

# **Fodrets inverkan på resultatet vid undersökning av förekomst av ockult blod i avföringen hos hund**

**Maja Öhman**

**Handledare: Inger Lilliehöök  
Universitetsdjursjukhuset  
Biträdande handledare: Lena Pelander  
Universitetsdjursjukhuset**

## **INNEHÅLLSFÖRTECKNING**

<b>Sammanfattning</b>	<b>1</b>
<b>Abstract</b>	<b>2</b>
<b>Inledning</b>	<b>3</b>
<b>Bakgrund</b>	<b>3</b>
Blod i avföringen	3
Hemoplustestet	5
Beskrivning av tidigare studier	5
Framställning av kommersiellt torrfoder	7
<b>Studie</b>	<b>7</b>
Syfte	7
Material och metoder	7
Resultat	9
Diskussion	11
<b>Referenslista</b>	<b>13</b>

## SAMMANFATTNING

Hemoplus® (Sarstedt, Nümbrecht, Tyskland) är ett så kallat guajakbaserat peroxidastest för påvisande av ockult blod i avföring som är utvecklat för humanmedicinskt bruk. Testet kan användas även inom veterinärmedicinen då det inte är specifikt för detektion av hemoglobin från människa. Principen för testet bygger på hemoglobinet's pseudoperoxidasaktivitet. Eftersom vissa födoämnen, som t.ex. kött, också har peroxidasaktivitet kan dessa orsaka ett falskt positivt resultat. Rekommendationen har därför varit att sätta hundar på en helt köttfri diet inför ett sådant test. Syftet med denna studie var att undersöka om kommersiellt hundfoder kan ge falskt positivt utslag på Hemoplus®.

Avföringsprover togs från friska hundar efter att de stått på enbart sitt vanliga torrfoder i minst fyra dagar, alternativt fått burkmat inblandat i torrfoder i minst tre dagar. Tre hundar fick rå köttfärs eller blodpudding inblandat i sitt foder. Avföring ströks ut på Hemoplustestet och fick torka in. Alla proverna analyserades enligt bruksanvisning genom att bara tillsätta reagens och alla utom 23 prover i torrfodergruppen analyserades även efter att provet fuktats med vatten innan reagenset tillsattes. Rehydrering av proven ökar känsligheten hos guajakbaserade test medan specificiteten minskar. Samtliga avföringsprover utom ett från hundarna som fått köttfärs eller blodpudding i sitt foder var positiva både med och utan vattentillsats. Ett prov blev endast positivt efter tillsats av vatten. Även vid inblandning av hemolyserat blod i avföring gavs positivt resultat endast efter att vatten tillsattes innan reagens. I torrfodergruppen var samtliga 43 tester negativa. Många olika typer av torrfoder har använts i studien, majoriteten av dessa har haft kyckling som proteinkälla. Två typer av burkmat användes i studien. Den ena, innehållande oxkött och lever, resulterade i enbart negativa prover hos 16 hundar. Den andra burkmaten, som innehöll lamm och ris, resulterade i att alla 16 prover utom ett var negativa utan tillsats av vatten, men positiva då vatten tillsattes innan reagens vid analys. Skillnaden i resultat efter intag av de olika dieterna kan bero på att dessa innehöll olika proteinkällor eller vara en följd av skillnader i framställningen av de olika fodren.

För att minska risken för falskt negativa resultat bör prover från patienter helst analyseras både med och utan tillsats av vatten innan reagens. Denna studie tyder på att det sannolikt är tillräckligt att utfodra med enbart torrfoder i minst fyra dagar innan testet genomförs för att minska risken för falskt positiva resultat med Hemoplus®.

Ytterligare studier skulle behöva göras för att utvärdera Hemoplustestets känslighet på hund och även undersöka om utfodring med torrfoder baserat på annan proteinkälla än kyckling ger samma resultat.

## **ABSTRACT**

Hemoplus® (Sarstedt, Nümbrecht, Tyskland) is a guaiac-based fecal occult blood test developed for human medicine. Guaiac-based tests make use of the pseudoperoxidase activity of hemoglobin so the test is not specific for human hemoglobin and can therefore be used in veterinary medicine. Peroxidase-containing foods such as meat (hemoglobin and myoglobin) can cause false-positive results of the test. To ensure that a positive result is not caused by diet, it has been suggested that canine patients should be fed a meatless diet for a few days prior to fecal occult blood testing. The aim of this study was to evaluate the effect of commercial dog food on guaiac-based tests.

