologiska förändringar i magsäcken än hundarna utan GHLO (Sapierzynsky *et al.*, 2006). Flera andra författare har också undersökt kopplingen mellan koloniseringstäthet av GHLO och grad av inflammation utan att se något samband (Happonen *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1996b; Hermanns *et al.*, 1995; Yamasaki *et al.*, 1998).

*Helicobacter* spp har också påvisats i tarmen hos möss och katter (Ge *et al.*, 2001; Foley *et al.*, 1998). De kallas enteriska och är inte ureasproducerande till skillnad från de gastriska helicobacterbakterierna.

### **Behandling av *Helicobacter* spp hos hund**

*H. pylori* hos människa kan behandlas på olika sätt, en effektiv behandlingen anses till exempel vara en tvåveckors kombinationsterapi bestående av en protonpumpshämmare, clarithromycin samt amoxicillin eller metronidazol (Graham *et al.*, 1991).

Även hos hund har det gjorts försök att behandla mot *Helicobacter* spp. I en studie behandlades hundar naturligt koloniserade med GHLO med amoxicillin, metronidazol och famotidine i syfte att utrota bakterierna. Det togs magsäcksbiopsier från hundarna innan behandling inleddes och 29 dagar efter avslutad behandling. Biopsierna undersöktes histopatologiskt och med PCR. Alla hundarna var fortfarande positiva för GHLO efter behandlingen och magsäckens histopatologiska utseende var inte heller förändrat. Detta tyder enligt författarna på att denna behandling inte orsakar eliminering av GHLO hos hundar. (Simpson *et al.*, 1999b). Simpson (2005b) nämner dock att i en ännu opublicerad studie, med 63 hundar och katter med gastrit och samtidig infektion av GHLO, blev 90 % kliniskt bättre efter behandling med samma preparat som ovan, och 14 av 19 hundar som endoskoperades om, hade lindrigare gastritförändringar och inga påvisbara GHLO i biopsierna. Simpson (2005b) rekommenderar därmed behandling av djur med histopatologiska förändringar tydande på gastrit och samtidig förekomst av GHLO i biopsier. Även Willard (2005) nämner *Helicobacter* spp som orsak till gastrit. Hans rekommendation är att man först utesluter andra orsaker till hundens gastroenterit, men om man inte hittar någon orsak eller om hunden inte svarar på behandling kan man prova och se om djuret svarar på behandling mot *Helicobacter* spp. Willard (2005) rekommenderar samma behandling som ovan. I en studie av Happonen *et al.* (2000) behandlades 9 hundar med gastrointestinala symptom och förekomst av GHLO med amoxicillin, metronidazol och bismutsubcitrat. Sju blev helicobacternegativa efter behandling och flera av hundarna blev kliniskt bättre. Att två hundar fortfarande hade förekomst av GHLO efter behandlingen kan enligt Happonen *et al.* (2000) bero på förekomst av metronidazolresistens. Metronidazolresistens har tidigare konstaterats hos en helicobacterstam som isolerats från laboratoriebeaglar (Happonen, 1999). Några av de helicobacterfria hundarna undersöktes på nytt inom 3 år och alla hade då återinfekterats (Happonen *et al.*, 2000).

## Histopatologisk klassificering av gastrit hos hund

Det finns inget standardiserat schema för hur gastriter hos hund ska klassificeras histopatologiskt. Det är främst intressant att klassificera de kroniska gastriterna, då de akuta ofta är av mer okomplicerad karaktär och sällan undersöks histologiskt (Simpson, 2005b).

Inledningsvis kan nämnas att de flesta författare baserar sin klassificering på kriterier utarbetade för människor. I de flesta studier gjorda på hund ses gastritförändringar hos såväl friska hundar som hos hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom. Detta tyder antingen på att mild asymptomatisk gastrit är vanligt hos hundar eller att kriterierna som används för att klassificera gastrit hos människa inte är lämpliga för hund (Happonen *et al.*, 1996a).

Van der Gaag (1988) klassificerar akut gastrit i tre typer, katarral, hemorragisk (-nekrotisk) och purulent. Kroniska gastriter delas in i fyra typer ”simple” (ospecifik), hypertrofisk, atrofisk, och granulomatös gastrit. Ospecifik gastrit delas, beroende på hur de inflammatoriska cellerna fördelar sig, in i subtyperna yttlig (infiltration av mononukleära celler yttligt i magslemhinnan), diffus (infiltration av mononukleära celler i hela magslemhinnans tjocklek) och follikulär. Gemensamt för de ospecifika gastriterna är att de har normal slemhinnetjocklek till skillnad från de atrofiska och hypertrofiska. Vidare använder van der Gaag indelningarna eosinofil, ulcerativ och erosiv gastrit.

Simpson (2005b) bedömer gastrit efter vilken inflammatorisk celltyp som dominerar (eosinofil, lymfocytär, plasmacytär, granulomatös, follikulär), efter närvaron av arkitektoniska förändringar (atrofi, hypertrofi, fibros, ödem, ulceration, metaplasi), samt genom en subjektiv uppskattning av inflammationens omfattning (mild, måttlig eller kraftig). Särskilt omnämner författaren diagnoserna mild och måttlig till kraftig lymfoplasmacytär gastrit, diffus eosinofil gastrit och atrofisk gastrit.

Granulomatös gastrit karaktäriseras av förekomst av granulomatösa förändringar i magsäcken och kan ses vid till exempel eosinofil gastrit, parasitförekomst och neoplasier (Hall, 2000). Hundar med kronisk njursvikt kan få kronisk uremisk gastrit, vilken kännetecknas av körtelatrofi, ödem i lamina propria, infiltration av mastceller, fibros, mineralisering och arterit i submukosan (Polzin *et al.* 2000).

Hos människa används det så kallade Sydney Systemet för att klassificera gastrit. Detta system bygger på analoga skalor. Det finns 6 olika skalor för att kvantitativt utvärdera förekomst av *H. pylori*, neutrofiler, mononukleära celler samt graden av atrofi i antrum och corpus och intestinal metaplasi (Dixon *et al.*, 1996). Happonen *et al.* (1998) har modifierat Sydney Systemet för bedömning av magsäcksbiopsier från hund, bland annat genom att tillåta ett högre antal inflammatoriska celler i kriteriet för normal magslemhinna. Vidare används separata skalor för förekomst av GHLO, mononukleära celler och för neutrofiler och eosinofiler. Schemat består av visuella analoga skalor som graderar förekomsten av GHLO och inflammatoriska celler till normal, mild, måttlig, eller kraftig och förändringar uttrycks som ett medelvärde av alla biopsier från den enskilda hunden. Bedömningen kronisk gastrit görs när antalet

mononukleära celler är ökat, och graderas mild, måttlig eller kraftig. Kroniskt aktiv gastrit diagnostiseras vid kronisk gastrit när antalet neutrofiler är förhöjt. Uttrycket regional gastrit används när det inte finns förändringar i alla regioner i magsäcken, fokal gastrit om inte alla biopsier från samma region visar gastrit. Termerna ytlig och diffus används för att beskriva hur cellerna infiltrerat slemhinnan.

Eaton *et al.* (1996) använder sig istället av en 6-gradig skala för att gradera lymfoplasmacytär inflammation, vid kronisk gastrit, där 0 motsvarar frånvaro av inflammation, 1, mild multifokal inflammation, 2, mild, generellt spridd inflammation, 3, mild, generellt spridd inflammation och måttlig multifokal inflammation, 4, måttlig generellt spridd inflammation, 5, kraftig generellt spridd inflammation.

### **Metoder att påvisa *Helicobacter* spp**

Det finns flera metoder för att påvisa *Helicobacter* spp. Här beskrivs några av de vanligaste, och några för- och nackdelar med respektive metod redovisas.

