

Förekomst av *Giardia* i symtomfria valpkullar

Andreas Florén

**Handledare: Johan Höglund
Inst. för BVF, parasitologi**

**Biträdande handledare: Gunilla Trowald-Wigh
Inst. för Kirurgi och medicin, smådjur**

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	2
Summary	2
Inledning	3
Bakgrund.....	3
Syfte	3
Litteraturstudie.....	4
Nomenklatur	4
Morfologi	4
Livscykel.....	5
Patogenes	5
Kliniska symtom	6
Giardia som zoonos?.....	6
Diagnostik.....	7
Direktutstryk	7
Zinksulfatflotation	8
Duodenalt aspirat	8
Stringmetoden.....	8
Immunofluorescens.....	8
ELISA	9
Genotypning.....	9
Behandling	9
Vaccination	11
Prevalens internationellt	11
Material och metoder	14
Urval	14
Prover.....	14
Analyser	14
Aqua-Glo Giardia/Cryptosporidium Direct (Waterborne inc.) (metod 1).....	15
Genotypning.....	15
Prospect® Giardia Microplate Assay	15
Resultat	16
Diskussion.....	18

SAMMANFATTNING

Flagellaten *Giardia intestinalis* kan orsaka diarréer hos hundar och människor. Epidemiologiska studier tyder på att människor kan smittas av hundar men detta är ännu inte bevisat. Flera internationella studier har visat att parasiten är frekvent förekommande hos symtomfria hundar i många länder. I Sverige är dock prevalensen av *Giardia* hos symtomfria hundar inte känd.

I denna studie samlades avföringsprover vid två tillfällen från 21 valpkullar samt 21 tikar utan gastrointestinala symtom. Samlingsprover togs från valpkullarna och individuella prover från tikarna. Samtliga prover analyserades både med ett kommersiellt immunofluorescenskit (Waterborne Cyst-a-Glo Kit) och en ELISA (ProSpect *Giardia* Microplate Assay).

7 av 21 (33 %) valpkullar samt 2 av 21 (9,5 %) tikar i studien bar på parasiten. 3 av de positiva proverna skickades till Smittskyddsinstitutet för genotypning med PCR för att kunna bedöma isolatens eventuella zoonotiska potential. Samtliga prover visade sig tillhöra genotypgrupper som aldrig påträffats hos människor. En jämförelse av analysmetoderna visade att ELISA är en känsligare metod för att påvisa *Giardia* än vad immunofluorescens är.

Resultaten tyder på att *Giardia* är vanligt förekommande hos symtomfria svenska valpar vilket gör det svårt att bedöma ett positivt provsvar i en klinisk situation.

SUMMARY

The flagellate *Giardia intestinalis* has been known to cause diarrhea in both man and dog. Results from epidemiological studies have indicated that transmission of the parasite from dog to man is plausible even though that route of infection has yet to be shown. Several international studies have shown that the parasite frequently occurs in asymptomatic dogs. In Sweden the prevalence of *Giardia* in healthy dogs is not known though. In this study, faecal samples were collected at two separate occasions from 21 litters and 21 bitches showing no symptoms from the gastrointestinal tract. The samples from each litter were pooled but the samples from the bitches were analyzed individually. All of the samples were analyzed both by immunofluorescence (Waterborne Cyst-a-Glo Kit) and an ELISA test (ProSpect *Giardia* Microplate Assay).

7 out of 21 (33 %) litters and 2 out of 21 (9.5 %) bitches in this study was harboring the parasite. 3 of the positive samples were sent to the Swedish Institute for Infectious Disease Control (SMI) where they were classified based on genotype in order to evaluate their zoonotic potential. All the analyzed samples belonged to genotypic group C and D that have never been shown to be able to infect humans.

When comparing the two methods used in this study to detect *Giardia* it was evident that ELISA is a more sensitive method than immunofluorescence.

The results indicate that *Giardia* is a common parasite in the bowel of asymptomatic Swedish puppies. This is a complicating factor as it makes it rather difficult to assess positive test results in a clinical environment.

INLEDNING

Bakgrund

Giardia intestinalis (synonymt med *Giardia duodenalis* och *Giardia lamblia*) är en flagellat som kan orsaka diarréer både hos hund och hos människa men även hos de flesta andra däggdjur. Faktum är att *Giardia* är den vanligaste endoparasiten som drabbar människor världen över, särskilt i utvecklingsländer (Greene, 2006). I Sverige rapporteras ungefär 1500 humanfall av *Giardia* per år. Nedsatt immunförsvar är en predisponerande faktor och de symtom som ses förutom diarré är buksmärtor och illamående. Giardiasis är en anmälningspliktig sjukdom hos människa. När svenskar drabbas är det framförallt i samband med resor i Asien, Afrika och Latinamerika enligt smittskyddsinstitutets hemsida (Giardiainfektion Smittskyddsinstitutet, 2007).

Vad gäller hundar i Sverige är det relativt få fall av giardiasis som diagnosticeras varje år. Hur många symptomfria bärare det finns är dåligt utrett. I en svensk studie från 1990 som omfattande 62 hundar fann man att 10 av 30 valpar men inga vuxna hundar bar på *Giardia* (Castor och Lindqvist, 1990). Studien omfattade både symptomfria hundar och sådana som uppvisade symtom från gastrointestinkanalen, men ingen signifikant skillnad i förekomst av *Giardia* sågs mellan grupperna.

Internationellt är *Giardia* en av de vanligast förekommande endoparasiterna hos hund (Irwin, 2002). Många prevalensstudier utomlands har visat på en hög förekomst av *Giardia* hos symptomfria hundar och då i synnerhet hos unga hundar och valpar (Bugg *et al.*, 1999; Jacobs *et al.*, 2001; Díaz *et al.*, 1995; Capelli *et al.*, 2003; Rimhanen-Finne *et al.*, 2007; Fontanarrosa *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007 m.fl.). Förekomst av *Giardia* hos upp till 51 % av hundarna har rapporterats i vissa studier (Ponce-Macotela *et al.*, 2005). Det är inte fullt utrett hur stor risken är för att människor ska smittas med parasiten från sina husdjur. Det är faktiskt inte ens bevisat att hundar kan smitta människor med *Giardia* även om epidemiologiska studier starkt tyder på detta (Traub *et al.*, 2004).

Ett problem som den kliniskt arbetande veterinären kan ställas inför är att avgöra hur relevant ett fynd av *Giardia intestinalis* är hos en patient med diarré. Det vill säga beror patientens kliniska symtom på giardiainfektionen eller är det frågan om ett bifynd? Frågan blir naturligtvis ännu svårare att besvara om prevalensen hos asymtomatiska smittbärare är okänd. Om förekomsten av *Giardia* inom ett område är låg är fynd av parasiten hos ett djur med diarré mer anmärkningsvärt. Om däremot exempelvis hälften av hundarna inom ett område bär på *Giardia* utan att för den skull uppvisa symtom, kommer varannan hund med gastrointestinala besvär av annan orsak än *Giardia* att urskilja parasiten med avföringen.

Syfte

Syftet med denna studie var att undersöka hur vanligt förekommande *Giardia intestinalis* är i Uppsala län hos valpkullar som inte uppvisar symtom från

gastrointestinalkanalen. Dessutom jämfördes känsligheten hos två olika analysmetoder som kan användas för att påvisa *Giardia intestinalis* i träckprov.

LITTERATURSTUDIE

Nomenklatur

Giardia är ett släkte encelliga flagellater inom understammen Mastigophora. Släktet förekommer i tarmkanalen hos ett flertal olika värddjur. Tidigare beskrevs ofta en ny *Giardia*-art så fort parasiten påträffades hos ett nytt djurslag. Detta ledde till en lång rad arter, exempelvis *G. canis* hos hund, *G. cati* hos katt, *G. bovis* hos nötkreatur och *G. equi* hos häst. Denna indelning har man frångått då det har visat sig att isolat tillhörande samma genotypsgrupp kan infektera olika djurslag.

I nuläget delas släktet *Giardia* upp i: *G. agilis* (amfibier), *G. muris* (gnagare), *G. psittaci* och *G. ardeae* (fåglar) samt *G. intestinalis* (övriga däggdjur). *G. intestinalis* är synonymt med *G. lamblia* och *G. duodenalis*. Samtliga dessa former förekommer frekvent i litteraturen (Conboy, 1997). Arten *G. intestinalis* indelas i sin tur i ett antal genotyper (Appelbee *et al.*, 2005). Genotyper tillhörande grupp A och B är de som potentiellt skulle kunna vara zoonoser, eftersom dessa infektera och orsaka sjukdom hos olika däggdjur, däribland hund och människa. Även grupp C och D drabbar bl.a. hundar, men det finns inga rapporter om förekomst hos människa. Grupp E som bl.a. förekommer hos gris, nötkreatur, get och får, liksom grupp F som finns hos katt och råtta, infekterar varken hund eller människa (Appelbee *et al.*, 2005). När *Giardia* nämns i texten nedan avses *G. intestinalis* om ingenting annat uppges.