In this study fecal samples from healthy dogs were analyzed with Hemoplus®. The dogs were either fed only dry food diet for four days or a dry food mixed with canned food for three days prior to testing. Three other dogs were fed raw minced meat or black-pudding for two days. Fecal samples were allowed to dry after they had been applied to the Hemoplus-test.

All samples were analyzed according to the Hemoplus® test-instructions by adding only the reagent and all samples, except samples of 23 dogs fed the dry food diet, were analyzed by adding water to the samples before the reagent was added. Wetting the feces with water (rehydrating) increases the sensitivity of guaiac-based tests but reduces specificity. All but one fecal samples from dogs fed minced meat or black-pudding were positive both rehydrated and non-rehydrated. One sample was positive only when rehydrated. When hemolysed blood was mixed with feces, a positive result was obtained only when the sample had been rehydrated. All 43 samples from dogs fed the dry food diet were negative. Different types of dry food diets have been used in the study, the majority having chicken as protein-source. Two different types of canned food have been used. One of them, containing beef and liver, resulted in samples from all 16 dogs being negative upon analyzing. The other, containing lamb and rice, resulted in all 16 samples but one being negative when non-rehydrated prior to analyzing them but positive when rehydrated. Different protein-sources or differences in processing the diets may explain the varying results between the diets.

To reduce the risk of having false-negative results, we recommend that samples from patients should be analyzed both rehydrated and non-rehydrated. This study suggests that feeding only dry food diet for four days prior to the test is sufficient to reduce the risk of false-positive results.

Additional studies on dogs are required to evaluate the sensitivity and specificity of the Hemoplus-test for dogs feces. One should evaluate dry food diets with other protein-sources than chicken.

## **INLEDNING**

Ett flertal olika sjukdomstillstånd kan ge upphov till blödningar i magtarmkanalen, däribland neoplastiska sjukdomar, inflammatoriska tillstånd (t.ex. gastrit/magsår, enterit, kolit, IBD) och parasitinfektioner. Dessa blödningar kan vara så små att de inte är synliga och man talar då om förekomst av ockult blod i avföringen. Det finns olika tester för att påvisa ockult blod i avföringen hos hund, t.ex. Hemoplus® (Sarstedt, Nümbrecht, Tyskland). Det är känt att resultatet av testet kan påverkas av den föda som patienten intagit de senaste dagarna innan testet genomförs (Rockey, 1999). Ett positivt resultat behöver således inte betyda att patienten har blod i avföringen utan kan bero enbart på intagen föda. Inom humanmedicinen ombeds därför den person som ska genomgå testet att avstå från viss föda som t.ex. rått kött, blodpudding och grönsaker med hög peroxidaktivitet. Överkonsumtion av C-vitamin bör även undvikas då det kan ge falskt negativt resultat av testet (Jaffe et al., 1975).

Hur vanligt det är att kommersiell hundmat som torrfoder och burkmat ger falskt positivt resultat är inte fastlagt då det endast finns ett fåtal studier som har undersökt detta (Cook et al., 1992 och Rice et al., 1994). Tidigare rekommendationer har därför varit att hunden bör stå på en köttfri diet som t.ex. ris och keso.

Syftet med denna studie är att låta friska hundar som inte förväntas ha blod i avföringen genomgå testet när de äter olika typer av hundfoder. Hundarna i studien har fått kommersiellt torrfoder eller burkmat eftersom de flesta hundar står på någon av dessa dieter. Målet är att resultatet av studien ska möjliggöra en utökad användning av guajakbaserade test för påvisande av ockult blod i avföringen som diagnostiskt hjälpmedel.

## **BAKGRUND**

### **Blod i avföringen**

Förekomst av synligt blod i avföringen benämns hematochezia respektive melena. Med hematochezia avses förekomsten av färskt blod utanpå eller inblandat i avföringen. Blödningskällan är vanligen anus, rektum eller descenderande colon. Vid melena är avföringen mörk, nästan svart och ofta illaluktande. Melena är en följd av blod som blivit digererat. Blodet kan härröra från svalget, lungorna (upphostat och nedsväljt), matstrupen, magsäcken, tunntarmarna eller övre delarna av grovtarmen förutsatt att passagetiden är tillräckligt långsam. Det är i första hand tiden som blodet förekommer i tarmen och inte blodets ursprung som ger upphov till den slutliga färgen på blodet. När blodet funnits tillräckligt lång tid i tarmen börjar bakterier bryta ned hemoglobin vilket resulterar i melena. Även mängden blod har betydelse. Stora mängder blod från en blödningskälla högt upp i gastrointestinalkanalen kan orsaka kortare passagetider genom tarmkanalen och kan därför ses som färskt blod i avföringen (Kelly, 2005). Med ockult blod i avföringen avses blod som man inte kan se makroskopiskt.