Vid "Brush cytologi" rullas en borste mot magslemhinnan för att fånga upp slem. Sedan rullas borsten på ett objektglas och färgas med valfri färgningsmetod. Fördelen med denna metod är att om man använder en snabbfärgning kan man snabbt få reda på resultatet, sensitiviteten är också hög då ett stort område i magsäcken kan provtas (Happonen *et al.*, 1996b). Vid ureastest utnyttjas faktumet att GHLO är ureasproducerande. Man lägger en biopsi i en speciell reagens innehållande urea och färgomslag är lika med positivt svar. Tiden det tar för reagensen att slå om står i proportion till antalet GHLO, det vill säga ju snabbare färgomslag desto fler GHLO finns i biopsin. Ureastestet bör, åtminstone teoretiskt, kunna ge falskt positiva svar då det kan förekomma andra ureasproducerande bakterier i magsäcken (Simpson, 2005c). Falskt negativa resultat kan också förekomma om koloniseringstätheten i det provtagna området är låg, men ureastest anses i praktiken vara ett pålitligt test för att påvisa *Helicobacter* spp (Happonen *et al.*, 1996b). Histopatologisk undersökning utförs på biopsier tagna vid gastroskopi eller vid laparotomi. De spiralformade helicobacterbakterierna går att upptäcka i hematoxylin och eosin (H&E) färgning, men specialfärgningar såsom modifierad Giemsa (Gray *et al.*, 1986) och Warthin-Starry underlättar identifieringen. Fördelen med histologisk undersökning är att man kan se var bakterierna förekommer och eventuella histopatologiska förändringar, medan nackdelen är det krävs lång tid innan man får svar (Happonen *et al.*, 1996b). Man kan också odla vissa helicobacterarter, men det är svårt och kräver speciella medier (Jalava *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1996b). Med elektronmikroskopi kan man särskilja vissa grupper av GHLO från varandra med hjälp av morfologin, men det är en dyr undersökningsmetod och det kan ibland vara svårt att hitta bakterierna då deras distribuering i magsäcken är ojämn och snitten är mycket tunna (Happonen *et al.*, 1996). Vid PCR extraheras helicobacter-DNA från provmaterial och en primer som är specifik för *Helicobacter* spp används för att amplifiera det utvalda DNA:t. PCR har mycket hög sensitivitet. (Neiger och Simpson, 2000). Med Multiplex PCR använder man flera olika primrar, för att i en blandinfektion kunna artbestämma *Helicobacter* spp, i en enda PCR-reaktion (Baele, 2004).

## **SYFTE**

Föreliggande studie är ett delprojekt i en större studie, vars syfte är att ta reda på om GHLO har betydelse för den histopatologiska bilden i magsäck och duodenum hos hund, samt om vissa kliniska symptom har samband med förekomst av GHLO. Man vill veta om vissa helicobacterarter förekommer oftare i samband med sjukdom än andra, om samma arter förekommer i saliv, avföring, magsäck och duodenum och om arterna i saliv och avföring skiljer sig mellan friska hundar och hundar med gastrointestinala symptom i Sverige.

I denna studie undersöks förekomsten av helicobacterbakterier i magsäcken och duodenum hos 7 familje/sällskapshundar med kroniska kräkningar samt hos 5 undervisningshundar utan kliniska symptom på gastrointestinal störning. Vidare karaktäriseras den histopatologiska bilden i magsäcken hos de sjuka hundarna och hos de symptomfria undervisningshundarna. Helicobacterförekomst i saliv och avföring undersöks hos hundarna i de båda grupperna samt hos ytterligare 17 friska familje/sällskapshundar. Metoden för att påvisa *Helicobacter* spp utvärderas i ett annat EEF-arbete (Nicol, 2006), där redovisas också resultaten från de molekylärgenetiska testerna från de friska familjehundarna, samt från en del av hundarna med symptom på gastrointestinal sjukdom.

## **MATERIAL OCH METODER**

### **Djurmaterial**

Tre grupper av hundar ingick i studien. Två av grupperna var friska hundar utan symptom på gastrointestinal sjukdom, varav den ena gruppen var friska familje/sällskapshundar och den andra gruppen var undervisningshundar tillhörande SLU. Den tredje gruppen var hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom. Försöket är godkänt av djurförsöksetiska nämnden i Uppsala.

### ***Friska familje/sällskapshundar utan symptom på gastrointestinal sjukdom***

Sjutton friska familje/sällskapshundar ingick i studien. Hundarna var mellan ett och åtta år och medelåldern var 4,5 år. Alla var renrasiga men av olika raser och kom från olika boendeförhållanden. De flesta bodde i Uppsala med omnejd. Nio var tikar och åtta var hanhundar. Ägarna till dessa hundar fick fylla i en enkät innehållande frågor rörande nedanstående kriterier samt ytterligare frågor som kunde vara relevanta. En hund utgick ur studien då den hade intermittenta kräkningar. Enkäten och sammanställning över svaren finns i *Bilaga 1*.

- ✓ Ålder: mellan ett och tio år
- ✓ Ej medicineras för någon sjukdom vid provtagningstillfället
- ✓ Ej vara behandlad med antibiotika de senaste tre månaderna
- ✓ Ska inte ha eller ha haft problem med kroniska kräkningar (mer än 3 v eller återkommande)
- ✓ Ej ha konstaterad eller misstänkt foderallergi eller symptom på annan allergi, såsom hudutslag och klåda

- ✓ Flera hundar från samma närområde fick inte delta

### ***Friska undervisningshundar***

Fem undervisningshundar ingick i studien. De var mellan sju och tio år gamla och medelåldern var 8,2 år, fyra var hanhundar och en var tik. Alla var av rasen beagle och bodde i koloni där de hade nära kontakt med varandra. Samtliga hundar var kliniskt friska utan symptom på gastrointestinal sjukdom.

### ***Hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom***

Sju hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom deltog i studien. Hundarna var patienter som inkom till institutionen för kirurgi och medicin, SLU. Åldern var två till åtta år och medelåldern var 3,4 år. För mer utförlig information och journalsammanställning om hundarna se *Bilaga 2*. Hundarna valdes ut för att uppfylla så många som möjligt av nedanstående kriterier:

- ✓ Ålder: minst ett år
- ✓ Problem med kroniska kräkningar (mer än 3 v eller återkommande) borde vara ett prominent symptom, men hundarna fick även ha problem med diarré
- ✓ Ej ha diagnostiserad allergi
- ✓ Ha genomgått ultraljudsundersökning av mag-tarmkanalen och/eller röntgen av buken, träckprov med avseende på parasiter samt blodprov med följande parametrar: hematologi inklusive leukocyter total och differentialräkning, ALAT, ALP, gallsyror, kreatinin, total-protein, albumin och TLI.

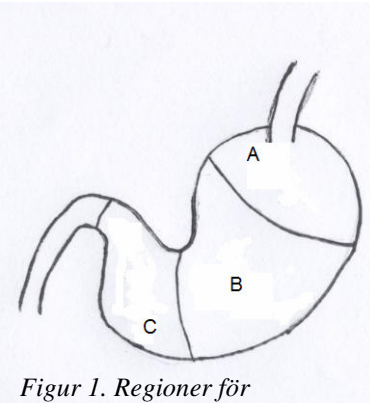
## **Provtagning**

### ***Saliv, feces och blodprov***

Från alla hundar togs saliv, avföring och blodprov. Salivprovet togs med en liten borste ("Apoliva mellanrumstandborste" från Apoteksbolaget) som gnuggades mot tandkött och tänder och därefter frystes in i  $-70^{\circ}$  C. Avföringsprovet togs i ren plastpåse av djurägaren med instruktion att helst ta avföringen direkt från ändtarmsöppningen, alternativt bara ta av den avföring som inte hade vidrört marken. Avföringen förvarades som längst över natten (ca 12-20 h) i kylskåp innan infrysning i  $-70^{\circ}$  C. Blodprov togs i serumrör och fick sedan stå kallt i minst en timme innan centrifugering, avskiljning av serum och infrysning i  $-70^{\circ}$  C. Serumprovet användes inte i detta projekt utan sparades för framtida analys av antikroppar mot *Helicobacter* spp.

### ***Biopsitagning vid gastroskopi***

Undervisningshundarna och hundarna med symptom på gastrointestinal sjukdom undersöktes med endoskop och biopsier togs. Hos alla hundar undersöktes magsäcken och duodenum. Hos hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom med misstanke om förändringar i colon biopsier togs även grovtarmen (se *Bilaga 2* avseende histopatologiska bilden i grovtarmen). Innan gastroskopin fick hundarna svälta i ett dygn. De hundar som skulle coloskoperas svält ytterligare 2-3 dygn och fick vattenlavemang. Hundarna premedicerades enligt gängse metoder och fick dessutom dimetikon (Minifom). Narkosen inducerades intravenöst med propofol (Rapinovet.vet) och underhölls med inhalation av isofluran (Isoflo.vet) och syre. Biopsier togs från duodenum och tre områden i magsäcken: corpus, fundus och antrum enligt *figur 1*. Under senare delen av studien märktes biopsierna för att informera patologen om vilket område de kom ifrån. Från fundus och antrum togs 2-3 biopsier för histopatologisk undersökning, från corpus och duodenum togs 5-6 biopsier för histopatologisk undersökning samt för PCR.



