

**Seroprevalens av antikroppar mot
Encephalitozoon cuniculi
hos friska tamkaniner**

Anneli Eriksson

**Handledare: Anna Lundén
Inst. för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap**

**Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet**

**Examensarbete 2007:68
ISSN 1652-8697
Uppsala 2007**

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SUMMARY	1
SAMMANFATTNING	1
INLEDNING	2
BAKGRUND	2
SYFTE	4
MATERIAL OCH METOD	5
PROVTAGNING	5
SEROLOGISK ANALYS	5
RETROSPEKTIV STUDIE	6
RESULTAT	7
DISKUSSION.....	10
SLUTSATS.....	11
TACK.....	11
LITTERATURFÖRTECKNING.....	12

BILAGOR:

1: ÄGARMEDGIVANDE

2: REMISS

SUMMARY

The aim of this study was to determine the prevalence of antibodies against the intracellular protozoan *Encephalitozoon cuniculi* in healthy pet rabbits. Encephalitozoonosis is an important differential diagnosis to ascending infection with *Pasteurella multocida* in the ears since a common symptom is vestibular syndrome. Samples were collected from healthy rabbits that were brought to an animal clinic in Stockholm for some kind of prophylactic procedure. The samples were analysed by an India-ink Immunoreaction test / Carbon Immunoassay. Of 106 rabbits 7 (6.6%) were seropositive. This can be compared to studies in other countries where they have found seroprevalences of 23-93%. No obvious predisposing factor such as breed, age, gender or background was identified. Comparison of the studied population to a randomly chosen population of rabbits with symptoms of encephalitozoonosis showed that the studied population had a markedly lower average age and a larger proportion of males.

SAMMANFATTNING

Studiens syfte var att undersöka prevalensen av antikroppar mot den intracellulära protozon *Encephalitozoon cuniculi* hos friska tamkaniner. Encephalitozoonos är en viktig differentialdiagnos till ascenderande *Pasteurella multocida*-infektion i öronen eftersom ett vanligt symptom är vestibulärt syndrom. Prover samlades från friska kaniner som kom till en djurklinik i Stockholm för någon profylaktisk åtgärd. Proverna analyserades med en s.k. tuschtest (India-ink immunoreaction test / Carbon Immunoassay). Av 106 undersökta kaniner hade 7 (6,6%) antikroppar mot *E. cuniculi*. Detta kan jämföras med utländska studier där man funnit seroprevalenser på 23-93%. Någon tydlig predisponerande faktor som ras, ålder, kön eller ursprung kunde inte identifieras. Vid en jämförelse mellan studiepopulationen och en slumpvis utvald grupp kaniner med misstänkt encephalitozoonos kunde man dra slutsatsen att studiepopulationen hade en betydligt lägre genomsnittlig ålder och en sned könsfördelning med tydlig överrepresentation av hanar.

INLEDNING

Bakgrund

Att ha kanin som husdjur tycks bli allt vanligare i Sverige och därmed ser vi dem också allt oftare på våra djurkliniker. En vanlig orsak till att kaninägare uppsöker veterinär är att kaninen har svårt att hålla balansen och verkar ”snurrig”, vilket vi på fackspråk brukar benämna vestibulärt syndrom.

De två vanligaste differentialdiagnoserna bakom vestibulärt syndrom är encephalitozoonos samt otitis media / interna och dessa två går ej att skilja åt kliniskt. För att försöka differentiera diagnoserna finns möjlighet att ta ett serologiskt prov för kontroll av förekomst av antikroppar mot *Encephalitozoon cuniculi*, den encelliga parasit som ger upphov till encephalitozoonos. Definitiv diagnos kan dock bara ställas vid obduktion med histopatologisk undersökning av inneröra och hjärna (Harcourt-Brown, 2002).