## ***Hematochezia***

Förekomst av färskt blod i avföringen, hematochezia, orsakas vanligen av blödningar i nedre delen av grovtarmen. Blödningarna kan ha uppstått av många olika anledningar; kolit, parasitinfektion, främmande kropp som orsakat skada på tarmens slemhinna, analsäcksinflammation eller någon form av trauma mot analregionen. Det finns även allvarligare tillstånd som kan orsaka hematochezia t.ex. tumörsjukdom eller hemorragisk gastroenterit (Kelly, 2005).

## ***Melena***

I ett försök där man gav hundar olika volymer blod via magsond fastställdes att man kunde se melena efter intag av 500 mg Hb per kg kroppsvikt (Gilson et al., 1990). Orsaker till melena är t.ex. magsår, kraftig gastrit, främmande kropp i övre delarna av magtarmkanalen, försämrad hemostas och tumörsjukdomar. NSAID-preparat och glukokortikoider kan båda orsaka slemhinneskador i magtarmkanalen, risken är större om dessa båda preparat ges i kombination. Intag av föda med högt järninnehåll ger också upphov till mörk avföring som lätt kan förväxlas med melena varför uppgifter om vad hunden utfodrats med är viktigt (Guilford, 1996).

## ***Ockult blod i avföringen***

Orsakerna till ockult blod i avföringen är flera. Patienter inom humanmedicinen som varit positiva för ockult blod i avföringen fick i en studie genomgå vidare undersökningar med koloskopi och esofagogastroduodenoskopi. Man kunde hos dessa patienter påvisa bl.a. esofagit, magsår, gastrit, ulcera i duodenum samt adenom -och carcinom i kolon som orsaker till den ockulta blödningen. Resultatet visade även att orsakerna till ett positivt test för ockult blod i avföringen i större utsträckning var blödningar i de övre delarna av magtarmkanalen än i kolon. Det visar att blödningar i de övre delarna av magtarmkanalen oftast är tillräckligt stora för att ge ett positivt resultat med guajakbaserade test (Rockey et al., 1998). Tillfällen då tester för ockult blod kan användas inom humanmedicinen är t.ex. vid utredning av patienter med järnbristanemi där frågan är om blödning i magtarmkanalen kan vara orsaken till anemin eller patienter med tarmstörning där man vill veta om blödning i tarmen föreligger. Testen används även vid screening för kolorektal cancer (Young et al., 1992). Inom veterinärmedicinen ingår testen som en viktig del i utredningen av patienter med järnbristanemi. Två ovanliga fall av Inflammatory Bowel Disease finns beskrivna på hund där test för ockult blod hade betydelse för att kunna ställa diagnosen. Dessa båda hundar uppvisade trötthet och man kunde konstatera att de hade kraftig järnbristanemi varför test för förekomst av ockult blod i avföringen gjordes. Dessa tester var positiva och vidare utredningar gjordes som ledde fram till att diagnosen IBD kunde ställas i båda fallen. Ingen av hundarna uppvisade symtom från magtarmkanalen (Ristic et al., 2002).

## Hemoplustestet

Testet är utvecklat för humanmedicinskt bruk. Eftersom testet inte är specifikt för hemoglobin från människa kan det även tillämpas inom veterinärmedicinen. Metoden är endast kvalitativ men har fördelen att den är enkel att genomföra och billig (Eriksson, 1997). Inom humanmedicinen används testet som hjälpmedel vid diagnostisering av kolorektal cancer. Vid screening för kolorektal cancer rekommenderas att det tas 4 prover från 3 på varandra följande faecestömnigar, detta för att öka chansen att hitta tumörer som orsakar intermittenta blödningar. Enligt tillverkaren har kliniska prövningar visat att Hemoplus® har en nedre detektionsgräns av 0,22 – 0,26 g Hb per 100 g faeces.

Hemoplustestet är ett guajakbaserat peroxidastest för påvisande av ockult blod i avföringen. Testkortet innehåller ett filterpapper som impregnerats med kromogener ur guajakharts. Guajakbaserade tester bygger på att hemoglobin har pseudoperoxidasaktivitet och kan oxidera kromogener till blåfärgade föreningar i närvaro av väteperoxid (Rockey, 1999). En väteperoxidlösning används därför som framkallningsreagens. Om blod finns i avföringen kommer hemoglobinet oxidera kromogenerna ur guajakharts och, i närvaro av väteperoxid, bilda en blåfärgad förening.