*Figur 1. Regioner för biopsitagning i magsäcken. A. Fundus, B. Corpus, C. Antrum*

### **Analys**

Hematologiska parametrar samt serum- och plasmaanalys utfördes enligt gängse metoder vid avdelningen för klinisk kemi och bilddiagnostik, BVF, SLU.

Biopsierna för histologisk undersökning fixerades i 10 % fosfatbuffrad formalin, bäddades in i paraffin och snittades till 4-5 µm tjocklek. Snitten färgades med H&E-färgning och med en modifierad Giemsa-färgning (Gray *et al.*, 1986). Alla preparaten undersöktes under ljusmikroskop av samma patolog.

PCR utfördes vid avdelningen för bakteriologi, SVA på saliv, feces och alla biopsier med *Helicobacter* spp specifik primer (metodbeskrivning se Nicol, 2006). Samtliga saliv, feces och några biopsier analyserades med Multiplex-PCR i syfte att artbestämma helicobakterbakterierna (Nicol, 2006).

### **Histopatologisk undersökning**

Vid histopatologisk undersökning av biopsier från magsäcken bedömdes följande kriterier. Förekomst av mononukleära celler (lymfocyter och plasmaceller) och granulocyter (neutrofiler och eosinofiler) i lamina propria och deras lokalisering (ytligt, diffust eller follikulärt), förekomst av fibros i lamina propria, förekomst av körtelatrofi samt förekomst av ulcerationer eller erosioner i ytepitelet. Förekomst av GHLO i H&E samt modifierad Giemsa-färgning noterades men graderades inte. Vid fynd av ökat antal mononukleära celler i lamina propria bedömdes förändringen som **kronisk ospecifik gastrit**. Gastriten klassificerades som mild då lindrig infiltration av mononukleära celler iaktogs och höggradig då kraftig infiltration förelåg.

Diagnosen **kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ** ställdes vid fynd av flera lymffolliklar i samma biopsi eller då lymffolliklar sågs i två eller flera biopsier från samma region. Påvisande av märkbart antal eosinofiler i lamina propria bedömdes som **eosinofil gastrit**. Då förändring sågs i endast en biopsi betecknades den som lokal. Biopsier som var så små och ytliga att de ej gick att bedöma utgick ur studien. Ingen förekomst eller förekomst av enstaka, spridda mononukleära celler, samt ingen förekomst eller enstaka utspridda neutrofiler och/eller eosinofiler vid 400X förstoring i en vävnad utan förändringar bedömdes som normal.

Resultaten från den histopatologiska undersökningen av biopsier från duodenum och colon redovisas inte i denna studie men patologoanatomiska diagnoser finns i *Bilaga 2 och 3*.

## RESULTAT

Multiplex PCR, som används för att urskilja olika helicobacterarter fungerade bra, men den efterföljande kapillärelektroforesen som ska åskådliggöra resultatet fungerade bristfälligt. Därför kan endast enstaka resultat avseende helicobacterarter redovisas. (Nicol, 2006).

### *Friska familje/sällskapshundar utan symptom på gastrointestinal sjukdom*

Hos samtliga av de 17 friska familje/sällskapshundarna påvisades *Helicobacter* spp i feces och/eller saliv med PCR. Elva av de sjutton friska familje/sällskapshundarna hade förekomst av *Helicobacter* spp i både saliv och feces, tre hade bara i feces och tre hade bara i saliv, se *Tabell 1*. Hos två av hundarna kunde *H. salomonis* särskiljas ur en blandflora av *Helicobacter* spp (redovisas i detalj i Nicol, 2006).

*Tabell 1. Påvisande av Helicobacter spp i saliv och feces hos friska familje/sällskapshundar.*

	<u>Antal hundar</u>
Saliv och feces	11
Saliv	3
Feces	3
Totalt	<u>17</u>

### *Friska undervisningshundar*

Hos samtliga undervisningshundar sågs histopatologiska förändringar i magsäcksbiopsierna. Se *Tabell 2* för sammanställning. Tre av fem provtagna hundar hade kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ (se *Figur 2*), en hund hade kronisk ospecifik gastrit och en eosinofil gastrit. För samtliga hundar gällde att förändringarna var kraftigare i fundus och corpus än i antrum och i alla snitten från corpus och fundus sågs varierande grad av ytlig och interglandulär fibros (se *Figur 3*). I de biopsier där höggradiga förändringar iaktogs sågs även en måttlig körtelatrofi. Två av hundarna (exklusive hund A med eosinofil gastrit) hade anmärkningsvärd förekomst av eosinofiler, dock ej så markant att diagnosen eosinofil gastrit kunde ställas. Inga ulcerationer eller erosioner iaktogs i biopsimaterialet. Hos två av hundarna påvisades GHLO i H&E- och Giemsa-färgning. (Se *Figur 4*). I



magsäcksbiopsier från samtliga av hundarna påvisades *Helicobacter* spp med PCR. *Helicobacter* bakterier påvisades även i feces från de två hittills undersökta hundarna och i saliv från en av de två hundarna. Se *Tabell 2* för sammanställning. För mer detaljerad information om hundarna se *Bilaga 3*.

*Tabell 2. Sammanställning över påvisande av GHLO och histopatologisk diagnos hos undervisningshundarna S=saliv, F=feces, M=magsäck, D=duodenum*

Hund	Påvisande av GHLO i PCR				Påvisande av GHLO i H&E-färgning	Påvisande av GHLO i Giemsa-färgning	Histopatologisk diagnos
	F	S	M	D			
A	+	-	+	+	+	+	Mild ytlig eosinofil gastrit
B	+	+	+	-	-	-	Höggradig kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ.
C	*	*	+	+	-	-	Höggradig kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ.
D	*	*	+	+	+	+	Måttlig kronisk ospecifik gastrit, höggradig fokalt i corpus/fundusregionen
E	*	*	+	-	-	-	Måttlig kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ, höggradig i fundusregionen.

\* provet ej analyserat

### ***Hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom***

Alla hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom hade problem med kräkningar, tre hundar hade dessutom diarré eller lös avföring och en hade borborygmi. Två hade hudproblem, två av hundarna hade tappat i vikt och två hade hypoproteinemi vid något provtagningstillfälle. En av hundarna hade nedsatt allmäntillstånd. Sammanställning av hundarnas symptom, förekomst av GHLO och histopatologisk diagnos finns i *Tabell 3*. Tre av hundarna hade provat olika dieter för "känslig mage" (okänd tillverkare), och tre "lågallergen diet" (okänd tillverkare) utan klinisk förbättring. Hund p5 hade stått på 20 dagars behandling i två omgångar med metronidazol (Flagyl) och cimetidin (Acinil), senaste två månader innan gastroskoperingen, samt enrofloxacin (Baytril.vet) med början 7 dagar innan gastroskoperingen samt amoxicillin (Bimoxyl.vet) och omeprazol (Losec) fram till dagen för gastroskopi. Hund p6 blev behandlad mot *Campylobacter* spp med erytromycin en månad innan gastroskopering och hund p7 hade avslutat en ett år lång behandling med prednisolon ett år innan gastroskopering. Hund p4 behandlades vid tillfället för gastroskopering med omeprazol (Losec) och sukralfat (Andapsin).

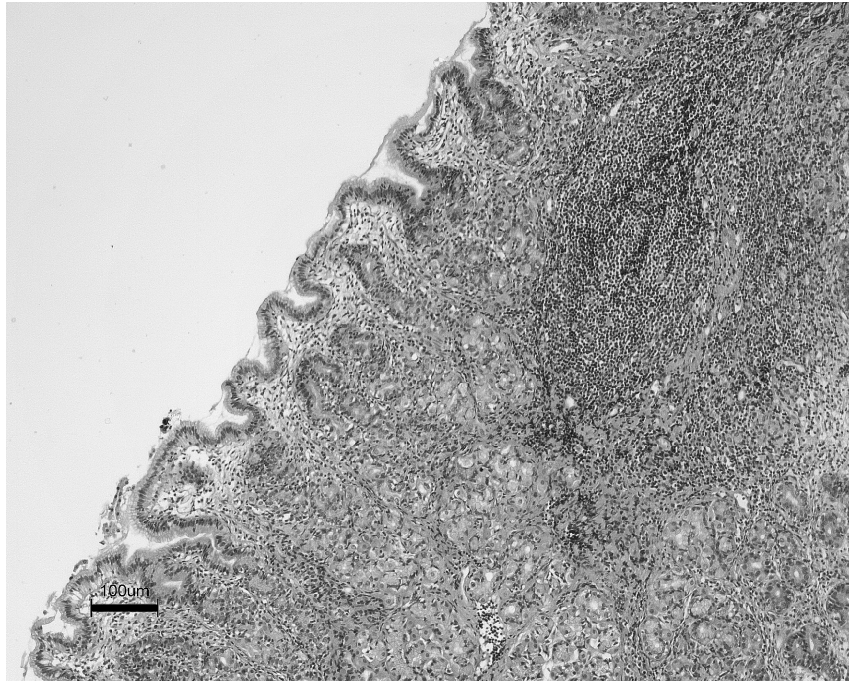
Hos dessa hundar sågs generellt mildare histopatologiska förändringar än hos undervisningshundarna. Hos två av hundarna var magslemhinnan normal (se *Figur 5*) och tre hade ospecifik gastrit. Två av hundarna hade eosinofil gastrit. GHLO påvisades i H&E-färgning hos tre av hundarna och i Giemsa-färgning hos fyra hundar.