Encephalitozoon cuniculi är en obligat intracellulär protozo tillhörande gruppen microsporidier. Den är oval till formen och mäter cirka 1,5 x 2,5 µm. Tidigare kallades organismen *Nosema cuniculi* och därav hör man ibland infektionen benämnas ”nosematos”. Encephalitozoonos beskrevs hos laboratoriekaniner första gången 1922 av Wright och Craighead. Det är i huvudsak kaniner som infekteras men det finns rapporter om infektion hos gnagare, apa, hund, katt, räv, gris, får och get. Även människa kan infekteras så sjukdomen skall betraktas som en potentiell zoonos. Dock är det framförallt immunsupprimerade individer såsom AIDS-patienter som riskerar att drabbas (Harcourt-Brown, 2002; Harcourt-Brown och Holloway, 2003; Keeble och Shaw, 2006).

Organismen är relativt motståndskraftig i miljön. Den kan överleva minst 6 veckor i 22°C och torr miljö men bara mindre än en vecka i 4°C (Harcourt-Brown, 2002). Den är känslig för de vanligast förekommande desinfektionsmedlen, kokning samt autoklavering (Waller, 1979).

Smitta sker huvudsakligen via oralt intag av sporer som utsöndras med urinen och kontaminerar foder och vatten. I gastrointestinkanalen kommer sporer i kontakt med mukosan och invaderar makrofager. Spridning sker därefter via blodet ut till målorganen lever, njurar och centrala nervsystemet samt även hjärta och lungor. Sporerna förökar sig i intracellulära vakuoler och slutligen rupturerar cellen och sporer svämmar ut i vävnaden och infekterar nya celler (Cox et al., 1979; Harcourt-Brown och Holloway, 2003; Keeble och Shaw, 2006). Vävnadsskadan som uppstår ger en kronisk inflammation som leder till granulombildning vilket kan resultera i granulomatös interstitiell nefrit, fokal interstitiell granulomatös hepatit, granulomatös interstitiell pneumoni och fokal nonsuppurativ granulomatös meningoencephalit beroende på var i kroppen lesionen uppstår (Percy och Barthold, 1993). Vanligast är lesioner i njurarna och centrala nervsystemet (Harcourt-Brown och Holloway, 2003). Transplacent smitta har också beskrivits liksom respiratorisk smitta via inhalation av sporer (Cox et al., 1979; Baneux och Pognan, 2002). Det finns teorier om att organismen kan invadera linsen hos kaninungar som smittas *in utero*. I ett senare skede kan organismerna rupturera linsen och linsmaterial läcka ut i främre ögonkammaren vilket leder till uveit (Stiles et al.; 1997; Wolfer et al., 1993).

Infektion med *E. cuniculi* kan antingen leda till klinisk sjukdom, att kaninen blir asymptomatisk smittbärare eller att kaninens immunförsvar eliminerar infektionen. Av denna anledning kan man med ett enda positivt prov från en kliniskt frisk kanin inte avgöra hur infektionen kommer att fortlöpa (Keeble och Shaw, 2006). Symptomen hos en kliniskt sjuk kanin beror på lesionernas lokalisering, men de vanligast förekommande är vestibulärt syndrom (Figur 1), urininkontinens, bakdels pares och främre uveit (Stiles et al., 1997).



Figur 1: Kanin med vestibulärt syndrom (Foton från Wikipedia.de)