Flera faktorer påverkar tillförlitligheten hos guajakbaserade test:

- Faecesmängden. I en mindre faecesmängd kommer koncentrationen av blod i faeces bli högre än i en större faecesmängd (Eriksson, 1997).
- Under passagen genom magtarmkanalen bryts hemoglobin ned och dess peroxidasaktivitet avtar. Detta medför att små blödningar högt upp i magtarmkanalen inte ger positivt resultat (Rockey et al., 1998).
- Födoämnen med peroxidasaktivitet kan ge falskt positiva resultat av testet (Rockey, 1999). Peroxidasaktivitet finns bl.a. i rått kött och blodmat men även i vissa vegetabilier som t.ex. sojabönor, rotfrukter och broccoli (Caligiore et al., 1982).
- Tillförsel av C-vitamin minskar provets känslighet och kan därför ge falskt negativt resultat (Jaffe et al., 1975).

Resultatet av ett guajakbaserat test kan vara svårtolkat. Efter en kortare genomgång med instruktioner om hur gränsfall ska tolkas samt hur man bedömer en blå färg mot en bakgrund av mörk avföring ökade antalet korrekt tolkade prover från 60 % till 91 % (Fleisher et al., 1991).

## Beskrivning av tidigare studier

Försök finns beskrivna där man har utvärderat fodrets inverkan på test för påvisande av ockult blod i faeces hos hund. Man har i dessa försök även jämfört två typer av peroxidastester – guajakbaserat test respektive ortotolidin test. I ett av

försöken deltog fem hundar som fick stå på sju olika dieter, 59 avföringsprover analyserades, 32 av dessa var efter intag av torrfoder och resterande 27 efter intag av burkmat. Resultatet visade att man med ortotolidintestet (Hematest) fick fyra positiva prover medan man med guajaktestet (Hemocult II) fick 11 positiva prover. Den största andelen positiva prover (9 av 11) erhöles efter att hundarna intagit burkmat baserad på fårkött och lever respektive oxkött. Enstaka positiva prover förekom även efter intag av två typer av torrfoder (Cook et al., 1992). I ett annat försök deltog sex hundar som fem dagar i följd fick stå på nio olika sorters torrfoder och burkmat. Tvåhundrasexton avföringsprover analyserades, 96 av dessa var efter intag av burkmat och resterande 120 efter intag av torrfoder. Inga tester var positiva vid användning av ortotolidintestet (Hematest). När guajaktestet (ColoScreen) användes var däremot 64 prover positiva. Två av de burkmatsdieter som ingick i försöket resulterade i enbart positiva prover. Dessa två dieter utgjorde 48 av de totalt 64 positiva proverna. Innehållet i den ena var nöt, kyckling och fjäderfäprodukter samt morötter, potatis och bönor, medan den andra innehöll nöt, kyckling, lever och hjärta. Nio av de positiva proverna erhöles efter intag av ett torrfoder baserat på majs, fjäderfä och sojabönor. Ett annat torrfoder som ingick i försöket gav upphov till fyra positiva prover medan de resterande tre torrfoder som ingick inte gav några positiva resultat (Rice et al., 1994). I båda de ovan angivna försöken har de hundar som ingått i studierna testats negativa för förekomst av ockult blod i avföringen innan studiens genomförande. I ett annat försök har man jämfört ett ortotolidintest (Hematest) med ett guajaktest (Hemocult II). I försöket gavs blod i olika doser via magsond till hundar varefter avföringsprover togs. Försöket visade att resultaten av testen överensstämde till 77 %. Volymen blod som krävdes för att få ett positivt test för ockult blod i avföringen stämde väl överens mellan de båda testen. När man gav 20 mg hemoglobin/kg kroppsvikt (motsvarande 4 ml blod till en hund som väger 30 kg) fick man ett konstant positivt resultat (Gilson et al., 1990).