Morfologi

Giardia upptäcktes för första gången när Anton van Leeuwenhoek undersökte sin egen avföring med mikroskop 1681. Morfologiskt genomgår *Giardia* två levnadsstadier i sin livscykel, dels den rörliga trofozoiten och dels det tåligare vilostadiet, cystan. Cystorna är ovala till formen och mäter 9-13 x 7-9 µm. I färgade preparat kan de inre strukturerna urskiljas. Cystorna innehåller vanligen 2-4 kärnor och strukturer som kommer att bilda flageller och fästplattor.

Trofoziterna är något större (12-17 x 7-10 µm) och är droppformade med en konkav fästplatta på ventralsidan (Conboy, 1997). Fästplattan används för adhesion till tarmväggen (Greene, 2006). Varje trofozoit innehåller två kärnor, två mediankroppar samt har 8 flageller. Trofozoiternas inre strukturer gör att parasiten i 400x-förstoring ser ut som en glad gubbe (*Fig 1.*). I ofärgade preparat syns dessa strukturer inte lika tydligt (Conboy, 1997).

Flagellerna används av trofozoiten för att simma vilket ger en virvlande rörelse när den förflyttar sig (Greene, 2006). Trofozoiterna klarar sig dåligt utanför värddjuret och dör snabbt efter att ha utsöndrats med avföringen (Conboy, 1997). Cystorna är relativt känsliga för uttorkning men kan överleva upp till flera månader om det är svalt och fuktigt (Greene, 2006).

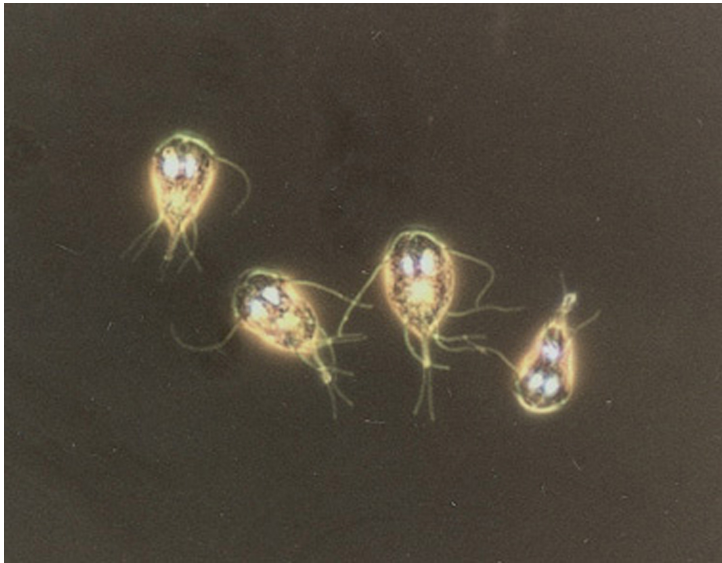


Fig 1. *Giardiatrofozoiter* (<http://www.smittskyddsinstitutet.se/>)

Livscykel

Överföring av *Giardia* kan ske både direkt mellan olika djur, eller indirekt via intag av kontaminerad mat och/eller vatten. Smittvägen är dock alltid fekal-oral (Cacciò *et al.*, 2005). Från varje intagen cysta, som är infektiös direkt när den utsöndras med träcken, frisätts två trofozoiter efter kontakt med magsyra och pankreasenzymer i duodenum. De mogna trofozoiterna fäster till mikrovilli i tunntarmsepitelet eller delar sig asexuellt i lumen. Lokalisationen hos hund är främst i duodenum och jejunum. Hypoteser finns avseende huruvida kliniska respektive symtomfria infektioner koloniserar olika delar av tunntarmen. Även foderstaten anses av vissa författare påverka var i tunntarmen infektionen får sitt fäste (Greene, 2006).

När miljön är ogynnsam för parasiten omvandlas trofozoiten till en cysta. Var i tarmen detta sker och de bakomliggande mekanismerna är dock inte kända i detalj. Prepatensperioden är mellan 5 och 12 dagar, med ett medelvärde på 8 dagar. I kliniska fall kan cystor börja urskiljas redan någon dag efter det att de kliniska symtomen debuterat. Klinisk sjukdom är vanligast hos unga eller immunosupprimerade individer samt i flerhundhushåll och kennlar (Greene, 2006).

Patogenes

En snabbare omsättning av epitelceller i samband med infektion bl.a. genom inducerad apoptos leder till kortare trubbiga villi med ofullständigt differentierade enterocyter som dessutom har kortare mikrovilli. Detta ger en kraftigt minskad absorptionsyta i tarmen. Andra förändringar inkluderar försämrad barriärfunktion i tarmepitelet med ökad permeabilitet som följd (Buret, 2007).



Fig 2. Giardiatrofozoiter som adhererar till tarmväggen (www.gsdhelpline.com)

Inga patognomona histologiska förändringar har hittats i samband med giardiainfektion hos hund (Greene, 2006). Ovanstående i kombination med att de trofozoiter som fäster till tunntarmsväggen (Fig 2) hindrar näringsupptaget fysiskt leder till olika grad av malabsorption (Astiazarán-García *et al.*, 2000). Studier på humansidan har visat att hypersekretion av kloridjoner i tunntarmen är en annan mekanism som bidrar till diarré i samband med giardiainfektion (Troeger *et al.*, 2007).

Kliniska symtom

Giardiainfektioner hos hundar förlöper oftast subkliniskt, men kan ibland ge kraftiga akuta eller kroniska diarréer. Även intermittenta och lindrigare diarréer förekommer (Conboy, 1997). Allvarligast symtom hos människor ses hos immunosupprimerade individer (Hackett *et al.*, 2003). Hos hundar är unga valpar den grupp som oftast drabbas av klinisk giardiasis i form av akut tunntarmsdiarré. Viktförlust sekundärt till diarrén förekommer men drabbade djur blir sällan inappetenta (Greene, 2006).

Giardia som zoonos?

Isolat tillhörande genotypgrupperna A och B har hittats hos hund. Det är också dessa genotypgrupper som normalt orsakar diarréer hos människa vilket pekar på en möjlig zoonosrisk (Irwin, 2002). Att isolat tillhörande samma genotypgrupper har hittats hos både människa och hund är dock i sig inget bevis för att överföring dem emellan har skett. Zoonosrisken anses vara störst för stammar tillhörande genotypgrupp A, men även grupp B antas kunna vara en potentiell zoonos (Thompson *et al.*, 2000). Grupp A delas i sin tur in i grupp A-I och A-II. *Giardia* tillhörande grupp A-II har dock ännu så länge enbart hittats hos människa (Greene, 2006).

Epidemiologiska data visar att den främsta smittspridningen till människor är från andra smittade människor och att överföringen i de allra flesta fall sker via kontaminerat dricksvatten eller kontaminerad mat (Robertson *et al.*, 2000). Andra epidemiologiska studier tyder dock på att zoonotisk överföring kan ske mellan hundar

och människor som lever nära tillsammans (Traub *et al.*, 2004). Att hundar kan smittas av humana stammar har dock nyligen visats i en brasiliansk studie (Rosa *et al.*, 2006). Sex hundar infekterades experimentellt med *Giardia intestinalis* som isolerats från människa. Hos samtliga försöksinfekterade hundar detekterades cystor i träcken inom en vecka efter inokuleringen. Ingen av hundarna uppvisade dock några symtom från gastrointestinalkanalen. I en svensk studie undersöktes 15 djurägare till valpar hos vilka *Giardia* påvisats, men samtliga prover från djurägarna var negativa (Castor och Lindqvist, 1990). Det är okänt vilka genotyper som valparna bar på.

Förekomsten av olika *Giardia*-genotyper hos hundar har undersökts i flera studier med varierande resultat. I en finsk (Rimhanen- Finne *et al.*, 2007) respektive ungersk studie (Szénási *et al.*, 2007) rapporterades enbart hunds specifika genotyper, medan 87 % av de positiva proverna hos hund tillhörde genotypgrupp A i en tysk studie (Leonhard *et al.*, 2007).