Hos 5 av hundarna påvisades *Helicobacter* spp med PCR i biopsier från magsäck, och i 4 av de hittills 6 analyserade salivproverna fanns helicobacterbakterier. Två av de hittills fyra analyserade avföringsproverna innehöll *Helicobacter* spp. Hos de två hundar som blivit antibiotikabehandlade kunde helicobacterbakterier inte påvisas. För mer detaljerad information om hundarna och patologianatomiska diagnoser se *Bilaga 2*.

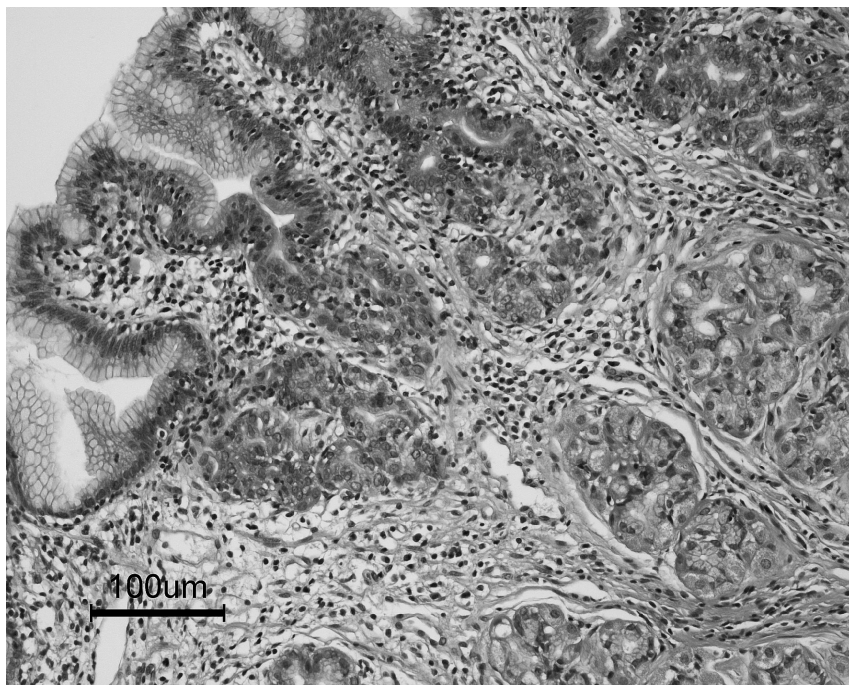
Tabell 3. Sammanställning över symptom, påvisande av GHLO vid PCR, Giemsa- och H&E-färgning samt histopatologisk diagnos hos hundar med gastrointestinala symptom. F=feces, S=saliv, M=magsäck, D=duodenum

Hund nr	Symptom	Påvisande av GHLO i PCR				Påvisande av GHLO i H&E-färgning	Påvisande av GHLO Giemsa-färgning	Histopatologisk diagnos
		F	S	M	D			
P1	Kräkningar. Viktsförlust.	+	-	+	-	-	+	Måttlig ytlig eosinofil gastrit
P3	Blodiga kräkningar och diarré. Viktsförlust. Dermatologiska symptom.	-	+	+	-	+	+	Normal magslemhinna
P4	Kräkningar.	+	+	+	-	+	+	Mild ytlig kronisk ospecifik gastrit
P5a	Slemmiga kräkningar. Borborygmi. Nedsatt allmäntillstånd. Pruritus.	-	-	-	-	-	-	Måttlig kronisk ospecifik gastrit
P5b	Samma hund som ovan, provtagen 40 dagar senare	*	*	*	*	-	-	Måttlig kronisk ospecifik gastrit
P6	Kräkningar. Borborygmi. Lös avföring.	*	+	-	-	-	-	Normal magsäcksslemhinna
P7	Kräkningar. Diarré. Hypoproteinemi. Pruritus.	*	+	+	+	+	+	Mild kronisk ospecifik gastrit
P8	Kräkningar.	*	*	+	+	-	-	Måttlig eosinofil gastrit

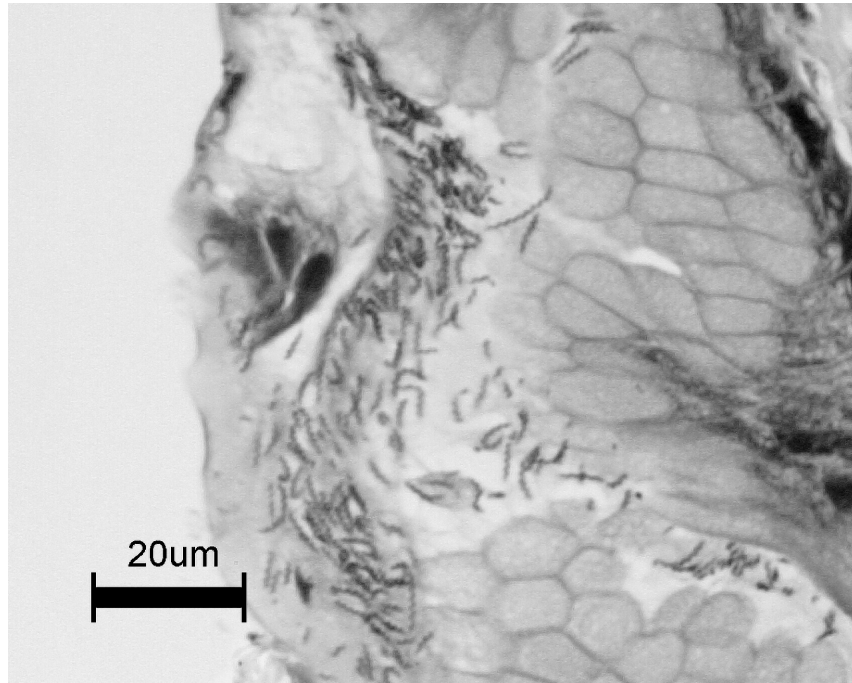
\* provet ej analyserat



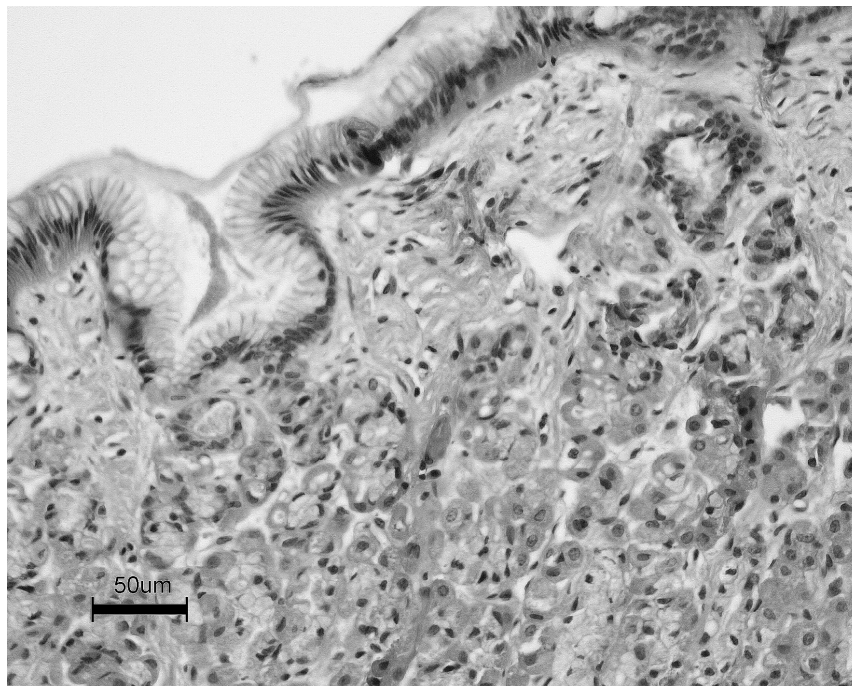
*Figur 2. Kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ hos en av undervisningshundarna. H&E-färgning.*



*Figur 3. Magslemhinna med diffus infiltration av mononukleära celler körtelatrofi och kraftig fibros hos en av undervisningshundarna. H&E-färgning.*



*Figur 4. Riklig förekomst av Helicobacter spp i slemmet på magsäcksslemhinnan hos en av undervisningshundarna. Modifierad Giemsa-färgning.*



*Figur 5. Normal magsäcksslemhinna från en av hundarna med symptom på gastrointestinal sjukdom. H&E-färgning.*

## DISKUSSION

Resultaten i den här studien indikerar att det inte är någon skillnad i helicobacterförekomst mellan friska hundar och hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom, vilket överrensstämmer med andra studier inom området (Eaton *et al.*, 1996; Happonen *et al.*, 1998). Den höga förekomsten av bakterien i hundpopulationen verkar trolig då man i flera studier utanför Sverige har fått liknande resultat både från friska familjehundar och från hundar med symptom på gastrit (Happonen *et al.* 1998., Happonen *et al.*, 1996a; Hermanns *et al.*, 1995; Yamasaki *et al.*, 1998) och hundar som hålls i koloni (Eaton *et al.* 1996., Simpson *et al.* 1999b).