Immunologiska tester för påvisande av ockult blod i faeces har tagits fram inom humanmedicinen. Dessa detekterar humant hemoglobin från de nedre delarna av magtarmkanalen och därför krävs inga dietrestriktioner inför ett sådant test (Ko et al., 2003). Inom veterinärmedicinen används fortfarande peroxidastester eftersom det ännu inte tagits fram några praktiskt användbara immunologiska tester (Jinbo et al., 1997). Det finns ett försök beskrivet där man använt ett RPLA (reversed passive latex agglutination) test med anti-hund hemoglobin antikroppar för att påvisa ockult blod i faeces. Försöket visade att testet hade god specificitet för hundhemoglobin (Jinbo et al., 1997).

Eftersom de guajakbaserade peroxidastesten kan bli falskt positiva till följd av peroxidaktiviteten i livsmedel är det intressant att veta hur mycket sådan aktivitet olika livsmedel har. Rått kött har visat sig ha hög aktivitet. Även efter att det kokats väl kan viss aktivitet påvisas. Rotfrukter och broccoli har också hög aktivitet men genom att koka dessa grönsaker i 100° i 20 minuter inaktiveras peroxidas. Banan, äpple, apelsin och tomat har alla låg peroxidasaktivitet (Caligiore et al., 1982).

I en studie mättes hemoglobinkoncentrationen i faeces hos hundar som ansågs vara friska. Syftet var att fastställa de fysiologiska koncentrationerna av Hb i faeces hos hund. Resultatet visade att 86,7 % av hundarna hade en Hb-



koncentration i faeces på ca 0,014-0,019 g Hb per 100 g faeces. Ca 13,3 % av hundarna som ansågs vara friska hade högre Hb-koncentrationer i faeces vilket tolkades som förekomst av subkliniska blödningar (Jinbo et al., 1998). Hemoplus® nedre detektionsgräns är enligt tillverkaren 0,22 – 0,26 g Hb per 100 g faeces.

### **Framställning av kommersiellt hundfoder**

Ett vanligt sätt att framställa torrfoder är genom så kallad extrudering. Extrudering innebär att fodermassan ångkokas i hög temperatur under kort tid och vid ett högt tryck (personligt meddelande Edoff, 2007). Olika tillverkare har angivit något varierande temperaturer som fodret upphettas till under processen och även varierande tider för upphettningen, se tabell 1.

*Tabell 1. Upphettningstemperatur och tid för upphettning för olika foder (Personligt meddelande Edoff, 2007, Holt Madsen, 2007, Högberg, 2007)*

Foder	Upphettningstemperatur	Tid för upphettning
Doggy	100 - 140°C	Någon till några minuter
Eukanuba	Inga uppgifter	Inga uppgifter
Hill's	Inga uppgifter	Inga uppgifter
ICA	100 - 140°C	Någon till några minuter
Royal Canin	120°C	Ca 30 sekunder
Specific	100°C (min 90°C)	Några sekunder

Pedigrees burkmat upphettas genom kokning till 125°C i minst 65 minuter. (personligt meddelande Meijer, 2007). Specific CDW upphettas också genom kokning. Temperaturen uppnår under processen ca 125°C och hålls i denna temperatur i 30-50 minuter (personligt meddelande Holt Madsen, 2007).

## **STUDIE**

### **Syfte**

Syftet med studien är att utvärdera om kommersiellt hundfoder kan ge falskt positivt resultat vid undersökning av förekomst av ockult blod i avföringen. Tidigare rekommendationer att sätta hunden på en köttfri diet inför ett sådant test medför troligen att testet många gånger inte görs trots att det hade kunnat ge relevant information om patienten och varit en hjälp vid diagnostisering. Eftersom många hundar utfodras med torrfoder och burkmat är det intressant att utvärdera hur resultatet av Hemoplustestet påverkas av denna föda.

### **Material och metoder**

#### ***Urval av hundar till studien och insamling av prover***

I studien deltog privatägda hundar samt Sveriges Lantbruksuniversitetets undervisningshundar. Kriteriet för att en hund skulle kunna delta i försöket var att denne var fri från lidanden i magtarmkanalen och inte heller stod på någon

medicin som kan förväntas orsaka blödningar i magtarmkanalen, t.ex. NSAID-preparat.