Diagnostik

Flera diagnostiska metoder kan användas för att påvisa *Giardia*. Samtliga bygger på direkt eller indirekt detektion av trofozoiter eller cystor i värdjurets avföring, eller i prov som tagits direkt från tunntarmen. De vanligaste metoderna samt ett par andra metoder som främst har använts i försökssyften redovisas nedan.

I och med att cystorna utsöndras intermittent i avföringen räcker det i allmänhet inte med ett prov för att kunna utesluta förekomst av *Giardia* spp. i tarmen. Hanson och Cartwright (2001) rekommenderar därför undersökning av minst två prov som bör tas med några dagars mellanrum, medan Conboy (1997) rekommenderar tre prover under 7 till 10 dagar. I och med att det är mycket vanligt med symptomfria smittbärare är det också viktigt att komma ihåg att förekomst av *Giardia* vid diarré inte nödvändigtvis behöver betyda att det är parasiten som är den bakomliggande orsaken (Irwin, 2002). Hos hundar med diarré tenderar dock både trofozoiter och cystor vara ett vanligare fynd, medan enbart cystor dominerar i normal avföring (Conboy, 1997). Payne *et al.* (2002) såg i en studie stor variation i antalet cystor i avföringen vid olika provtagningstillfällen utan att de kliniska symtomen för den skull hade förändrats nämnvärt.

Direktutstryk

Direktutstryk som går ut på att en liten mängd färsk (max 20 min gammal) träck löses upp i en droppe NaCl och därefter undersöks med mikroskop är både den snabbaste, billigaste och enklaste diagnostiska metoden. Trofozoiterna hittas enklast genom att leta efter rörelser från parasitens flageller i vätskan vid 100X förstoring (Conboy, 1997). Att påvisa trofozoiterna i utstryk är dock svårt även för erfarna mikroskopister (Conboy, 1997; Irwin, 2002). Metoden har därför en låg sensitivitet vilket innebär att det inte går att utesluta infektion även om provsvaret är negativt (Irwin, 2002).

Zinksulfatflotation

Internationellt är centrifugering och flotation med zinksulfat följt av direktmikroskopering en av de vanligaste metoderna för att påvisa *Giardia*. Ofta rekommenderas det att upp till tre prover som tas vid olika tillfällen analyseras som ett samlingsprov (Greene, 2006). Eftersom giardiacystor utsöndras intermittent är skillnaden i sensitivitet stor om flera separata prover från olika tidpunkter analyseras. Om endast ett prov undersöks är sensitiviteten för zinksulfatflotation 70 % medan den stiger till 93 % efter två analyser (Hackett *et al.*, 2003).

Duodenalt aspirat

I försök har man undersökt aspirat från proximala duodenum som tagits med hjälp av endoskopi (Irwin 2002). Att leta efter trofozoiter i aspirat visade sig dock inte ha signifikant högre sensitivitet än zinksulfatflotation och metoden är dessutom betydligt krångligare (Irwin, 2002). Andra studier har visat att metoden är känsligare än zinksulfatflotation om endast ett prov tas (Greene, 2006). Flotation har dock fördelen av att det är betydligt enklare att undersöka flera prover. Duodenalt aspirat för påvisande av *Giardia* kliniskt är inget som utförs i någon större utsträckning (Greene, 2006).

Stringmetoden

På människa används bl.a. i USA ett så kallat peroralt string-test, Det rör sig om en kapsel som sitter fästad i en nylonlina och som sväljs ned. Efter att kapseln nått duodenum dras den upp igen och provmaterial fås således direkt från tunntarmen. Denna provtagningsmetod har visat sig fungera bra på humansidan (Greene, 2006). Vid försök på hund har dock stringmetoden inte visat sig vara känsligare än zinksulfatflotation och i vissa fall har den dessutom orsakat tarmobstruktion (Irwin, 2002).

Immunofluorescens

De kommersiella kit som finns för detektion av giardiacystor genom infärgning med fluorescerande monoklonala antikroppar är validerade för undersökning av human faeces. Metoden har dock visat sig fungera bra även för att detektera hundspecifika isolat (Hackett *et al.*, 2003). Försök med får och nötkreatur har visat att immunofluorescens har en högre sensitivitet än zinksulfatflotation, särskilt i prover med en låg koncentration cystor (Greene, 2006). Hackett *et al.* (2003) utförde en prevalensstudie på hund i vilken proverna analyserades med både ett kommersiellt immunoflourescenskit och med direktmikroskopi efter zinksulfatflotation. En jämförelse av resultaten visade att samtliga prover som var positiva med zinksulfatflotation även var positiva med immunofluorescens. Dessutom detekterades 2,3 % fler positiva prov med immunofluorescens. En fördel med immunofluorescensmetoden är att cystorna i avföringsprov förändras morfologiskt med tiden. Detta gör att det kan vara svårt att identifiera cystorna med flotationstekniker medan de fluorescerande cystorna fortfarande är relativt lätta att påvisa (Greene, 2006).

ELISA

Det finns flera ELISA-kit för diagnostisering av giardiainfektion hos människa. Även om dessa kit primärt är avsedda för humant bruk, har det visat sig att de fungerar bra även för att detektera antigen från djurspecifika *Giardia*-genotyper (Rimhanen-Finne 2007). ELISA-metoden bygger på att man detekterar ett specifikt protein (GSA65) som bildas när trofozoiter delar sig. Förekomst av trofozoiter i tarmen måste dock inte innebära att detta protein produceras och cystor kan urskiljas utan att trofozoiterna delar sig (Payne *et al.*, 2002). Det omvända förhållandet kan också vara sant, d.v.s. proteinet kan utsöndras utan att det finns cystor i avföringen. Enligt Rimhanen-Finne *et al.* (2007) är ELISA (ProSpect *Giardia* Microplate Assay) en känsligare metod för att detektera låga koncentrationer av *Giardia* jämfört med immunofluorescens (Waterborne Cyst-a-Glo Kit). I samma studie noteras dock en god korrelation mellan ELISA- och immunofluorescensmetoden vid undersökning av ospädda prover.

När Payne *et al.* (2002) jämförde ELISA med direkt påvisande efter zinksulfatflotation såg de en stor andel falskt negativa prover (32 %) med ELISA. Dock diagnosticerades 5 % av proverna som positiva med ELISA trots att inga cystor hittades med hjälp av flotation. I en annan jämförande studie där symptomfria hundar undersöktes, visade det sig att 7,5 % av proverna var positiva med zinksulfatflotation, medan hela 59 % var positiva med ProSpects ELISA-test (Szénási *et al.*, 2007). Hanson och Cartwright (2001) kom fram till att även om sensitiviteten för ELISA-analysen var bättre i förhållande till mikroskoperingsmetoderna, var den inte tillräckligt hög för att det skulle räcka att endast analysera ett prov per patient.

Flera studier har alltså visat att sensitiviteten hos ELISA metoden är högre både i förhållande till immunofluorescens- och zinksulfatflotationsmetoden. Vissa författare anser dock att sensitiviteten inte är så pass mycket högre att det är motiverat att ersätta den billigare zinksulfatflotationsmetoden (Conboy, 1997).

Genotypning

Varken med immunofluorescensmetoder eller med ELISA kan man skilja mellan olika genotyper av *G. intestinalis*. Vid sekvensering efter DNA extraktion följt av PCR kan man däremot differentiera mellan olika genotypsgrupper inom arten *Giardia intestinalis*. Metoden bygger på att man kartlägger sekvensskillnader i betagiardin-genen med hjälp av restriktionszymer (Caccio *et al.* 2002). På så sätt går det att bedöma om någon zoonosrisk föreligger när *Giardia* diagnosticerats hos hund, d.v.s. om det är frågan om genotypgrupp A eller B. Enligt en amerikansk studie är både genotypgrupp A och B vanligt förekommande hos hundar (van Keulen *et al.*, 2002). Även andra studier pekar på att genotypsgrupp A är spridd inom hundpopulationen i vissa områden (Leonhard *et al.*, 2007).

Behandling

Det finns ingen behandlingsstrategi eller något läkemedel som är hundra procentigt effektiv mot *Giardia* hos hund. De flesta rapporter angående olika preparats

effektivitet baseras dessutom inte på om parasiten försvinner från gastrointestinkanalen, utan på hur cysturskiljning i avföringen påverkas (Greene, 2006). I dagsläget finns inget preparat som är registrerat för behandling av giardiasis hos djur i Sverige (FASS vet, 2007). På humansidan finns däremot imidazolderivatet metronidazol (Flagyl® m.fl.) och tinidazol (Fasigyn®) registrerade (FASS, 2007).