Efter infektion dröjer det tre till fyra veckor innan antikroppar mot *E. cuniculi* kan detekteras och efter nio veckor är antikropps-nivån som högst. Detta innebär att ett enda negativt prov inte kan utesluta en nylig infektion hos en frisk kanin. Ett nytt prov bör tas fyra veckor senare för att utesluta att det första provet togs innan kaninen hunnit serokonvertera. Däremot kan ett negativt prov taget på en kanin med kliniska symptom utesluta encephalitozoonos som bakomliggande orsak till symptomen (Keeble och Shaw, 2006). Maternella antikroppar passerar till avkomman och persisterar till fyra veckors ålder. Kaninungarna smittas lätt vid kontakt med den infekterade honan och serokonvertering som svar på en aktiv infektion sker vid åtta till tio veckors ålder. Vid transplacental smitta sker serokonvertering också vid åtta till tio veckors ålder. Således är ungarna seronegativa mellan fyra och åtta veckors ålder även om de är infekterade (Lyngset, 1980). Det tycks inte vara undersökt hur lång tid antikroppar kvarstår i serum efter genomgången naturlig infektion. Däremot finns det en studie av Sobottka et al. (2001) i vilken man injicerat kaniner subkutant med inaktiverade *E. cuniculi*-sporer. Syftet med studien var att undersöka möjligheterna att framställa hyperimmunt serum från kaniner för eventuell framtida utveckling av vaccin mot olika *Encephalitozoon spp.* för människor och då främst AIDS-patienter. Kaninerna följdes upp med serologiska prover under 35 månader och under hela denna period kvarstod antikroppar i serum. Med hjälp av en matematisk modell baserad på titerkurvorna förutspåddes att antikroppar skulle kunna kvarstå i cirka 7 år. Detta innebär att man borde kunna förvänta sig en hög antikropps-nivå i åtminstone 2-3 år efter en naturlig infektion. Vid andra infektionssjukdomar är en hög antikropps-nivå indikativt för en aktiv eller nyligen genomgången infektion. Detta tycks alltså inte gälla för infektion med *E. cuniculi* (Donnelly, 2006).

Encephalitozoonos behandlas med varierande strategier och resultat. *E. cuniculi* är känslig för albendazol, fenbendazol och oxytetracyclin. Vissa författare förespråkar behandling med kortikosteroider för att dämpa den inflammatoriska processen vid akuta neurologiska symptom. Denna behandling kan dock vara kontraindicerad på grund av kortikosteroidernas immunsupprimerande effekt. För kaniner som uppvisar vestibulärt syndrom bör behandling med albendazol eller fenbendazol kombineras med antibiotika eftersom det kliniskt inte går att utesluta en ascenderande *Pasteurella multocida*-infektion i mellanörat. Vissa fall tycks tillfriskna utan behandling vilket indikerar att kaninens immunförsvar kan bekämpa infektionen (Harcourt-Brown och Holloway, 2003).

Hos försökskaniner är encephalitozoonos ett problem eftersom sjukdomens inverkan på kroppsfunktionerna kan störa de experimentella studier kaninerna används i. Av denna anledning görs regelbundna serologiska undersökningar avseende förekomst av *E. cuniculi* i försöksdjursbesättningar. Waller (1979) undersökte prevalensen av *E. cuniculi* hos 200 försökskaniner från sex olika svenska institutioner och frekvensen seropositiva individer varierade mellan 9 och 89% med ett medelvärde på 21,5%.

Det är inte känt hur spridd smittan är bland sällskapskaniner i Sverige och hur vanligt det är att friska sällskapskaniner bär på antikroppar mot parasiten. Detta innebär att när man tar ett serologiskt prov på en kanin med vestibulärt syndrom och erhåller ett svar som visar på förekomst av antikroppar mot *E. cuniculi*, kan man inte vara säker på att det verkligen är parasiten som orsakar sjukdomen. Kaninen kan vara sjuk av en mellanöreinflammation och bära på antikroppar mot parasiten sedan den smittats tidigare i livet utan att parasiten orsakar sjukdom just nu.

Syfte

Syftet med den föreliggande studien var att undersöka hur vanligt förekommande det är att friska sällskapskaniner i Sverige bär på antikroppar mot *E. cuniculi*. Dessutom genomfördes en retrospektiv studie av förekomsten av antikroppar mot *E. cuniculi* hos kaniner med kliniskt misstänkt encephalitozoonos, för att jämföra seroprevalensen bland misstänkta fall med den för kliniskt friska kaniner. Resultatet av dessa undersökningar kan förhoppningsvis underlätta klinikerns bedömning av hur förekomst av antikroppar mot *E. cuniculi* ska tolkas när hon/han står inför en kaninpatient med vestibulärt syndrom eller andra symptom som kan tyda på encephalitozoonos (Figur 2).