I den första omgången utvärderades torrfoders inverkan på resultatet av testet. I denna omgång testades 26 privatägda hundar och samtliga (17 st.) SLUs undervisningshundar som i minst fyra dagar innan testets genomförande enbart ätit det torrfoder som de vanligen står på. Dock tilläts även små mängder Frolic som godis under dessa dagar för att få ett större antal deltagande i försöket. De privatägda hundarnas ägare fick ange vilket torrfoder deras hund utfodrats med, om de ansåg att deras hund var fullt frisk samt om hunden stod på någon typ av medicin. Vidare fick de ange om hunden kunde ha fått i sig något annat under dessa fyra dagar än sitt torrfoder. Efter de fyra dagarna tog ägarna själva fyra avföringsprover från en faecestömning från sin hund och gjorde utstryk på respektive testposition på testkortet enligt anvisning. Från SLUs undervisningshundar gjordes utstryk på två testpositioner från vardera fyra avföringsprover av deras skötare. Även för dessa angavs det torrfoder de utfodrats med samt eventuell sjukdom eller medicinering. Alla testkortet utom fyra analyserades sedan av författaren. De resterande fyra analyserades av Lena Pelander, UDS.

I den andra omgången utvärderades två typer av burkmat med avseende på dess inverkan på resultatet av testet. I denna omgång deltog samtliga SLUs undervisningshundar. Hundarna fick i två omgångar ett tillskott till sitt vanliga torrfoder i form av burkmat under tre dagar, Pedigree oxkött och lever i första omgången samt Specific CDW i andra omgången. Burkmaten utgjorde ca 1/3 - 1/4 av hundens totala fodergiva. Efter tre dagar samlades prover in på samma sätt som i "torrfodergruppen" och analyserades av författaren. Från samtliga fyra avföringsprover gjordes utstryk på två testpositioner från varje hund. De hundar som deltog i denna grupp hade samtliga även deltagit i "torrfodergruppen".

Den del av studien där burkmat tillsattes var godkänd enligt Uppsala Djurförsöksetiska Nämnd.

### ***Testets utförande och analys***

Från en faecestömning tas prov från fyra olika delar av faeces eftersom blodets inblandning kan vara ojämnt fördelad. Varje prov tas med en ren pappersspatel som ingår i testkitet och ett tunt utstryk görs på 1 av 4 testpositioner. När utstryk från fyra prover gjorts på de fyra testpositionerna försluts testkortet och förvaras i rumstemperatur till dess att det ska analyseras, vilket ska ske inom 12 dagar. Faecesproverna ska vara torra innan analys. Vid analys tillsätts 1 droppe framkallningsreagens till vardera testposition på baksidan av testkortet. Vid förekomst av blod i faeces ska en blå färgning uppstå på testkortet inom 30 sekunder och färgen är sedan stabil i 60 sekunder vid ett positivt resultat. Provet är negativt om ingen blå färgning uppstår inom 30 sekunder. Testkortet ska inte exponeras för direkt solljus eller UV-ljus då detta kan leda till en blågrön färgning av testkortet och därför ge ett falskt positivt resultat (enligt testets bruksanvisning).

Från ca hälften av hundarna i torrfodergruppen (SLUs undervisningshundar samt tre av de privatägda hundarna) gjordes utstryk på två testpositioner från varje prov, det vill säga 2 x 4 utstryk gjordes från varje faecestömning. Den ena uppsättningen analyserades sedan enligt ovan. Till den andra uppsättningen prover tillsattes först en droppe vatten på vardera testposition som fick absorberas helt innan framkallningsreagensen tillsattes. Detta gjordes även på samtliga prover från burkmatsgruppen. Rehydrering av faeces på detta sätt gör att sensitiviteten hos guajakbaserade test ökar medan specificiteten minskar (Mandel et al., 1993).

Ett antal positiva kontroller gjordes. 100µl blod respektive 100µl hemolyserat blod blandades i ca en tesked avföring innan utstryk gjordes på testkort. Tre hundar utfodrades med otillagad blodpudding eller rå köttfärs och prover från dessas hundar ströks sedan på testkort. Samtliga positiva kontroller analyserades både med och utan tillsats av vatten innan reagens.

## Resultat

### *Torrfodergruppen*

De olika hundarna i torrfodergruppen utfodrades som förväntat med torrfoder från olika tillverkare; Eukanuba, Doggy, Hill's, Royal Canin, ICA torrfoder, James wellbeloved, Precept, Specific och Standart, se tabell 2. För två av hundarna finns inget torrfoder angivet. Orsaker som angavs till att ägaren inte ansåg sin hund varandes fullt frisk var olika typer av hudbesvär (klåda, allergi, utslag), en angav även juvertumör som orsak. Trettiotre stycken av hundarna ansågs vara helt friska. Ett flertal av hundarna hade förutom sitt vanliga torrfoder även fått Frolic. Majoriteten av hundarna hade vid enstaka tillfällen även fått i sig annat såsom hästbajs, kattbajs, harbajs, tuggben, matrester, äpplen, bröd, Hill's z/d burkmat, pinnar och jord. Aldern på de hundar som deltog i denna grupp varierade från 11 veckor till 14 år gamla. Samtliga tester analyserades inom 12 dagar från det att de togs, de flesta analyserades inom 2-3 dagar.