Tidigare användes främst metronidazol för att behandla giardiainfektioner även hos djur, trots flera potentiella bieffekter som kräkningar, letargi, anorexi och neurologiska störningar samt risk för teratogena effekter när substansen ges till dräktiga tikar (Payne *et al.*, 2002). Flera studier har dessutom visat att behandling med metronidazol har sämre effekt mot giardiasis än vissa bensimidazoler varför man numera i första hand använder dessa istället. Ytterligare ett skäl att inte behandla parasiten med metronidazol, förutom att bidra till ökad bakteriell resistensutveckling, är att man i flera humanfall har sett att *Giardia* utvecklat resistens mot substansen ifråga (Greene, 2006).

Bensimidazoler verkar genom att hämma bildningen av mikrotubuli hos parasiterna. Fenbendazol är en bensimidazol som har visat sig ha god effekt *in vitro* mot *Giardia* och anses vara säker att använda, även till unga valpar och dräktiga tikar (Morgan *et al.*, 1993; Katiyar *et al.*, 1994). Kliniskt har substansen visat sig vara effektiv mot *Giardia* vid en dosering av 50 mg/kg en gång per dag under tre dagar *per os* när behandlingen kombineras med bad av hundarna och desinfektion av miljön (Zajac *et al.*, 1998). Det enda registrerade läkemedlet i Sverige idag innehållande fenbendazol är Axilur® vet. Ovanstående dosering är densamma som den som rekommenderas för behandling mot andra endoparasiter av tillverkaren. Axilur® vet är dock ej registrerat för behandling mot *Giardia* (FASS vet, 2007)

En annan behandling som visat sig effektiv är kombinationsbehandling med febantel (25-35mg/kg), prazikvantel (5-7mg/kg) och pyrantel (5-7mg/kg) som ges en gång per dag under 3-5 dagar (Barr *et al.*, 1998). Drontal® comp vet. och Drontal® comp Forte vet. är exempel på preparat som innehåller samtliga dessa substanser men då som avmaskningsmedel för hund. Indikation mot *Giardia* saknas alltså. I kombinationen är det framförallt febantel som anses ha effekt mot *Giardia* men dubbla den av tillverkaren angivna dosen för kombinationspreparatet krävs för att nå den dos av febantel som rekommenderas för effekt mot *Giardia* (FASS vet., 2007). Febantel metaboliseras i levern till de aktiva substanserna fenbendazol och oxfendazol och har därmed en liknande effekt som övriga bensimidazoler. Oxfendazol har dock förmodligen endast en marginell effekt på parasiten (Barr *et al.*, 1998). Förutom svårigheter att få till de rekommenderade doseringarna av de olika substanserna finns det jämförande studier som visar att behandlingseffekten med kombinationspreparatet i ovan angivna doser är sämre än vid behandling med fenbendazol (Miró *et al.*, 2007).

Albendazol är ett annat bensimidazolderivat med relativt god effekt mot *Giardia*. Pancytopeni till följd av benmärgsdepression är dessvärre en möjlig biverkning hos hund (Morgan *et al.*, 1993; Irwin, 2002). Dessutom misstänks albendazol ha

teratogena effekter (Greene, 2006). Albendazol finns i Sverige enbart registrerat för användning mot endoparasiter hos får (FASS vet., 2007).

Många hundar på liten yta ger ett högt smittryck, vilket markant ökar risken för reinfektion (Capelli *et al.*, 2003). I en studie fann man att förutom medicinsk behandling är badning av samtliga hundar i hushållet kombination med rengöring av miljön mycket viktigt för att förhindra recidiv (Payne *et al.*, 2002). Författaren rekommenderar dessutom att nya avföringsprover tas cirka tre veckor efter avslutad behandling och om hundarna fortfarande urskiljer cystor bör behandlingen och saneringen upprepas. Flera andra studier omfattande olika substanser och behandlingsregimer framhåller också att rengöring av miljön, bad av hundarna och andra hygienåtgärder är oerhört viktiga för att förhindra recidiv (Greene, 2006). Det kan ibland vara mycket svårt sanera omgivningarna eftersom cystorna är mycket tåliga.

Vaccination

Sedan några år tillbaka finns ett kommersiellt vaccin mot *Giardia intestinalis* (GiardiaVax®) på den amerikanska marknaden. Vaccinet är baserat på avdödade trofozoiter som isolerats från infekterade får (Olson *et al.*, 2000). Vaccinets effektivitet har utvärderats genom att jämföra etableringen hos vaccinerade och ovaccinerade valpar som inokulerades intraduodenalt med trofozoiter. Fem veckor efter vaccination sågs signifikanta skillnader vad gäller uppvisande av kliniska symtom som diarré och viktförluster mellan de båda grupperna. Diarré sågs hos hälften av hundarna i den ovaccinerade gruppen, medan endast 20 % i den vaccinerade gruppen uppvisade kliniska symtom. Dessutom var det färre asymtomatiska hundar som urskiljde cystor i den vaccinerade gruppen och de utsöndrade också cystor under en kortare tid (Olson *et al.*, 1997). En annan studie visade att valpar som vaccinerades vid sju och tio veckors ålder varken uppvisade några kliniska symtom eller urskiljde cystor sex respektive tolv månader senare när de exponerades för *Giardia* (Greene, 2006).

Förutom att vaccinet kan användas profylaktiskt har studier visat att GiardiaVax även kan vara ett behandlingsalternativ. Flera fall av kronisk giardiasis på hund där terapivikt har setts vid behandling med fenbendazol och metronidazol har avläkt efter vaccinering (Olson *et al.*, 2001). Payne *et al.* (2002) kunde däremot inte se någon skillnad i reinfektionsfrekvens mellan vaccinerade och ovaccinerade djur efter behandling av 16 naturligt infekterade hundar. Samtliga hundar i studien var dock redan infekterade vid vaccinationstillfället. Det finns andra studier som talar emot vaccinets effektivitet vid behandling av asymtomatisk giardiasis (Anderson *et al.*, 2004). Dessutom har det förekommit att hundar utan symtom men med cystor i avföringen utvecklat diarré efter att ha vaccinerats (Greene, 2006). *Giardia*-vaccin finns i dagsläget inte tillgängligt i Sverige (FASS vet, 2007).

Prevalens internationellt

Det finns flera utländska studier som beskriver prevalensen av *Giardia intestinalis* hos hund (Tab 1). Resultaten varierar dock stort och det finns rapporter om allt ifrån

0,1 % i Prag (Dubná *et al.*, 2007) till 51 % vintertid i Mexiko City (Ponce-Macotela *et al.*, 2005).

- Enligt en brasiliansk studie var 12 % av hundarna som undersöktes infekterade. Av de gatuhundar som ingick i studien var 18 % positiva för *Giardia* medan motsvarande siffra hos sällskapshundar bara var 5 %. En signifikant skillnad sågs mellan olika åldersgrupper, men till skillnad mot de flesta andra studier var det i denna studie mindre vanligt med *Giardia* hos unga hundar (Oliveira-Sequeira *et al.*, 2001).
- En spansk studie omfattande 1800 hundar som passerade igenom ett ”animal control center” i Cordoba detekterade endast 1 % positiva fall (Mártinez-Moreno *et al.*, 2007). Miró *et al.* (2007) fann att prevalensen för *Giardia intestinalis* hos gatuhundar i Madrid var 7 %. I en annan spansk studie som inkluderade 912 hundar i Granada var prevalensen 12 % totalt sett och 22 % hos de hundar som var yngre än sex månader (Díaz *et al.*, 1995).
- I en kanadensisk studie omfattande 1219 prover från hundar som besökte djursjukhus var prevalensen 7 %. Av de positiva proverna var 73 % från hundar under 1 år (Jacobs *et al.*, 2001).
- Prevalensen i Mexiko City var mellan 42 och 51 % beroende på årstid med flest positiva hundar vintertid (Ponce-Macotela *et al.*, 2005).
- I Buenos Aires i Argentina var prevalensen 9 %. Även här sågs en signifikant högre prevalens under vintern vilket man tolkade som en effekt av att förutsättningarna för cystöverlevnad är sämre under de varma, torra förhållanden som råder under sommaren (Fontanarrosa *et al.*, 2006).
- Under 2005 och 2006 undersöktes 472 hundar i Sydkorea med hjälp av ett ELISA-kit. 11 % av de hundarna i studien var positiva (Liu *et al.*, 2007).
- En tjeckisk studie visade att endast 0,1 % av prover insamlade i Prag var positiva, medan förekomsten i lantmiljö var 2,2 %. Cystor påvisades med hjälp av zinksulfatflotation. (Dubná *et al.*, 2007).
- Capelli *et al.* (2003) undersökte prevalensen av *Giardia* i norra Italien och fann parasiten hos 21 % av hundarna. Prevalensen var högre i hundgårdar (53 %) och hos de hundar som var under ett års ålder (50 %). Man såg även en signifikant högre förekomst av *Giardia* hos hundar som hade symtom från gastrointestinaltrakten jämfört med friska hundar. Hur stor andel av dessa hundar vars symtom kunde relateras till förekomsten av *Giardia* i tarmen utreddes inte vidare.
- Rimhanen-Finne *et al.* (2007) utförde nyligen en studie av 150 symtomfria hundar i Helsingfors genom att ta två prover med 5 till 7 dagars intervall.