Intressant och mer oväntat var att så många av undervisningshundarna hade histologiska förändringar, som klassificerades som höggradig kronisk gastrit utan att visa symptom, medan de sjuka hundarnas histopatologiska bild generellt var mildare. Undervisningshundarna var avsevärt äldre än hundarna med symptom på gastrointestinal sjukdom (medelålder 4,5 respektive 8,2 år), eventuellt skulle det kunna påverka den histologiska bilden, även om van der Gaag (1988) inte kunde se något samband mellan ålder på hundarna och olika typer av gastrit. Det skulle vara av värde att analysera biopsier från några av de yngre undervisningshundarna som jämförelse. De mest omfattande förändringarna förekom i corpus och fundus i magsäcken, samma delar som i flera studier konstaterats ha högst prevalens av GHLO hos hund (Happonen *et al.*, 1998; Happonen *et al.*, 1996a; Geyer *et al.*, 1993; Eaton *et al.*, 1996; Yamasaki *et al.*, 1998). Det kan som jämförelse nämnas att *H. pylori*, som hos människor förorsakar gastrit, främst ger förändringar i antrum med varierande inblandning av fundus (Barker *et al.*, 1992). En teori är att ureasproducerande GHLO höjer magsäckens pH hos hund så att andra mikroorganismer klarar av att kolonisera slemhinnan och att de i sin tur orsakar gastritförändringar. Det finns dock studier som inte visar någon skillnad i magsäckens pH hos GHLO-infekterade och hundar utan GHLO (Simpson *et al.*, 1999a; Simpson *et al.*, 1999b). En annan hypotes är att djuret förlorar tolerans mot normalflora och normala födoämnesantigen (Washabau, 2005; Simpson, 2005c). Denna hypotes är svårare att applicera på undervisningshundarna, möjligen kan man tänka sig att kolonisering av GHLO under lång tid ökar risken för en immunologisk reaktion. Riklig förekomst av lymffolliklar finns rapporterat i en studie där beaglar infekterades med *H. felis* (Lee *et al.*, 1992). Dessa hundar visade inga kliniska symptom på gastrointestinal sjukdom och folliklar förekom framförallt i fundus och corpus, snarlikt vad som sågs hos undervisningshundarna i den här studien. Hundarna i studien av Lee *et al.* (1992) var dock mycket yngre än undervisningshundarna, vilket kan tyda på att åldern inte spelar så stor roll för utvecklingen av lymffolliklar. Även Henry *et al.* (1987) har rapporterat lymffolliklar hos beaglar, i åldern 9 månader till 2 år, koloniserade med GHLO. Anledningen till att flera av undervisningshundarna hade anmärkningsvärd förekomst av eosinofiler kan diskuteras. Avmaskning av dessa hundar sker två gånger årligen, men det skulle trots det vara av värde att ta träckprov för att få reda på deras parasitologiska status. Det faktum att undervisningshundarna har så omfattande histopatologiska förändringar utan kliniska symptom ger upphov till nya kliniska frågeställningar.

Avsaknaden av standarder för histologiska kriterier vid klassificering av gastrit är ett stort problem. Så gott som varje författare har sitt eget sätt att klassificera förändringar, och vad som ska anses som normalt histologiskt utseende är inte heller fastställt (se litteraturöversikten för exempel). Följaktligen kan man, på samma preparat, få lika många olika svar som det antal patologer som undersöker preparatet. Detta gör det mycket svårt att jämföra resultat mellan studier, vilket kommenterats och konstaterats av flera författare (Happonen *et al.*, 1998; Happonen, 1999; Neiger och Simpson, 2000; Washabau, 2005; Wiinberg *et al.*, 2005). Enligt Happonen (1999) har hundar normalt förekomst av enstaka inflammatoriska celler i magslemhinnan, vilket inte anses som normalt hos människa. Detta kan förklara att många studier på hund har visat en mycket hög förekomst av gastrit, vilket kan bero på att man använt sig av mallar avsedda för bedömning av gastrit hos människa för att bedöma preparat från hundar. WSAVA Gastrointestinal standardization group håller just nu på att arbeta med att få fram en standard för att utvärdera de gastrointestinala sjukdomarna hos hund och katt (Washabau, 2006). Standarden ska innehålla histologiska kriterier, funktionella kriterier (för de sjukdomar som har tydliga symptom men inte typiska histologiska förändringar) samt hur den medicinska utredningen av gastrointestinala sjukdomar bör utföras (såsom anamnes och provtagning). Det är viktigt att även biopsitagningen standardiseras, och att man vet var i magsäcken biopsierna är tagna. Det är också viktigt att ta biopsi från djuret även när magslemhinnan är makroskopiskt normal då en sådan slemhinna kan visa omfattande histopatologiska förändringar som var fallet med flera hundar i den här studien. Den som tar biopsier bör också märka varifrån biopsierna är tagna för att patologen ska kunna utvärdera exempelvis eventuell körtelmetaplasti. Biopsitagningstekniken och/eller biopsitängernas kvalitet bör också förbättras, då många av biopsierna i den här studien, främst från antrum, var för små för att kunna bedömas.

I den här studien påvisades GHLO hos en hund i modifierad Giemsa-färgning som inte sågs i H&E-färgning, det är således en fördel att undersöka biopsierna både med H&E och modifierad Giemsa-färgning då GHLO syns bättre i den senare. Hos flera av hundarna där GHLO ej påvisats vid histopatologisk undersökning, har *Helicobacter* spp påvisats med PCR. Man bör följaktligen använda PCR för att inte missa GHLO-positiva hundar. I många studier används ureastest. Det finns flera bakterier som är ureasproducerande, exempelvis *Proteus* spp samt *Escherichia coli*, (Simpson, 2005c) och som följaktligen skulle kunna ge ett falskt positivt resultat. Dock skulle det vara en fördel att i fortsättningen initialt analysera biopsier med ureastest för att få en indikation på vilka biopsier som bör undersökas med PCR.

Några författare (Willard, 2005; Simpson, 2005b) anser att man kan provbehandla mot GHLO om man hittar bakterier vid histopatologisk undersökning och om annan behandling inte ger resultat. Willard nämner att det enligt hans åsikt skulle vara rimligt att behandla hundar med kroniska kräkningar mot GHLO innan man utför mer invasiva undersökningar såsom endoskopi. Det finns dock få fakta rörande patogeniciteten hos *Helicobacter* spp hos hund, och många rapporter om hög *Helicobacter* spp förekomst hos friska djur. Vidare förekommer samma helicobacterarter hos människa och hos hund (Kato *et al.*, 2005). Med det i åtanke

låter Willards resonemang oförenligt med målet att begränsa onödig antibiotikaanvändning med tanke på risk för resistensutveckling samt den negativa effekten på mag- och tarmfloran. Risken för överföring av resistentastammar till människa bör också beaktas. Man har dessutom sett att djur som behandlas mot GHLO blir återinfekterade i högre utsträckning än människor, samt att inte alla hundar blir helt bakteriefria efter genomgången behandling (Happonen *et al.* 2000). Att hundar återinfekteras i högre grad än människor beror troligen på hundarnas sociala beteende som innebär tät oral-anal och fekal-oral kontakt mellan djuren. Bristfällig behandlingseffekt skulle kunna bero på att den använda terapin endast orsakar tillfällig supprimering av GHLO utan att eliminera dem helt till exempel på grund av metronidazolresistens (Happonen, 1999) vilket poängterar vikten av ytterligare undersökningar innan eventuella behandlingsrekommendationer kan utformas. Båda hundarna där GHLO inte påvisades i magsäck och duodenum i den här studien hade blivit antibiotikabehandlade. Dessa behandlingar kan ha eliminerat eventuella GHLO. Liknande resultat finns dokumenterat i andra studier där de provtagna hundarna behandlats med olika sorters antibiotika inom de sista 2-6 månaderna (Wiinberg *et al.*, 2005).