I torrfodergruppen var samtliga tester negativa. 23 av proverna analyserades utan vatten och 20 både med och utan vatten.

*Tabell 2. Förteckning över torrfoder som ingått i studien och dess innehåll, inom parentes är antalet hundar som ätit respektive foder angivet*

Typ av torrfoder	Innehåll
Doggy Original (6)	Kycklingköttmjöl, färskt svenskt kött, majsgroddar, fiskmjöl, köttbenmjöl, hemoglobin
Doggy Små Bitar (2)	Se Doggy Original
Eukanuba Adult Maintenance Normal Activity (17)	Kyckling, majs, fiskmjöl, hönsmjöl
Eukanuba Adult Light Low Activity (2)	Se Eukanuba Adult Maintenance Normal Activity
Eukanuba Intestinal * (1)	Kyckling, majs
Eukanuba Performance (1)	Kyckling, majs, fiskmjöl, hönsmjöl
Hill's Science Plan Adult with Chicken *	Kyckling – och kalkonmjöl, majs, sojamjöl

(2)	
Hill's Salmon & Rice (2)	Lax, ris
ICA Torrfoder (1)	Kycklingköttmjöl, köttgrevmjöl, köttbenmjöl
James wellbeloved Anka & Ris * (1)	Ris, köttmjöl av anka, ankmjöl, ankfett
Precept Puppy Formula (1)	Kycklingköttmjöl, brunris, majs, kycklingfett, majs glutenmjöl, lammköttmjöl
Royal Canine Hypoallergenic * (2)	Ris, hydrolyserat sojaproteinisolat, hydrolyserad fågellever
Royal Canine Maxi Adult * (1)	Torkat fågelkött, torkat fläskköttprotein, majs
Specific CXD (1)	Fisk och fiskprodukter, spannmål, hydrolyserat fläskprotein
Standardt Normal * (1)	Rismjöl, köttmjöl av kyckling, lamm och gris, kycklinglever, benmjöl och broskmjöl av gris och kyckling

Foder innehållande C-vitamin är markerat med \*

### **Burkmatsgruppen**

Två typer av burkmat användes. I en första omgång deltog 16 hundar. Dessa fick tillskott till sitt vanliga torrfoder (Eukanuba Adult samt Eukanuba Adult Light) av Pedigrees burkmat innehållande oxkött och lever. I den andra omgången deltog 15 av 16 hundar från första omgången samt ytterligare en hund. I denna omgång fick de tillskott av Specific CDW innehållande lamm och ris. Torrfodret var detsamma. Burkmaten som användes valdes på grund av att tidigare studier visat att burkmat innehållande bl.a. oxkött, lever och fårkött har gett utslag på tester för ockult blod. Åldern på de hundar som deltog varierade från 1 år till 12 år gamla. Mellan den första och andra omgången gick det 2 veckor då de deltagande hundarna enbart åt sitt vanliga torrfoder. Proverna analyserades inom 3-4 dagar.

Alla 16 prover från första omgången var negativa. Samtliga prover analyserades både med och utan vatten. Från den andra omgången där burkmat med lamm och ris användes var 15 av 16 prover positiva vid analys med vatten men negativa vid analys utan vatten. Det 16:e provet var svårtolkat vid analys med vatten och var negativt vid analys utan vatten. Resultaten från denna omgång finns redovisade i tabell 3.

*Tabell 3. Resultat efter intag av burkmat*

Burkmat; märke och innehåll	Positivt resultat efter rehydrering	Positivt resultat utan rehydrering	Totalt antal prover
Pedigree, oxkött och lever samt spannmål	0	0	16
Specific, lamm och ris samt sojaolja *	15	0	16