Proverna analyserades både med immunofluorescens och med ELISA. Totalt 5 % av proverna var positiva. Även här sågs en signifikant högre andel *Giardia*-positiva (19 %) bland hundar under ett års ålder. De positiva proverna i denna studie genotypades dessutom och samtliga visade sig tillhöra grupperna C och D, det vill säga djurspecifika genotyper som aldrig har påträffats hos människa.

- I Perth, i västra Australien fann man att *Giardia* var den vanligast förekommande endoparasiten hos hundar med en prevalens på 22 % i en studie som omfattande 421 individer från olika miljöer (Bugg *et al.*, 1999). En högre prevalens sågs bl.a. hos valpar och i hushåll med flera hundar.
- I en amerikansk studie vid ett djursjukhus i Colorado detekterades *Giardia* hos 5 % av hundarna som inte hade diarré. Proverna analyserades med hjälp av immunofluorescens men endast ett prov togs från varje hund (Hackett *et al.*, 2003).
- I en stor rikstäckande norsk studie från 2007 påvisades *Giardia* hos mellan 6 % och 11 % beroende på hundarnas ålder. Flest positiva hundar fanns bland de hundar som var ungefär ett år gamla. I studien undersöktes även valpkullar vid en respektive två månaders ålder med hjälp av samlingsprover. Vid en månads ålder var 5 % av proverna positiva medan samtliga kullar var negativa en månad senare (Hamnes *et al.*, 2007)

Tabell 1. Sammanfattning internationell prevalens totalt (alla åldersgrupper)

Studie <i>et al.</i>	Land	Antal prover	Diagnostisk metod	Prevalens
Bugg <i>et al.</i>	Australien	421	Flotation	22 %
Capelli <i>et al.</i>	Italien	307	Flotation	21 %
Díaz <i>et al.</i>	Spanien	912	Flotation	12 %
Dubná <i>et al.</i>	Tjeckien, Prag	3780	Flotation	0,1 %
Dubná <i>et al.</i>	Tjeckien, landet	540	Flotation	2 %
Fontanarrosa <i>et al.</i>	Argentina	2193	Flotation	9 %
Hackett <i>et al.</i>	USA	130	IFA	5 %
Hamnes <i>et al.</i>	Norge	887*	Flotation & IFA	6-11 %
Jacobs <i>et al.</i>	Kanada	1206	ELISA & IFA	7 %
Liu <i>et al.</i>	Sydkorea	472	ELISA	11 %
Mártinez-Moreno <i>et al.</i>	Spanien	1800	Flotation	1 %
Miró <i>et al.</i>	Spanien	1161	Sedimentation Flotation &	7 %
Oliveira-Sequeira <i>et al.</i>	Brasilien	271	Sedimentation	12 %
Ponce-Macotela <i>et al.</i>	Mexiko, sommar	100	Obduktion	42 %
Ponce-Macotela <i>et al.</i>	Mexiko, vinter	100	Obduktion	51 %
Rimhanen-Finne <i>et al.</i>	Finland	300**	ELISA & IFA	5 %
Szénási <i>et al.</i>	Ungern	229	ELISA	59 %

* 1-4 prover per individ

** 2 prover per individ

MATERIAL OCH METODER

Urval

Eftersom relativt få fall av *Giardia* diagnosticeras hos hund i Sverige och en låg prevalens förväntades hos asymtomatiska individer, bestämdes att denna studie skulle fokuseras på den åldersgrupp som internationellt sett oftast bär på parasiten, nämligen valpar (Bugg *et al.*, 1999; Jacobs *et al.*, 2001; Díaz *et al.*, 1995; Capelli *et al.*, 2003; Rimhanen-Finne *et al.*, 2007; Fontanarro *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007 m.fl.).

Valpkullar i Uppsala län valdes således som urvalsgrupp. Initialt var tanken att urvalet skulle göras slumpmässigt. En lista över kennlar i Uppsala län användes för att slumpmässigt välja ut vilka kennlar som skulle kontaktas med en förfrågan om de ville delta i studien. Målet var att få ihop minst 20 kullar. Urvalet avslutades när 22 kennlar som för tillfället hade valpkullar eller hade valpkullar planerade under perioden (våren/försommaren 2007) hade accepterat erbjudandet. Tyvärr uteblev en stor andel av proverna då vissa djurägare glömde ta prover eller av olika skäl drog sig ur studien. Vi tvingades således att kontakta fler kennlar under hösten 2007. Urvalet av dessa var inte slumpmässigt eftersom färre kullar föds under hösten och det då inte gick det inte att få ett tillräckligt stort underlag att välja från.

Proverna insamlades när valparna var mellan 5 veckors ålder och fram till leverans då de i allmänhet är cirka 8 veckor gamla. De djurägare som deltog i studien fick ett provtagningspaket utskickat med provtagningsmateriel, en provtagningsinstruktion samt en kortare enkät med frågor om avmaskningsrutiner, allmän hälsostatus i kenneln, problem med diarréer i kenneln, utlandskontakter mm.

Prover

Två avföringsprover samlades in planenligt från 21 symtomfria valpkullar och deras tikar med cirka en veckas mellanrum under våren, sommaren eller hösten 2007. Från valpkullarna togs samlingsprov och från tikarna togs individuella prover. De yngsta valparna som deltog i studien var drygt 5 veckor gamla och de äldsta valparna var 10 veckor. Proverna insamlades av djurägaren, förpackades och skickades sedan till parasitologiska laboratoriet vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) med normal postgång. Inga prover togs på fredagar eller lördagar för att undvika att de skulle bli liggande på posten över helgen. Detta var särskilt viktigt eftersom många prover togs under sommaren då det torra varma vädret vissa dagar inte var gynnsamt för cystornas överlevnad. På parasitologen placerades inkomna prover i kyl i väntan på analys. Som längst förvarades proverna i två veckor innan de analyserades med metod 1 nedan. Kylförvaring i två veckor borde ej påverka resultatet (Marianne Lebbad smittskyddsinstitutet, personligt meddelande). Proverna frystes därefter in och analyserades senare efter upptining med metod 2.

Analyser

Tre analysmetoder användes i studien. Den första analysen utfördes med ett kommersiellt kit baserat på immunofluorescens (IF), Aqua-Glo *Giardia/Cryptosporidium* Direct (Waterborne inc.), varvid proverna analyserades

fortlöpande under hela insamlingsperioden. Den andra metoden var en ELISA som bygger på att man detekterar ett specifikt protein (se ovan). Slutligen, genotypades samtliga prover som var positiva efter undersökning med IF-metoden.

Aqua-Glo Giardia/Cryptosporidium Direct (Waterborne inc.) (metod 1)

Denna analysmetod är den metod som används rutinmässigt vid parasitologen för analys av träckprover med frågeställningen *Giardia intestinalis*. Kittet innehåller fluorescinerade monoklonala antikroppar mot cystor respektive oocystor från *Giardia lamblia* (syn *G. intestinalis*) och *Cryptosporidium parvum*. I ett positivt prov fäster antikropparna till cystornas väggar och får dem att lysa tydligt gröna när proverna undersöks i ett fluorescensmikroskop (Fig 3.). Prover innehållande en eller flera fluorescerande ovala cystor av samma storleksordning som den positiva kontrollen avseende *Giardia* klassades som positiva. *Cryptosporidium*-oocystor är runda, har ca en tredjedel så stor diameter och är således lätta att skilja från *Giardia*.