Den här studien, som måste betraktas som en pilotstudie, har visat att hundar kan ha kraftiga histopatologiska gastritförändringar utan att ha kliniska symptom. *Helicobacter* bakterier finns hos friska hundar och hos hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom. Man bör vara restriktiv med behandling mot *Helicobacter* spp innan man vet mer om huruvida vissa arter kan vara sjukdomsframkallande. Resultaten från Multiplex PCR kommer att visa om vissa arter förekommer oftare hos hundar med histopatologiska förändringar och/eller kliniska symptom på gastrit än hos friska hundar. Man kommer dessutom se om arterna i saliv och feces speglar arterna i mag- och tarmfloran.

Man behöver analysera prover från ett betydligt större antal friska hundar och hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom. Med tanke på den utbredda förekomsten av *Helicobacter* spp i saliv är det ur zoonossynpunkt angeläget att studera om samma arter förekommer hos djur och djurägare.

Vidare är det viktigt att standardisera histopatologiska klassificeringar samt att biopsitekniken förbättras och utredningsmallar för hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom upprättas. Detta för att kunna ställa en säker diagnos och försäkra sig om att djuret får bästa behandling.

## **TACK!!!**

Jag vill tacka mina handledare Gunilla Trowald-Wigh och Elisabet Ekman för deras tålamod och vilja att lära ut saker. Jag vill också säga tack till Åsa Gessbo på lab som färgade så bra!



## LITTERATURFÖRTECKNING

- Baele, M., Van den Bulck, K., Decostere, A., Vandamme, P., Hanninen, M.L., Ducatelle, R., Kaesebrouck, F. (2004) Multiplex PCR assay for differentiation of *Helicobacter felis*, *H. bizzozeronii*, and *H. salomonis*. *J Clin Microbiol* 42(3):1115-22.
- Barker, Drevmel, Palmer (1992) The alimentary system. In: Jubb et al. (Eds.) *Pathology of domestic animals*. 4. ed. Vol. 2. 61-65. London: Academic Press, Inc.
- Brown, L. M. (2000) *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev* 22(2):283-97
- Buczolits, S., Hirt, R., Rosengarten, R., Busse, H. J. (2003) PCR-based genetic evidence for occurrence of *Helicobacter pylori* and novel *Helicobacter* species in the canine gastric mucosa. *Vet Microbiol* 95(4): 259-270.
- Dixon, M. F., Genta, R. M., Yardley, J. H., Correa, P. (1996) Classification and Grading of Gastritis The Updated Sydney System. *Am J Surg Pathol* 20(10), 1161-1181.
- Eaton, A. K., Dewhirst, F. E., Paster, B. J., Tzellas, N., Coleman, B. E., Paola, J., Sherding, R. (1996) Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: Animal and public health implications. *J Clin Microbiol* 34(12), 3165-3170.
- Feinstein, R. E., Olsson, E. (1992) Chronic gastroenterocolitis in nine cats. *J Vet Diagn Invest* 4, 293-298.
- Foley, J. E., Solnick, J. V., Lapointe, JM., Jang, S., Pedersen, N. C. (1998) Identification of a Novel Enteric *Helicobacter* Species in a Kitten with Severe Diarrhea. *J Clin Microbiol* 36(4): 908-912.
- Ge, Z., Doig, P., Fox, J. G. (2001) Characterization of Proteins in the Outer Membrane Preparation of a Murine Pathogen, *Helicobacter bilis*. *Infect Immun* 69(5): 3502-3506.
- German, A. J. (2005) Diseases of the small intestine. In: Hall, E.J., Simpson, J. W., Williams, D. A. (Eds.) *BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology*. 2. ed. 176-202. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association.
- Geyer, C., Colbatzky, F., Lechner, J., Hermanns, W. (1993) Occurrence of spiral-shaped bacteria in gastric biopsies of dogs and cats. *Vet Rec* 133(1), 18-19.
- Gray, S. F., Wyatt, J. I., Rathbone, BJ. (1986) Simplified techniques for identifying *Campylobacter pyloridis*. *J Clin Pathol* 39(11): 1279.
- Graham, D.Y., Lew, G.M., Evans, D.G., Evans, D.J. Jr., Klein, P.D. (1991) Effect of triple therapy (antibiotics plus bismuth) on duodenal ulcer healing. *Ann Intern Med* 115(4): 266-269.
- Guilford, W., Strombeck, D. (1996) In: Strombeck, Guilford, Center, Williams, Meyer. (Eds.) *Strombecks small animal gastroenterology*. 3. ed. 281-284. Philadelphia: W. B Saunders Company.
- Hall, A. H. (2000) Diseases of the stomach. In: Ettinger, S. J., Feldman, E. C. (Eds.) *Textbook of veterinary internal medicine*. 5. ed. Vol. 2. 1634-1662. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Hall, J. E., Simpson. K. W. (2000) Diseases of the small intestine. In: Ettinger, S. J., Feldman, E. C. (Eds.) *Textbook of veterinary internal medicine*. 5. ed. Vol. 2. 1183-1238. Philadelphia: W. B. Saunders Company.

- Happonen, I., Linden, J., Westermarck, E. (2000) Effect of triple therapy on eradication of canine gastric helicobacters and gastric disease. *J Small Anim Pract* 41(1): 1-6
- Happonen, I. (1999) Canine and feline gastric helicobacters: diagnosis and significance in chronic gastritis. Diss. University of Helsinki.
- Happonen, I., Linden, J., Saari, S., Karjalainen, M., Hanninen, ML., Jalava, K., Westermarck, E. (1998) Detection and effects of helicobacters in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. *J Am Vet Med Assoc* 213(12): 1767-1774.
- Happonen, I., Sari, S., Castren, L., Tyni, O., Hanninen, M. L., Westermarck, E. (1996a) Occurrence and topographical mapping of gastric *Helicobacter*-like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cats. *J Vet Med A* 43(5): 305-315.
- Happonen, I., Sari, S., Castren, L., Tyni, O., Hanninen, M. L., Westermarck, E. (1996b) Comparison of Diagnostic Methods for Detecting Gastric *Helicobacter*-like Organisms in Dogs and Cats. *J Comp Path* 115(2): 117-127.
- Henry, G. A., Long, P. H., Burns, J. L., Charbonneau, D. L. (1987) Gastric spirillosis in Beagles. *Am J Vet Res* 48(5): 831-836.
- Hermanns, W., Kregel, K., Breuer, W., Lechner, J. (1995) *Helicobacter*-like Organisms: Histopathological Examination of Gastric Biopsies from Dogs and Cats. *J Comp Pathol* 112(3): 307-318.
- Jalava, K., On, S. L. W., Vandamme, P. A. R., Happonen, I., Sukura, A., Hänninen, ML. (1998) Isolation and Identification of *Helicobacter* spp. from Canine and Feline Gastric Mucosa. *Appl Environ Microbiol* 64(10):3998-4006.
- Jergens, A. E., Zoran, D. L. (2005) Diseases of the colon and rectum. In: Hall, E.J., Simpson, J. W., Williams, D. A. (Eds.) *BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology*. 2. ed. 208-209. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association.
- Jergens, A. E. (2004) Clinical Assessment of Disease Activity for Canine Inflammatory Bowel Disease. *J Am Anim Hosp Assoc* 40(6): 437-445.
- Kato, S., Ozawa, K., Sekine, H., Ohyauchi, M., Shimosegawa, T., Minoura, T., Inuma, K. *Helicobacter heilmannii* infection in a child after successful eradication of *Helicobacter pylori*: case report and review of literature. (2005) *J Gastroenterol* 40(1): 94-97.
- Lee, A., Krakowa, S., Fox, J. G., Otto, G., Eaton, K. A., Murphy, J. C. (1992) Role of *Helicobacter felis* in Chronic Canine Gastritis. *Vet Pathol* 29(6): 487-494.
- Neiger, R., Simpson, K. W. (2000) *Helicobacter* Infection in Dogs and Cats: Facts and Fiction. *J Vet Intern Med* 14(2): 125-133.
- Nicol, C. 2006. EEF-arbete. Manus.
- Polzin, D. J., Osborne, C. A., Jacob, F., Ross, S. (2000) Chronic renal failure. In: Ettinger, S. J., Feldman, E. C. (Eds.) *Textbook of veterinary internal medicine*. 5. ed. Vol. 2. 1634-1662. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Rossi, G., Rossi, M., Vitali, C. G., Fortuna, D., Burrioni, D., Pancotto, L., Capecchi, S., Sozzi, S., Renzoni, G., Braca, G., Giudice, G. D., Rappuoli, R., Ghiara, P., Taccini, E. (1999) A Conventional Beagle Dog Model for Acute and Chronic Infection with *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 67(6): 3112-3120.