Figur 2. Veterinär med kaninpatient

MATERIAL OCH METOD

Provtagning

Djurmaterialet som användes i studien bestod av 106 friska sällskapskaniner av varierande ras, ålder och kön som besökte Djurkliniken Roslagstull i Stockholm för någon profylaktisk åtgärd under narkos, som exempelvis kastration och tandslipning, under perioden februari till september 2007. Kaninernas ägare fick skriftlig information om syftet med studien och om hur provtagningen skulle gå tillväga. Därefter fick de ge sitt skriftliga medgivande om de samtyckte till att deras kanin deltog i studien (se bilaga 1). Ägarna fick dessutom ange kaninens, ras, ålder, kön samt om de köpt kaninen i zooaffär eller motsvarande, av privatperson som fött upp kaninen, från en stor kaninuppfödning eller ange annat alternativ.

I samband med narkosen togs ett blodprov, ca 0,1-0,2 ml, ur en öronven. Blodet droppades på ett filterpapper och fick därefter torka. Fördelen med att låta provet torka in på filterpapper är att det kan sparas under mycket lång tid utan att förstöras. Varje prov märktes med kaninens namn och patientnummer och skickades sedan tillsammans med remiss (se bilaga 2) och ägarmedgivande till Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA), Avdelningen för parasitologi.

Serologisk analys

Proverna analyserades med ”India-ink immunoreaction test” (IIR) enligt Waller (1979), även kallad ”Tusch-test Kanin”. I utländsk litteratur benämns analysen ibland ”Carbon Immunoassay” (CIA). Metoden baserar sig på att kolpartiklarna i tuschet (India-ink, Testman Uppsala) fäster till IgG-molekyler. Patientserum blandas med tusch och hela, avdödade *E. cuniculi*-organismer (Encephalitozoon antigen) på ett objektglas och undersöks i ljusmikroskop. Om kaninens serum innehåller IgG-molekyler riktade mot *E. cuniculi* bildas en svart ring av tusch runt parasiterna eftersom de är omgivna av IgG-molekyler (Figur 3).



Figur 3. Encephalitozooner omgivna av tuschpartiklar (Foto lånat med tillstånd från Intervet.de / Nikola Pantchev, Germany)

Nedan beskrivs analysmetoden steg för steg enligt metodbeskrivningen ”Tusch-test Kanin” (Statens Veterinärmedicinska Anstalt, 1996).

- 500 µl PBS pipetteras upp i ett glaströr.
- Från det blodindränkta filterpapperet stansas en rundel, 8 mm i diameter, ut med hjälp av en håltång. Den utstansade biten läggs i glaströret med PBS och lämnas att stå i rumstemperatur i 1 timme.
- Röret inkuberas därefter i ett vattenbad, 56°C, i 30 minuter.
- Filterpappersbiten plockas upp ur glaströret med hjälp av en träpinne.
- Glaströret centrifugeras med 214 x g i 10 minuter.
- Supernatanten (serumet) pipetteras över till Ellermanrör.
- Serumet spädes 1:10 och 1:20 med PBS.
- 10 µl serum samt lika mycket av de båda spädningarna droppas på tre olika objektsglas. Positiv respektive negativ kontroll droppas på varsitt objektsglas. Kontrollerna spädes ej.
- 10 µl tusch droppas på varje objektsglas.
- 10 µl antigen droppas på varje objektsglas.
- På varje objektsglas blandas serum/kontroll med tusch och antigen med hjälp av ett täckglas vardera som efter blandningen lämnas att täcka på respektive objektsglas.
- Preparaten undersöks direkt i ljusmikroskop, 40x-lins är tillräckligt.

Fynden skattas enligt en tvågradig skala:

- Positiv: Antikroppar påvisade mot *Encephalitozoon cuniculi*.
- Negativ: Antikroppar ej påvisade mot *Encephalitozoon cuniculi*.

Anledningen till att serumet spädes 1:10 samt 1:20 är att ett väldigt högt innehåll av IgG i det utspädda serumet kan ge ett falskt negativt resultat. I dessa fall fås ett korrekt resultat i spädning 1:10 eller 1:20. (Personligt meddelande, Bodil Christensson, biomedicinsk analytiker, SVA, Avd. för parasitologi, maj 2007).