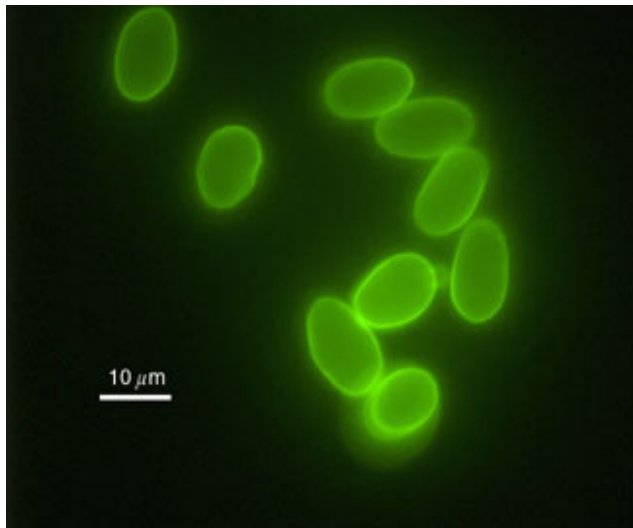


Fig 3. Fluorescerande giardiacystor (<http://www.water-research.net/>)

Genotypning

Från de prover som befanns positiva med immunofluorescens skickades material för genotypning med hjälp av PCR till Marianne Lebbad på Smittskyddsinstitutet (SMI). Dessvärre kan denna analys endast utföras på färskt material så ytterligare positiva prover som detekterades med ELISA kunde ej genotypas då dessa prover hade varit frysta.

Prospect® Giardia Microplate Assay

Ett kommersiellt ELISA-kit användes (Prospect ® *Giardia* Microplate Assay) för att analysera om samtliga prover som tidigare hade undersökts med immunofluorescens. Analysen detekterar GSA65 eller *Giardia* Specific Antigen, som är ett glykoprotein med en molekylvikt på 65 kDa. GSA65 bildas specifikt vid giardiainfektion när trofozoiten delar sig. Enligt tillverkaren diagnosticerar detta test cirka 50 % fler giardiainfektioner jämfört med metoder som går ut på att okulärt påvisa cystor eller

trofozoiter. Detta beror delvis på att GSA65 kan hittas i avföringsprover från smittade individer även när inga cystor eller trofozoiter utsöndras.

RESULTAT

Undersökningen visade att 33,3 % (7 av 21) av de valpkullar som deltog i studien var positiva för *Giardia* medan 9,5 % (2 av 21) av tikarna var det (Fig 4.). Även om denna skillnad synes stor gränsar den enbart till signifikans ($P < 0.05$), vilket har att göra med det begränsade undersökningsmaterialet (Tabell 3). Tendensen är dock precis som i andra studier att *Giardia* är vanligare i valpkullarna.

Tabell 2. Resultat

	Positiva	Negativa	Totalt	Procent positiva
Valpkullar	7	14	21	33,3%
Tikar	2	19	21	9,5%

Tabell 3. Statistisk jämförelse av förekomsten hos valpar respektive tikar

	Negativa	Positiva	Totalt
Count	0	1	
Row %			
Expected			
Cell Chi^2			
Tikar	19 90,48 16,5 0,3788	2 9,52 4,5 1,3889	21
Valpar	14 66,67 16,5 0,3788	7 33,33 4,5 1,3889	21
	33	9	42

Fisher's Exact Test

Right

Prob Alternative Hypothesis

0,0650 Prob(INF=1) is greater for Grupp=Valpar än Tikar

Test

Likelihood Ratio

ChiSquare

3,702

Prob>ChiSq

0,0543

Pearson

3,535

0,0601

Värt att notera är att *Giardia* ej påvisades hos valparna tillhörande en av de positiva tikarna. Inga valpar hade diarré vid provtagningstillfällena. De flesta djurägare avmaskade sina valpar med pyrantel (Banminth®) enligt tillverkarens rekommendationer. I tre av valpkullarna användes fenbendazol (Axilur®) som avmaskningsmedel till valparna. Inget prov från dessa kullar var positivt. Fyra tikar var avmaskade med fenbendazol och ingen av dessa var positiv för *Giardia*. I 7 av 8 kennlar där *Giardia* påvisades hade man haft någon form av utlandskontakt de senaste två åren. Antingen genom utlandsresor för parning eller genom import av

hundar. Motsvarande siffra för negativa kennlar var 5 av 13. Ingen djurägare ansåg att de hade några generella problem med diarréer i kenneln. En av kennelägarna skickade in separata prover från alla valpar. Dessa prover analyserades både separat och som ett samlingsprov. Samlingsprovet samt 5 av 6 av de enskilda proverna var positiva. Även uppföljande samlingsprov var positivt.

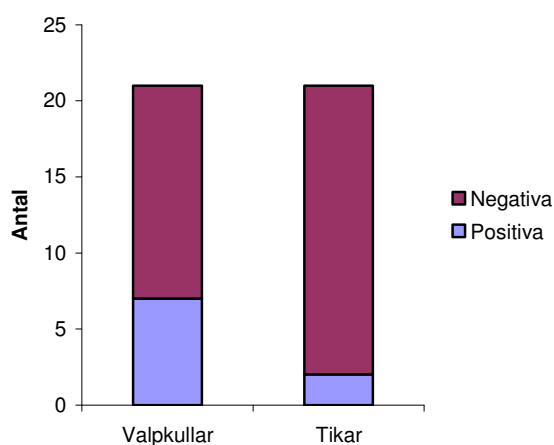


Fig 4. Andel positiva valpar respektive tikar

Resultaten från denna undersökning visar att ELISA är en känsligare analysmetod än immunofluorescens. Notabelt är att nästan tre gånger fler positiva avföringsprover (13 jämfört med 5) detekterades med ELISA. Samtidigt befanns samtliga prover som var positiva med immunofluorescens även positiva med ELISA (Fig 5). Sett till andelen kullar respektive tikar som klassades som positiva med någon av de båda metoderna, identifierades 75 % fler valpkullar (7 jämfört med 4) med ELISA. Bland tikarna var 2 positiva med ELISA medan ingen var positiv med hjälp av immunofluorescens (Fig 5).

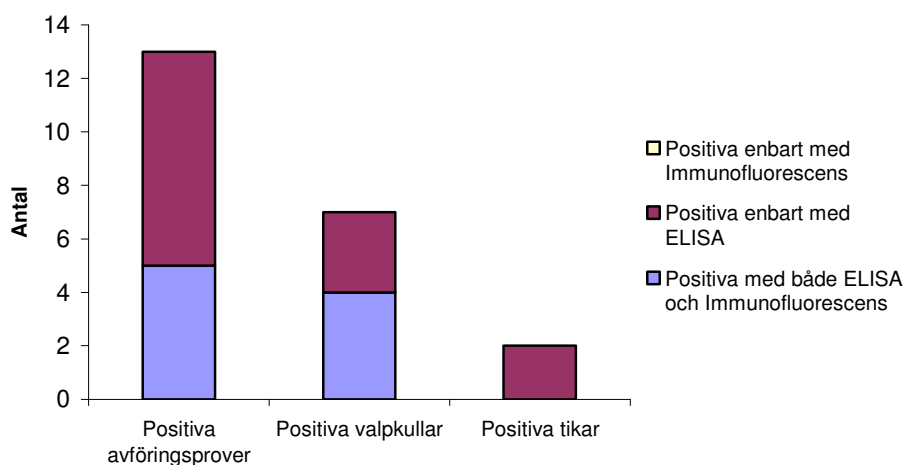


Fig 5. Jämförelse mellan de båda analysmetoderna

Immunofluorescensmetoden var endast positiv i 1 av 4 fall i båda provomgångarna (både tikar och valpar). Motsvarande siffra med ELISAn var 4 av 9. Vad gäller immunofluorescensen så upptäcktes *Cryptosporidium parvum* endast hos en av valpkullarna. Ingen saminfektion med *Giardia* förelåg.

Prover från de fyra kullar som klassades som positiva med metod 1 skickades till Smittskyddsinstitutet för genotypning och utvärdering av den zoonotiska potentialen hos de påvisade isolaten. Samtliga fyra prover tillhörde hundspecifika genotypgrupper, två identifierades till grupp C och de andra två till grupp D.