- Sapierzynski, R., E. Malicka, M. Żmudzka, A. Cywińska. (2006) The diagnosis of gastritis and *Helicobacter*-like organisms infection in endoscopic biopsies of the canine gastric mucosa. *Pol J Vet Sci* 9(1): 17-21.
- Sherding, R. G., Burrows, C. F. (1992) Diarrhea. In: *Veterinary Gastroenterology*. 2. ed. 458. Malvern: Lea & Fibiger.
- Simpson, K. W. (2005a) Acute and chronic vomiting. In: Hall, E.J., Simpson, J. W., Williams, D. A. (Eds.) *BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology*. 2. ed. 73-77. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association.
- Simpson, K. W. (2005b) Diseases of the stomach. In: Hall, E.J., Simpson, J. W., Williams, D. A. (Eds.) *BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology*. 2. ed.151-175. Quedgeley: British Small Animal Veterinary Association.
- Simpson, K.W. (2005c) Diseases of the stomach. In: Ettinger, S. J., Feldman, E. C. (Eds.) *Textbook of veterinary internal medicine*. 6. ed. Vol. 2. 1321-1325. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Simpson, K. W., Neiger, R., DeNovo, R., Sherding, R. (2000) The Relationship of *Helicobacter* Spp. Infection to Gastric Disease in Dogs and Cats\*. *J Vet Intern Med* 14(2): 223-227.
- Simpson, K. W., McDonough, P. L., Strauss-Ayali, D., Chang, Y.-F., Harpending, P., Valentine, B. A. (1999a) *Helicobacter felis* Infection in Dogs; Effect on Gastric Structure and Function. *Vet Pathol* 36(3): 237-248.
- Simpson, K. W., Strauss-Ayali, D., McDonough, P. L., Chang, Y-F., Valentine, B- A. (1999b) Gastric Function in Dogs with Naturally Acquired Gastric *Helicobacter* spp. Infection. *J Vet Intern Med* 13(6): 507-515.
- Twedt, D. C. (2000) Vomiting. In: Ettinger, S. J., Feldman, E. C. (Eds.) *Textbook of veterinary internal medicine*. 5. ed. Vol. 1. 117-121. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Van der Gaag, I., Happé, R.P. (1989) Follow-up Studies by Peroral Gastric Biopsy and Necropsy in Vomiting Dogs. *Can J Vet Res* 53(4): 468-472.
- Van der Gaag, I. (1988) The Histological Appearance of Peroral Gastric Biopsy in Clinically Healthy and Vomiting Dogs. *Can J Vet Res* 52(1): 67-74.
- Washabau, R. J. (2005) Report from: WSAVA Gastrointestinal Standardization Group. Homepage. [online] Tillgänglig: <http://www.wsava.org/GIStandards1.htm> [2006-11-26]
- Willard, M. (2005) World Small Animal Veterinary Association 2005 Congress. Acute and Chronic Gastritis. [online] Tillgänglig: <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2005&PID=10947&Category=1552&O=Generic> [2006-11-26]
- Wiinberg, B., Spohr, A., Dietz, H. H., Egelund, T., Greiter-Wilke, A., McDonough, S. P., Olsen, J., Priestnall, S., Chang, Y. F., Simpson, K. W. (2005) Quantitative Analysis of Inflammatory and Immune Responses in Dogs with Gastritis and Their relationship to *Helicobacter* spp. Infection. *J Vet Intern Med* 19(1) 4-14.
- Yamasaki, K., Suematsu, H., Takahashi, T. (1998) Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. *J Am Vet Med Assoc* 212(4): 529-533.

## ***Bilaga 1.***

### **Djurägarenkät**

Hundens namn:.....

plats för etikett

Hundens idnr:.....

Hundens kön:.....

Hundens ras:.....

Hundens ålder:.....



Ägarens namn:.....

Adress:.....

Telenr:.....

#### ***När vaccinerades hunden senast och mot vad?***

En av hundarna uppges vara vaccinerad enligt tysk standard, en för tre år sedan, en visste inte och de nio övriga enligt gängse standard.

#### ***När blev hunden senast avmaskad? Med vilket preparat?***

Nio av hundarna hade blivit avmaskade inom de senaste två åren. Sju av dem med ett preparat mot både rundmask och bandmask, en mot enbart rundmask och en mot enbart bandmask. En av hundarna hade inte blivit avmaskad sedan den var valp och två av hundarna avmaskades regelbundet, men ägaren kom inte ihåg när.

#### ***Har hunden blivit behandlad för någon sjukdom det senaste halvåret?***

ja       nej

Tre svarade ja, nio nej.

#### ***Om ja, vad för sjukdom?***

En behandlades för uveit, en för tilltäppt tårkanal och en för kräkningar och diarré.

#### ***Vad behandlades hunden med?***

En behandlades med mydriasyll och isoptomaxidex, en med ranitidin och diet och en med lomudal ögondroppar.

***Har eller har hunden haft symptom på allergi, såsom hudproblem eller foderallergi?***

- ja       nej

Elva av hundarna svarade nej, en ja.

***Om ja, vad för symptom?***

Den som svarade ja berättade att hunden svullnade upp i ansiktet av insektsbett.

***Har hunden någonsin haft diarré eller kräkningar som varat längre än 3 veckor eller återkommande diarré och kräkningar?***

- ja       nej

Elva hundar svarade nej, en svarade ja.

***Om ja, när då och hur behandlades hunden? Vad blev resultatet?***

En av hundarna har alltid haft problem med kräkningar och diarré i stressiga perioder, behandlas då med dietfoder och ranitidin (Zantac).

***Får hunden någon form av kosttillskott (t ex glukosaminoglukaner, lactobaciller)?***

- ja       nej

Tre hundar fick någon form av tillskott och nio fick inte.

***Om ja, vad för tillskott?***

En hund fick tokosel, en hund plaque off och en hund fick vetegroddsolja.

***Hur bor hunden?***

- Hundgård       Inomhushund       Med fler hundar       Ensamhund

- Övriga husdjur, *isåfall vilka?*

Ingen av hundarna bodde i hundgård. Fem av hundarna bodde inomhus som enda hund och fyra inomhus med fler hundar i samma hushåll. Två hundar bodde med hundar och andra djur och en hund bodde med annat djur än hund. De djur som förekom var fåglar, reptiler och katt.

***Ställs hunden ut? Tävlrar hunden?***

- ja       nej

Fyra hundar ställdes ut, åtta blev inte utställda.

***Om ja, hur ofta?***

Stor variation.

***Går hunden på hunddagis?***

ja    nej

Ingen av hundarna gick på hunddagis.

***Om ja, vad heter hunddagiset?***

Se ovan.

***Har hunden mycket kontakt med andra hundar? Beskriv hur.***

Alla hundar hade mycket kontakt med andra hundar, antingen genom att det bodde fler hundar hemma, vid promenader och speciella lekkamrater.

***TACK!!!!!!***

***För din medverkan!***

## ***Bilaga 2.***

### ***Sammanställning av journaler och histopatologiskt resultat***

#### **Hundar med symptom på gastrointestinal sjukdom**

##### P1.

Tik, strävårig tax, 2 år.

*Anamnes:* Har kräcks i minst 2 månader, ca en gång i veckan. Kräks oftast skum och har tappat i vikt. Har stått på diet för känslig mage samt att utfodra tidig morgon och sen kväll. Provbehandlad med omeprazol ca en månad innan biopsitagning.

*Röntgendiagnos och ultraljudsdiagnos:* Utan anmärkning.

*Blodprov:* Samtliga blodparametrar inom normalintervall.

*Träckprov:* ej taget

*Gastroskopi:* inga makroskopiska förändringar.

*PAD:* Måttlig ytlig eosinofil gastrit, kronisk ospecifik duodenit med lymfangiektasi.

##### P3.

Hanhund, 3 år.