Retrospektiv studie

För den jämförande studien mellan studiepopulationen och en population med misstänkt encephalitozoonos plockades 50 journaler från sådana fall ut slumpvis från Djurkliniken Roslagstulls journalhanteringssystem. En sökning på ordet ”cuniculi” resulterade i en lista med 141 journaler. Från denna lista plockades varannan journal ut. De journaler i vilka ordet bara nämndes men inget prov tagits hoppades över, liksom de journaler där ordet nämndes i samband med provtagning till denna studie, och istället togs nästa journal i listan.

RESULTAT

Provsvar erhöjls från 106 kliniskt friska kaniner och 50 kaniner med misstänkt encephalitozoonos. I den kliniskt friska gruppen ingick 77 hanar och 29 honor. Den vanligaste rasen var dvärgvädur (68 st; Figur 4), och den näst största gruppen var av okänd ras med 19 representanter (Tabell 2). Femtiofyra kaniner i den friska gruppen var under ett år gamla och 16 stycken var ett år gamla. Totalt var 80 kaniner 2 år eller yngre och endast 14 kaniner 3 år eller äldre. Tolv kaniner hade okänd ålder (Tabell 3). Femtioen kaniner kom från zooaffär eller motsvarande och 32 kaniner kom från privat uppfödning (Tabell 4).

Sju av de 106 kliniskt friska kaninerna var seropositiva, en av dessa var av honkön och sex av hankön (Tabell 1). Fyra var av rasen dvärgvädur och tre av okänd ras (Tabell 2). Fem kaniner var under ett år gamla, en var ett år och en var två år gammal (Tabell 3). Sex kaniner kom från zooaffär eller motsvarande och en kom från en privat uppfödning (Tabell 4).

Könsfördelningen i gruppen med misstänkt encephalitozoonos var 18 honor och 32 hanar (Tabell 1). Tjugofem av kaninerna var av rasen dvärgvädur och 20 av okänd ras (Tabell 2). I denna grupp var endast 11 kaniner under ett år gamla, 18 stycken var 2 år eller yngre, och 30 stycken var 3 år eller äldre. Två hade okänd ålder. Ursprunget var inte känt för kaninerna i denna grupp.

Av dessa 50 kaniner med misstänkt encephalitozoonos var 28 seropositiva. Tolv av de seropositiva kaninerna var av honkön och 16 av hankön (Tabell 1). Sjutton var av rasen dvärgvädur och åtta av okänd ras (Tabell 2). Fem av de seropositiva kaninerna var under ett år gamla och totalt nio stycken var 2 år eller yngre, 18 kaniner var 3 år eller äldre. En hade okänd ålder (Tabell 3).

Seroprevalensen bland de kliniskt friska kaninerna var 6,6% och bland de med misstänkt encephalitozoonos 56%.

Tabell 1. Könsfördelning samt antal positiva inom respektive kön i den kliniskt friska gruppen och gruppen med misstänkt encephalitozoonos

Kön	Kliniskt friska		Misstänkt encephalitozoonos	
	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)
Hona	29	1 (3,4)	18	12 (67)
Hane	77	6 (7,8)	32	16 (50)
Totalt	106	7 (6,6)	50	28 (56)

Tabell 2. Rasfördelning samt antal positiva inom respektive ras i den kliniskt friska gruppen och gruppen med misstänkt encephalitozoonos

Ras	Kliniskt friska		Misstänkt encephalitozoonos	
	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)
Dvärgvädur	68	4 (5,9)	25	17 (68)
Fransk vädur	2	0	0	0
Dvärgkanin	7	0	2	2 (100)
Hermelin	5	0	1	0
Löwen	2	0	0	0
Gotlandskanin	1	0	0	0
Belgisk jätte	1	0	0	0
Angorakanin	0	0	1	0
Blandras	1	0	1	1 (100)
Okänd ras	19	3 (15,8)	20	8 (40)
Totalt	106	7 (6,6)	50	28 (56)



Figur 4. Dvärgvädur (Bild från Wikipedia.se.)