DISKUSSION

I denna studie påvisades *Giardia* hos en tredjedel av valpkullarna och hos en av tio tikar. Detta stämmer väl överens med en tidigare svensk studie av Castor och Lindqvist (1990), som visade att en av tre valpar bar på parasiten. Denna studie omfattade dock både valpar med och utan gastrointestinala symtom och det framgår inte hur många ur respektive grupp som var positiva. Oavsett vilket tycks det som om prevalensen av *Giardia* i Sverige är liknande den i våra grannländer, åtminstone vad gäller valpar (Rimhanen-Finne *et al.*, 2007; Hamnes *et al.*, 2007). Eftersom det förväntades att prevalensen hos symptomfria hundar i Sverige skulle vara låg och eftersom studien skulle utföras under en begränsad tidsperiod, valdes samlingsprover från valpkullar istället för individprover för att öka chanserna att hitta positiva fall. Med tanke på den höga förekomsten som framkom i studien hade en större studie med individprover från olika åldersgrupper varit intressant för att få en bättre bild av hur *Giardia intestinalis* är spridd i hundpopulationen.

Andra utländska prevalensstudier har visat på väldigt varierande resultat vilket dels beror på olika förekomst i olika länder och dels på de miljöer som proverna samlats in i (Dubná *et al.*, 2007; Oliveira-Sequeira *et al.*, 2001; Capelli *et al.*, 2003; Bugg *et al.*, 1999). Även väderleken har en inverkan eftersom temperatur och fuktighet påverkar cystornas överlevnadstid i miljön. Årstidsskillnader har setts i flera tidigare studier där man noterat en lägre förekomst sommartid, sannolikt på grund av att varma torra förhållanden drastiskt försämrar cystornas möjligheter att överleva vilket minskar risken för exponering (Fontanarrosa *et al.*, 2006; Ponce-Macotela *et al.*, 2005). Vissa studier har samlat prover från hundar i stadsmiljö, medan det i andra främst är frågan om prover från hundar på landsbygden (Dubná *et al.*, 2007; Ponce-Macotela *et al.*, 2005; Miró *et al.*, 2007). Man har även kartlagt skillnader i förekomst mellan prover från gatuhundar och från sällskapshundar (Oliveira-Sequeira *et al.*, 2001). Det förefaller dock som om de viktigaste faktorerna som kan förklara skillnader i prevalens mellan olika studier är dels känsligheten hos den aktuella analysmetoden, dels om ett eller flera prover per individ analyserats. Detta innebär att det är svårt att jämföra resultat mellan studier från olika länder. Däremot kan en uppskattning av om parasiten är någorlunda vanlig eller inte göras. Man kan dock räkna med att studier där man endast har analyserat ett prov per individ sannolikt redovisar falskt låga resultat eftersom cystor usöndras intermittent (exempelvis Fontanarrosa *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007; Cappelli *et al.*, 2003; Bugg *et al.*, 1999).

I den här studien analyserades dubbla prover insamlade med ungefär en veckas mellanrum från både valpar och tikar. Samlingsproverna blandades innan material för analyserna togs ut. Eftersom ingen fullständig homogenisering av samlingsproverna utfördes är det trots detta möjligt att den del av provet som analyserades kom från en valp som för tillfället inte utsöndrade cystor eller innehöll proteinet GSA65. Detta skulle i så fall betyda att en del av proverna var falskt negativa. Ytterligare positiva kullar kan ha missats av det faktum att en del kullar nyligen hade avmaskats med fenbendazol (Axilur). Det är möjligt att *Giardia* i någon eller några av dessa kullar hade tryckts ned under detektionsnivån för de valda analysmetoderna. Sannolikt hade ytterligare någon positiv kull hittats om en tredje provtagning hade utförts. Det finns författare som rekommenderar såväl två (Hanson och Cartwright, 2001) som tre provtagningar (Conboy, 1997).

Den här studien bekräftar att prevalensen av *Giardia* är hög hos symtomfria valpar även i Sverige. Därmed kvarstår svårigheten för den kliniskt arbetande veterinären att vid positiva provsvar från hundar med mag-tarmproblem avgöra om det verkligen är *Giardia* som är orsak till diarrén. I en tredjedel av de valpkullar som ingick i denna studie hittades *Giardia* utan att dessa för den skull hade några problem med diarréer vid provtagningstillfället. Detta innebär inte att prevalensen hos de enskilda valparna var lika hög men man kan nog ändå anta att om *Giardia* förekommer i kenneln så går förmodligen de flesta valparna i kullen igenom åtminstone en subklinisk infektion. I den kennel från vilken man hade skickat in individprover från 6 valpar påvisades cystor i träcken hos 5 av dessa vid ett och samma tillfälle. Eftersom cystorna utsöndras intermittent var sannolikt även den sjätte valpen infekterad med *Giardia*.

Denna studie visar att om man söker efter *Giardia* hos valpar med diarré kan man i en tredjedel av fallen förvänta sig ett positivt utfall oavsett grundorsaken till diarrén. Detta innebär att om parasiten påvisas blir resultatet svårtolkat eftersom det är nästintill omöjligt att avgöra om *Giardia* är orsaken till diarrén. Vid positiva prov i samband med diarréstillstånd som inte ger med sig, vilket sannolikt är den situation då de allra flesta prover tas, är provbehandling den metod man får använda för att avgöra detta. Om symtomen försvinner exempelvis efter behandling med fenbendazol i tre dagar, och om uppföljande prover är negativa avseende *Giardia* kan man rimligen anta att det var *Giardia* som orsakade problemen. Vidare, ifall behandlingen hade avsedd effekt och diagnosen giardiasis var ställd, bör även en rejäl miljösanering samt bad och behandling av samtliga hundar i hushållet utföras för att undvika recidiv. Att eliminera *Giardia* ifrån en smittad kennel är dock svårt (Greene, 2006). Cystorna är tåliga och överlever normalt länge i miljön. Det är även värt att notera att en upphörd utsöndring av cystor inte nödvändigtvis behöver betyda att parasiten inte finns i tarmen. Detta innebär att det många gånger är svårt att avgöra om man lyckats behandla bort parasiten eller bara tillfälligt eliminerat cysturskiljningen.

Sju av de 8 positiva kennlarna hade haft någon form av utlandskontakt under de senaste två åren. Huruvida detta har betydelse för hur *Giardia* kommit in i kenneln går dock ej att sluta sig till. De fyra positiva prover som genotypades var i samtliga fall djurspecifika isolat. Någon zoonosrisk vad gäller risken för överföring av giardiainfektion från dessa hundar tycks alltså inte föreligga. Det bör emellertid

poängteras att vi kunde bara genotypa prover från hälften av de kennlar i vilka *Giardia* detekterades. Det är följaktligen möjligt att isolat från någon av de resterande fyra kennlarna tillhörde de humanpatogena genotypsgrupperna A och B. Nu var målet med denna studie inte i första hand att utreda zoonosrisken, utan genotypningen var endast ett komplement tack vare att SMI fann detta intressant.

I likhet med flera andra studier (Szénási *et al.*, 2007; Rimhanen-Finne *et al.*, 2007; Hanson och Cartwright, 2001) visade det sig att ELISA hade en högre sensitivitet än immunofluorescensmetoden. Hela 160 % fler positiva prover (13 jämfört med 5) detekterades med ELISA-metoden. Detta skulle kunna bero på att cystorna utsöndras intermittent medan GSA65 frisätts kontinuerligt när trofozoiter förökar sig, även när inga cystor utsöndras. Sett till hur många valpkullar och tikar som klassificerades som positiva var skillnaden mellan de båda metoderna nästan lika stor. Sju valpkullar detekterades med ELISAn, vilket är 125 % fler än de 4 valpkullar som hittades med hjälp av immunofluorescens. Positiva tikar hittades endast med ELISAn.

Sammanfattningsvis visar studien att *Giardia* är en vanligt förekommande endoparasit hos symptomfria valpar även i Sverige. Det faktum att så många valpar bär på parasiten utan att de för den skull uppvisar några kliniska symtom innebär i sig en svårighet när det gäller att avgöra hur pass relevant ett positivt provsvar är i en klinisk situation. I och med att så många valpar är bärare av parasiten kan man fråga sig hur intressant det egentligen är för en kliniker att leta efter parasiten överhuvudtaget.