*Anamnes:* Har haft problem med magen sedan ägare fick hunden vid ca 6 månaders ålder. Avföringen är alltid lösare än normalt, och hunden får ibland även kräkningar och diarré. Enligt ägaren uppkommer symptomen ofta i samband med stress. Kräkningarna har innehållit både blod och galla, och diarrén är oftast blodig och slemmig, eller mörkbrun-svart. Även när hunden är bra i magen defekerar den mycket ofta, upp till 6 ggr/promenad. Hunden har tappat i vikt och har hudproblem. Ägaren har provat dieter speciellt för känslig mage och lågallergifoder som ej har fungerat särskilt bra. Ägaren ger aloe vera-juice som hon tycker har lindrat symptomen något.

*Röntgen/ultraljud:* Avvaktar ultraljudssvar.

*Blodprov:* Samtliga blodparametrar inom normalintervall.

*Träckprov:* Inga parasiter eller parasitägg påvisade.

*Gastroskopi:* Inga makroskopiska förändringar påvisade.

*PAD*: Normal magslemhinna, normal duodenalslemhinna, måttlig kronisk ospecific kolit.

#### P4.

Tik, Cocker spaniel, 4 år.

*Anamnes*: Hunden har kräcks i drygt en månad, det debuterade efter att den ätit sopor. Kräks framförallt galla. Behandlad med omeprazol och sukralfat. Kräktes upp litet föremål efter gastroskoperingen.

*Ultraljudsdiagnos*: Corp al i magsäck kan ej uteslutas då det finns gas i ett område i pylorus.

*Blodprov*: Samtliga blodparametrar inom normalintervall.

*Träckprov*: ej taget

*Gastroskopi*: Gräs och slem sågs vid gastroskopin, misstanke fanns att det kan dölja corp al. I duodenum sågs två mindre erosioner.

*PAD*: Mild-måttlig kronisk ospecific gastrit, normal duodenalslemhinna.

#### P5.

Hankastrat, Amerikansk cocker spaniel, 2 år.

*Anamnes*: Började få problem med kräkningar för ca 7 månader sedan, blev någon månad senare lös i magen med blod och slem. Kräks oftast på morgonen och ofta är det lite galla i det som kommer upp. Har även haft problem med generell klåda och otit. Stått på diet för känslig mage. Blev behandlad med metronidazol (Flagyl) och cimetidin (Acinil) i 20 dagar i två omgångar, senaste två månader innan gastroskoperingen, med viss klinisk förbättring lite bättre, framförallt under behandlingen med metronidazol. Påbörjade behandling med enrofloxacin (Baytril.vet) 7 dagar innan gastroskopieringen. Inkom till SLU med symptom på hemorrhagisk gastroenterit och behandlades med amoxicillin, enrofloxacin och omeprazol dagarna före första gastroskopin. Hunden undersöktes med endoskop två gånger med två månaders mellanrum och åt lågallergent foder däremellan. Var bra i magen men trött de första veckorna efter gastroskopieringen, sedan återkom de gastrointestinala problemen. Hunden provbehandlades med prednisolon men blev inte kliniskt bättre och två veckor efter den andra gastroskoperingen avlivades den på grund av ständig trötthet och nedstämdhet.

*Röntgen/ultraljud*: utan anmärkning.

*Blodprov*: Hypoproteinemi (44, normalintervall 54-72 g/L) samt hypoalbuminemi (22, normalintervall 28-37 g/L) vid första provtagningstillfället, vid andra provtagningstillfället inom normalintervall, då istället förhöjd folsyra (73, normalintervall 15-45 nmol/l).



*Träckprov:* Inga parasiter eller parasitägg påvisade.

*Gastroskopi 1:* Inga makroskopiska förändringar påvisade i magsäcken, rikligt med slem i duodenum.

*Gastroskopi 2:* (40 dagar efter gastroskopi 1): Inga makroskopiska förändringar påvisade.

*PAD 1:* Mild kronisk ospecifik gastrit, eosinofil duodenit, kronisk kolit

*PAD 2:* (40 dagar efter PAD 1): Kronisk ospecifik gastrit, eosinofil duodenit.

## P6.

Hanhund, Flatcoated retriever, 2 år.

*Anamnes:* Regurgitationer/kräkningar som hunden haft under hela sitt liv, enligt ägaren kommer vatten och mat upp utan bukkontraktioner. Hunden kräks varje till varannan dag, ibland direkt efter foder eller vattenintag och ibland flera timmar senare. Innehållet i kräkningarna varierar, ibland mat som är halvsmält eller osmält, ibland gult slem. Avföringen är mörk, ofta slemmig, och vanligen mjuk men ibland lösare och hunden defekerar ofta, ca 5-6 gånger dagligen. Ofta rapar hunden upp luft och den har även borborygmi. Diet för känslig mage har inte hjälpt. Hunden var pigg men mager och blev sent könsmogen. Hundens symptom minskade, men försvann inte efter behandling mot *Campylobacter* (med erytromycin) och avmaskning.

*Röntgen:* utan anmärkning.

*Blodprov:* Samtliga blodparametrar inom normalintervall.

*Träckprov:* Växt av *Campylobacter* spp påvisad. Riklig mängd *Toxocara canis*.

*Gastroskopi:* Irriterad magsäcksslemhinna, röda partier främst i fundusdelen. Mycket galla i magsäcken, på grund av synlig reflux.

*PAD:* Mild kronisk ospecifik colit, normal magsäcksslemhinna, normal duodenalslemhinna.

## P7.

Tik, West Highland white terrier, 2 år.

*Anamnes:* Hundens problem började med klåda för lite knappt 2 år sedan. Hudproblemen har behandlats med milbemycinoxim och prednisolon och senare imidakloprid/moxidectin, då man misstänkt parasiter. Klådan återkom, framför allt på tassarna, när prednisolon sattes ut och hunden fick också dermatit i samband med det. Pricktest är gjort utan positivt utslag. Ägaren har provat med lågallergen diet, under tiden på den dieten började hunden ha mörk, slemmig diarré (nio månader sedan) och tappa i vikt. Hunden började kräkas för 2-3 månader sedan, kräkningarna är

intermittenta och kommer inte vid någon speciell tid eller tillfälle. I samband med kräkningarna har hunden också borborygmi.

*Ultraljudsdiagnos:* Dubbelväggad gallblåsa, klinisk signifikans ej känd.

*Radiologisk diagnos:* Utan anmärkning.

*Blodprov:* Hypoproteinemi (48, normalintervall 54-72 g/L) och hypoalbuminemi (26, normalintervall 28-37 g/L). Låg folsyra (11, normalintervall 15-45 nmol/l).

*Träckprov:* Parasiter eller parasitägg ej påvisade. Salmonellabakterier eller campylobakterbakterier ej påvisade.

*Gastroskopi:* Inga makroskopiska förändringar påvisade.

*PAD:* Mild kronisk ospecifik gastrit, eosinofil duodenit.

P8.

Hanhund, Shetland sheepdog, 8 år.

*Anamnes:* Kräkningar framförallt på morgonen sedan ca 1 år. Kräkningarna är ofta vitslemmiga och innehåller galla men avföringen är för det mesta normal, ibland lite lösare. Provat diet med lågallergent foder samt diet för känslig mage, och prednisolon, utan klinisk förbättring.

*Ultraljudsdiagnos:* Utan anmärkning.

*Blodprov:* Samtliga blodparametrar inom normalintervall.

*Träckprov:* Parasiter eller parasitägg ej påvisade.

*Gastroskopi:* Inga makroskopiska förändringar påvisade.

*PAD:* Eosinofil gastrit och duodenit

### ***Bilaga 3.***

#### ***Undervisningshundar***

##### Hund A.

Tik, Beagle, 10 år.

*Gastroskopi:* Enstaka erosioner, svår att utvärdera då hunden hade rester av skoskydd i magsäcken.

*PAD:* Mild ytlig eosinofil gastrit, normal duodenalslemhinna.

##### Hund B.

Hane, Beagle, 9 år.

*Gastroskopi:* Ingen uppgift.

*PAD:* Högradig kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ, normal duodenalslemhinna.

##### Hund C.

Hane, Beagle, 7 år.

*Gastroskopi:* Inga makroskopiska förändringar påvisade.

*PAD:* Högradig kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ, normal duodenalslemhinna.

##### Hund D:

Hane, Beagle, 9 år.

*Gastroskopi:*

*PAD:* Högradig kronisk ospecifik gastrit, kronisk ospecifik duodenit.

##### Hund E:

Hane, Beagle, 7 år.

*Gastroskopi:* Vulstig, lättblödande slemhinna med tydlig kärlteckning i fundusområdet. Ej möjligt att komma ut i duodenum.

*PAD:* Kronisk ospecifik gastrit av follikulär typ, högradig i fundusregionen. Inga biopsier tagna från duodenum.