Tabell 3. Åldersfördelning samt antal positiva i respektive ålderskategori i den kliniskt friska gruppen och gruppen med misstänkt encephalitozoonos

Ålder (år)	Kliniskt friska		Misstänkt encephalitozoonos	
	Antal	Positiva (%)	Antal	Positiva (%)
< 1	54	5 (9,3)	11	5 (45)
1	16	1 (6,3)	2	1 (50)
2	10	1 (10)	5	3 (60)
3	4	0	9	7 (78)
4	4	0	5	2 (40)
5	1	0	7	4 (57)
6	2	0	5	4 (80)
7	0	0	2	1 (50)
8	3	0	1	0
9	0	0	1	0
okänd	12	0	2	1 (50)
Totalt	106	7 (6,6)	50	28 (56)

Tabell 4. Ursprungsfördelning samt antal positiva inom respektive ursprungskategori i den kliniskt friska gruppen

Ursprung	Kliniskt friska	
	Antal	Positiva (%)
Zooaffär el. motsv.	51	6 (11,2)
Privat uppfödning	32	1 (3,1)
Stor kaninuppfödning	8	0
Annat ursprung	15	0
Totalt	106	7 (6,6)

DISKUSSION

Materialet i denna studie utgörs till stor del av unga hankaniner vilket kan förklaras med att det är den vanligaste patientkategorin som kommer till kliniken för profylaktiska åtgärder (kastration). Gruppen med misstänkt encephalitozoonos har en större andel äldre kaniner och större andel honor än studiepopulationen. Studiepopulationen motsvarar alltså inte patientkategorin som visar symptom på encephalitozoonos och är därför inte helt representativ.

Rasen dvärgvädur är klart överrepresenterad i både studiepopulationen och den misstänkt sjuka populationen. Bakgrunden till detta tycks vara att det är en mycket populär och vanlig ras och troligtvis inte att rasen är predisponerad för infektion med *E. cuniculi*. Sex av sju seropositiva kaniner i studiepopulationen var köpta från zooaffär eller motsvarande. Det var också det vanligaste ursprunget sett till hela studiepopulationen vilket kan förklara överrepresentationen i den seropositiva gruppen. En annan förklaring kan vara att det förekommer mer smitta i zooaffärer där många kaniner passerar. Zooaffärerna kanske köper in sina kaniner från några få stora uppfödare som har utbredd smitta i sina avelsbesättningar.

Seroprevalensen av antikroppar mot *Encephalitozoon cuniculi* var mycket låg (6,6%) i denna studie jämfört med flera utländska studier i vilka man har undersökt prevalensen av antikroppar mot *E. cuniculi* hos sällskapskaniner. Keeble och Shaw (Storbritannien, 2006) testade 97 kliniskt friska sällskapskaniner serologiskt för förekomst av antikroppar mot *E. cuniculi*. Femtio kaniner (52%) var seropositiva. Harcourt-Brown och Holloway (Storbritannien, 2003) testade 125 sällskapskaniner varav 38 var symptomlösa och 87 hade renala, neurologiska eller okulära symptom indikativa för encephalitozoonos. Av de symptomlösa kaninerna provtogs 26 stycken som en del i en hälsoundersökning och av dessa var sex kaniner (23%) seropositiva. De resterande 12 symptomlösa kaninerna provtogs p.g.a. att de bodde ihop med seropositiva artfränder. Av dessa 12 var åtta kaniner (66%) seropositiva. Lyngset (Norge, 1980) undersökte en avelsbesättning för förekomst av antikroppar mot *E. cuniculi*. Besättningen bestod av 51 honor och 15 hanar. Den hade ursprungligen importerats från England 1972 och hade varit stängd sedan dess. Trettiofyra (67%) av honorna och 14 (93%) av hanarna var seropositiva. Vid en andra provtagning 7-9 veckor senare hade ytterligare tre honor serokonverterat. Enligt vad som framgår i artikeln var inga kaniner i den undersökta besättningen sjuka. Orsaken till den låga prevalensen i den här studien kan vara att studiepopulationen inte var helt representativ avseende ålder och kön, eller så är smittoläget i Sverige bättre än i andra länder. Andra tänkbara orsaker är att antalet undersökta kaniner är begränsat och att dessa kommer från ett begränsat geografiskt område i Sverige (Stockholmsregionen).