Litteraturförteckning

- Anderson, Kirsten A., Andrew S. Brooks, Annette L. Morrison, Richard J. Reid-Smith, S. Wayne Martin, Denna M. Benn, Andrew S. Peregrine. 2004. Impact of *Giardia* vaccination on asymptomatic *Giardia* infections in dogs at a research facility. *Canadian Veterinary Journal* 45: 924-930.
- Appelbee, Amber J., R.C. Andrew Thompson, Merle E. Olson. 2005. *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – current status and future needs. *Trends in Parasitology* 21(8):370-376.
- Astiazarán-García, Humberto, Martha Espinosa-Cantellano, Guadalupe Castañón, Bibiana Chávez-Mungía, Adolfo Martínez-Palomo. 2000. *Giardia lamblia*: Effect of Infection with Symptomatic and Asymptomatic Isolates on the Growth of Gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Experimental Parasitology* 95:128-135.
- Barr, Stephen C., Dwight D. Bowman, Marguerite F. Frongillo, Steven L. Joseph. 1998. Efficacy of a drug combination of praziquantel, pyrantel pamoate, and febantel against giardiasis in dogs. *Am J Vet Res* 59: 1134-1136
- Bugg, R. J., I. D. Robertson, A. D. Elliot, R. C. A. Thompson. 1999. Gastrointestinal Parasites of Urban Dogs in Perth, Western Australia. *The Veterinary Journal* 157:295-301.
- Buret, A.G. 2007. Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. *Gut* 56: 328-335
- Cacciò, Simone M., R.C. Andrew Thompson, Jim McLauchlin, Huw V. Smith. 2005. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends in Parasitology* 21(9):430-437.
- Capelli, G., A. Frangipane di Regalbono, R. Iorio, M. Petrobelli, B. Paoletti, A. Giangaspero. 2003. Prevalence of *Giardia spp.* in Dogs and Humans in Northern and Central Italy. *Parasitol Res* 90:154-155.
- Castor, S. B., K. B. Lindqvist. 1990. Canine giardiasis in Sweden: no evidence of infectivity to man. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 84:249-250.
- Conboy, Gary. 1997. *Giardia*. *The Canadian Veterinary Journal* 38:245-247.
- Díaz, V., M. Campos, J. Lozano, I. Mañas, J. González. 1995. Aspects of animal giardiasis in Granada province (southern Spain). *Veterinary Parasitology* 64:171-176.
- Dubná, S., I. Langrová, J. Nápravník, I. Jankovská, J. Vadlejch, S. Pekár, J. Fechtner. 2007. The Prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic. *Veterinary Parasitology* 145:120-128.
- Fontanarrosa, María F., Darío Vezzani, Julia Basabe, Diego F. Eiras. 2006. An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): Age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Veterinary Parasitology* 136:283–295.
- Gordillo. 2005. *Giardia intestinalis* and other zoonotic parasites: Prevalence in adult dogs from the southern part of Mexico City. *Veterinary Parasitology* 131:1-4.
- Greene, Craig E. 2006. *Infectious Diseases of the dog and cat*. Third Edition. St. Louis: Saunders Elsevier.
- Hacket, Tim, Michael R. Lappin. 2003. Prevalence of Enteric Pathogens in Dogs of North-Central Colorado. *J Am Anim Hosp Assoc* 39:52-56.

- Hammes, Inger S., Bjorn K. Gjerde, Lucy J. Robertson. 2007. A Longitudinal study on the occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in dogs during their first year of life. *Acta Veterinaria Scandinavica* 49:22 doi:10.1186/1751-0147-49-22.
- Hanson, Kevan L., Charles P. Cartwright. 2001. Use of an Enzyme Immunoassay Does Not Eliminate the Need To Analyze Multiple Stool Specimens for Sensitive Detection of *Giardia lamblia*. *Journal of Clinical Microbiology* Feb. 2001: 474-477.
- Irwin, Peter J. 2002. Companion animal parasitology: a clinical perspective. *International Journal for Parasitology* 32:581-593.
- Jacobs, Steven R., Courtney P.R. Forrester, James Yang. 2001. A survey of the prevalence of *Giardia* in dogs presented to Canadian veterinary practices. *Canadian Veterinary Journal* 42:45-46.
- Katiyar, S.K., V.R. Gordon, G.L. McLaughlin, T.D. Edlind. 1994. Antiprotozoal Activities of Benzimidazoles and Correlations with β -tubulin Sequence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 38: 2086-2090
- Leonhard, S., K. Pfister, P. Beelitz, C. Wielinga, R.C.A. Thompson. 2007. The molecular characterization of *Giardia* from dogs in southern Germany. *Veterinary Parasitology* 150:33-38.
- Liu, J., S. E. Lee, K. H. Song,. 2007. Prevalence of canine giardiasis in South Korea. *Research in Veterinary Science* doi:10.1016/j.rvsc.2007.06.003.
- Miró, Guadalupe, Marta Mateo, Ana Montoya, Enrique Vela och Rosa Calonge. 2007. Survey of intestinal parasites in stray dogs in the Madrid area and comparison of the efficacy of three anthelmintic in naturally infected dogs. *Parasitol Res* 100:317-320.
- Morgan, U. M., J. A. Reynoldson, C. A. Thompson. 1993. Activities of Several Benzimidazoles and Tubulin Inhibitors against *Giardia spp.* In Vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Feb. 1993: 328-331.
- Oliveira-Sequeira, T.C.G., A.F.T. Amarante, T.B. Ferrari, L.C. Nunes. 2001. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology* 103:19-27. Ponce-Macotela, Martha, Gustavo E. Peralta-Abarca, Mario N. Martínez-
- Olson, Merle E., Howard Ceri, Douglas.W. Morck. 2000. *Giardia* Vaccination. *Parasitology Today* 16(5):213-217.
- Olson, Merle.E, Howard Ceri, Douglas.W. Morck. 1997. Preliminary data on the efficacy of a *Giardia* vaccine in puppies. *Canadian Veterinary Journal* 38:777-779.
- Olson, Merle E., Carl J. Hannigan, Patricia F. Gaviller, Libby A. Fulton. 2001. The use of a *Giardia* vaccine as an immunotherapeutic agent in dogs. *Canadian Veterinary Journal* 42: 865-868.
- Payne, Patricia A., Robert K. Ridley, Michael W. Dryden, Cristine Bathgate, George A. Milliken, Patricia W. Stewart. 2002. Efficacy of a combination febantel-praziquantel-pyrantel product, with or without vaccination with a commercial *Giardia* vaccine, for treatment of dogs with naturally occurring giardiasis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220(3):330-333.
- Rimhanen-Finne, R., H.L. Enemark, J. Kolehmainen, P. Toropainen, M.L. Hänninen. 2007. Evaluation of immunofluorescence microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay in detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in asymptomatic dogs. *Veterinary Parasitology* 145:345-348.

- Robertson, I. D., P. J. Irwin, A. J. Lymbery, R. C. A. Thompson. 2000. The Role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology* 30:1369-1377
- Rosa, L.A.G, M.A. Gomes, A.V. Mundim, M.J.S. Mundim, E.L. Pozzer, E.S.M. Faria, J.C. Viana, M.C. Cury. 2006. Infection by experimental inoculation with human isolates of *Giardia duodenalis*: Clinical and laboratory manifestations. *Veterinary Parasitology* 145:37-44.
- Szénási, Z., S. Marton, I. Kucsera, B. Tánzos, K. Horváth. E. Orosz, Z. Lukács, Z. Szeidemann. 2007. Preliminary Investigation of the Prevalence and Genotype Distribution of *Giardia intestinalis* in Dogs in Hungary. *Parasitol Res* 101:145-152
- Thompson, R.C.A., R.M. Hopkins, W.L. Homan. 2000. Nomenclature and Genetic Groupings of *Giardia* Infecting Mammals. *Parasitology Today* vol. 16:210-213.
- Traub, R.J., P.T. Monis, I. Robertson, P. Irwin, N. Mencke, R.C.A. Thompson. 2004. Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitology* 128: 253-262
- Troeger, H., H. J. Eppe, T. Schneider, U. Wahnschaffe, R. Ullrich, G. D. Burchard, T. Jelinek, M. Zeitz, M. Fromm, J. D. Schulzke. 2007. Effect of chronic *Giardia lamblia* infection on epithelial transport and barrier function in human duodenum. *Gut* 56: 316-317.
- van Keulen, Harry, P. Timothy Maechko, Susan Wade, Stephanie Schaaf, Peter M. Wallis, Stanley L. Erlandsen. 2002. Presence of human *Giardia* in domestic , farm, and wild animals, and environmental samples suggests a zoonotic potential for giardiasis. *Veterinary Parasitology* 108:97-107.
- Zajac, Anne M., Timothy P. LaBranche, Ann R. Donoghue, Teng-Chiao Chu. 1998. Efficacy of fenbendazole in the treatment of experimental *Giardia* infection in dogs. *Am J Vet Res* 59: 61-63.

Internetkällor:

- Giardiainfektion - Smittskyddsinstitutet. Hemsida. [online](2007-12-01) Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/giardiainfektion/> [2007-12-01]