Det finns en tydlig skillnad i prevalens mellan den kliniskt friska gruppen (6,6%) och gruppen med misstänkt encephalitozoonos (56%). Detta ger en indikation om att om man har en patient med misstänkta symptom på infektion med *E. cuniculi* och som dessutom har serologiskt påvisbara nivåer av antikroppar mot parasiten kan man vara relativt säker på att det verkligen rör sig om encephalitozoonos. I en tysk studie (Ewringmann och Göbel, 1999) av 125 seropositiva sällskapskaniner visade 51 kaniner (41%) kliniska symptom på encephalitozoonos.

Analysmetoden bygger på en relativt subjektiv okulär bedömning vilket är en svaghet då det finns risk för felbedömning. Dock är det förhållandevis lätt att se skillnad mellan positiva och negativa prover och man kan alltid jämföra med sin positiva och negativa kontroll. Boot et al. (2000) har gjort en studie i vilken man jämförde olika analysmetoder för detektion av antikroppar mot *E. cuniculi*. Metoderna som jämfördes var två olika indirekta immunofluorescensanalyser (IIF), två olika ELISA-analyser samt tuschtesten (India-ink immunoreaction test / Carbon immunoassay). Till analyserna användes serum från 210 kaniner varav 135 kom från känt infekterade besättningar och de resterande från icke infekterade besättningar. Resultatet av jämförelsen blev att det inte fanns några statistiskt signifikanta skillnader mellan analysmetoderna. Författarnas slutsats var att samtliga av de jämförda analysmetoderna är lämpliga att använda vid rutinmässiga hälsoundersökningar av försöksbesättningar, vilket stämmer överens med Federation of European Laboratory Animal Science Associations rekommendationer.

SLUTSATS

Med viss försiktighet kan man av denna studie dra slutsatsen att det är relativt ovanligt att kliniskt friska, framför allt yngre, kaniner bär på antikroppar mot *E. cuniculi*. Det kan också konstateras att det finns en stor sannolikhet att en kanin, som både uppvisar symptom på encephalitozoonos och bär på antikroppar mot parasiten, verkligen är drabbad av encephalitozoonos.

Ytterligare undersökningar krävs för att kunna fastställa den verkliga spridningen av parasiten i tamkaninpopulationen. I en sådan studie vore det intressant med ett större djurmaterial med större spridning i åldersfördelningen och från ett större eller flera olika geografiska områden. Vidare vore det intressant att följa upp kaniner med symptom och påvisad förekomst av antikroppar som behandlas framgångsrikt och se hur länge antikroppar kvarstår i serum. Det vore önskvärt att obducera de patienter som inte svarar på behandling och dör eller avlivas för att fastställa om de hade en pågående infektion med *E. cuniculi* eller ej.

TACK

Jag vill framföra ett stort tack till all personal på Djurkliniken Roslagstull som tagit alla prover och därigenom gjort denna studie möjlig att genomföra. Vidare vill jag tacka min handledare Anna Lundén för stöd och goda råd och min familj och mina vänner för deras uppmuntrande ord.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Baneux, P. J. R. & Pognan, F. 2002. In utero transmission of *Encephalitozoon cuniculi* strain type 1 in rabbits. *Lab. Anim.* 37, 132-138.
- Boot, R. et al. 2000. Comparison of assays for antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in rabbits. *Lab. Anim.* 34, 281-289.
- Christensson, B. Personligt meddelande, maj 2007. Statens Veterinärmedicinska Anstalt. Avdelningen för parasitologi, Uppsala.
- Cox, J. C. et al. 1979. An investigation of the route and progression of *Encephalitozoon cuniculi* infection in adult rabbits. *J. Protozool.* 26, 260-265.
- Donnelly, T. M. 2006. Application of Laboratory Animal Immunoassays to Exotic Pet Practice. *Exotic DVM* 8:4, 19-26.
- Ewringmann, A. & Göbel T. 1999. Untersuchungen zur Klinik und Therapie der Encephalitozoonose beim Heimtierkaninchen. *Kleintierpraxis* 44, 357-372.
- Harcourt-Brown, F. M. 2002. Textbook of Rabbit Medicine. Oxford: Alden. ISBN: 0750640022.
- Harcourt-Brown, F. M. & Holloway, H. K. R. 2003. *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits. *Vet. Rec.* 152, 427-431.
- Keeble, E. J. & Shaw, D. J. 2006. Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 158, 539-544.
- Lyngset, A. 1980. A survey of serum antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in breeding rabbits and their young. *Lab. Anim. Sci.* 30, 558-561.
- Percy, D. H. & Barthold, S. W. 1993. Rabbit. Parasitic diseases. In *Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits*. Ames: Iowa State University Press. Pp 210-217.
- Sobottka, I. et al. 2001. Acute and long-term humoral immunity following active immunization of rabbits with inactivated spores of various *Encephalitozoon* species. *Parasitol. Res.* 87, 1-6.
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt. 1996. Avdelningen för Parasitologi. Uppsala. Instruktion för diagnostik, "Tuschtest Kanin".
- Stiles, J. et al. 1997. *Encephalitozoon cuniculi* in the lens of a rabbit with phacoclastic uveitis: confirmation and treatment. *Vet. Comp. Ophthalmol.* 7, 233-238.
- Waller, T. 1979. Serology and Sensitivity of *Encephalitozoon cuniculi* in Relation to Diagnosis and Control of Encephalozoonosis in Domestic Rabbits. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala.
- Wolfer, J. et al. 1993. Phacoclastic uveitis in the rabbit. *Prog. Vet. Comp. Ophthalmol.* 3, 92-97.

Till ägare av kanin som ska sövas för åtgärd på Djurkliniken Roslagstull

Som examensarbete på veterinärutbildningen gör jag en studie där vi undersöker förekomsten av antikroppar mot en parasit (*E. cuniculi*) hos sällskapskaniner.

För att detta ska kunna genomföras krävs blodprover från ett relativt stort antal kaniner och därför undrar jag om vi får ta ett blodprov från din kanin idag när den ändå är sövd och inte märker något av provtagningen. Mängden blod som tas från kaninen kommer att vara obetydlig.

Provtagningen kommer inte att påverka den tid din kanin hålls sövd eller behöver stanna här på kliniken. Konvalescensen eller eftervården kommer inte heller att påverkas. Självklart betalar du inget extra för provtagningen!

Resultatet av undersökningen kommer att vara värdefullt för veterinärer vid diagnosticering av parasitsjukdomen i framtiden.

Tack för din hjälp! / Anneli Eriksson vet. stud. åk. V

JA, jag tillåter att ett blodprov tas från min kanin när den är sövd.

NEJ, jag tillåter **inte** att blodprov tas från min kanin när den är sövd.

Datum: _____

Underskrift

Namnförtydligande: _____

Kaninens namn: _____

Jag har köpt kaninen:

- I en zooaffär eller motsvarande
- Av en privatperson som fött upp kaninen
- Från en stor kaninuppfödning
- Annat alternativ, ange vad: _____

Remiss E. cuniculi-studie

Fördjupningsarbete vet. stud. Anneli Eriksson åk 5-6

OBS!
Bifoga
ägarmedgivandet!

Ägarens namn:

Adress:

Telefonnummer:

Kaninens namn:

P-nummer:

Född datum:

Kön:

Ras:

Orsak till besöket på kliniken:

Föreligger klinisk misstanke om encephalitozoonos? Ja / Nej (ringa in)

PROVTAGNINGSDATUM: _____

.....
Provtagningsinstruktion:

Ta blodprov från hals- eller öronven, ca 0,1-0,2 ml. Droppa blodet på ett filterpapper märkt med kaninens p-nr. Låt torka och lägg därefter filterpappret i zip-påse märkt med kaninens p-nr.

Häfta ihop zip-påsen, remissen och ägarmedgivandet och lägg i särskilt fack för dessa prover.

En gång per månad skickas de samlade proven i vadderat svarskuvert till SVA, parasitologen.

Frågor? Ring Anneli: 0704-15 28 24

Tack för hjälpen!