Foder innehållande C-vitamin är markerat med \*

### ***Positiva kontroller***

Ett kontrollprov gjordes genom att blanda 100µl blod i ca en tesked avföring innan utstryk gjordes på ett testkort. Detta prov analyserades sedan med och utan vatten. Det gav endast positivt resultat vid analys då vatten tillsattes före reagens. På samma sätt blandades sedan 100µl hemolyserat blod med samma mängd avföring och analyserades. Även detta prov gav enbart positivt resultat då vatten hade tillsatts före reagens. Blodet hade hemolyserats genom att blanda en del blod med två delar vatten, detta för att frigöra hemoglobinet från de röda blodkropparna. Ytterligare kontrollprov gjordes genom att låta två hundar på 30 kg äta ca 100 gram rå köttfärs vardera två dagar i följd. En hund på 14 kg fick som kontroll äta ca 150 gram otillagad blodpudding två dagar i följd. Dessa hundar hade alla tre testats negativa efter intag av enbart torrfoder. Proverna från hundarna som ätit rå köttfärs var båda positiva efter att de rehydrerats, från den ena hunden var provet även positivt på en av fyra testpositioner utan att rehydrering gjorts. Provet från den hund som ätit blodpudding var positivt både med och utan att vatten tillsatts innan analys.

### ***Tolkning av resultaten***

Ett antal av proverna (12 st. i torrfodergruppen, 1 st. i burkmatsgruppen) uppvisade efter tillsats av reagens (utan att provet rehydrerats) en ljusrosa ring, ca 1 mm bred, i utkanten av testpositionen. Dessa prover tolkades såsom varandes negativa.

### **Diskussion**

Samtliga 43 prover från hundar som utfodrades med 15 olika torrfoder var negativa. Eftersom den positiva kontrollen som gjordes genom att blanda hemolyserat blod i avföringen endast gav positivt resultat då provet rehydrerades innan reagens tillsattes hade det varit önskvärt att samtliga prover från torrfodergruppen analyserats både med och utan vatten. Enligt Hemoplus® bruksanvisning ska dock proven inte rehydreras innan analys. Tidigare försök som gjorts har visat att torrfoder kan påverka vissa guajakbaserade tester för ockult blod. Av 120 prover som analyserades efter intag av torrfoder var 13 positiva (Rice et al., 1994). I detta försök användes ett annat guajakbaserat test än Hemoplus, nämligen ColoScreen. De två typer av torrfoder som gav positivt resultat i försöket med ColoScreen har inte använts i denna studie, inte heller foder av samma tillverkare. Flertalet av de foder som ingått i denna studie har enligt tillverkarna upphettats till en temperatur över 100°C. Hur det höga tryck som råder under tillverkningsprocessen påverkar peroxidasaktiviteten i fodren är inte känt.

Endast två typer av burkmat användes i denna studie. Samtliga 16 prover från hundar som fått tillskott av burkmat innehållande oxkött och lever var negativa. I tidigare försök där man använt burkmat av samma märke som innehöll bland annat oxkött har man fått enbart positiva prover. Skillnaden i resultaten kan bero på att burkmaten i det tidigare försöket även innehöll kyckling, fjäderfäprodukter

och andra köttbiprodukter. Det kan också bero på att fodrets tillverkningsprocess förändrats sedan den tidigare studien gjordes. Enligt tillverkaren görs ständigt små förändringar i tillverkningsprocessen. I detta försök användes ett annat guajaktest än Hemoplus®. Efter utfodring med burkmat innehållande lamm och ris var 15 av 16 prover positiva efter rehydrering. Beror skillnaden i resultaten mellan de två dieterna på de olika proteinkällorna i fodren eller i framställningen av dem? I tidigare beskrivna försök har burkmat gett upphov till positiva resultat av guajakbaserade test för ockult blod i avföringen. Av 96 prover som analyserades efter intag av burkmat var 51 positiva (Rice et al., 1994). I ett annat försök var motsvarande siffra nio positiva av totalt 27 analyserade prover efter intag av burkmat (Cook et al., 1992). Dessa båda försök har inte använt samma typer av burkmat.

Olika guajakbaserade tester har olika sensitivitet (Allison et al., 1996). Det tycks även vara stor skillnad i resultaten mellan guajakbaserade tester och ortotolidintester. I ett försök där olika dieters inverkan på testen undersöktes var 64 av 216 prover positiva vid användning av det guajakbaserade testet medan inga prover var positiva med ortotolidintestet (Rice et al., 1994). Ett annat försök där man jämförde sensitivitet och specificitet mellan ett guajakbaserat test och ett ortotolidintest genom att ge blod via magsond till hundar och därefter ta avföringsprover visade att resultaten från de båda testerna överensstämde till 77%. Det skrevs inte ut om det ena testet oftare gav upphov till positiva resultat än det andra (Gilson et al., 1990). I dessa båda försök har samma ortotolidintest använts men olika typer av guajakbaserade test. Resultatet av det förstnämnda försöket tyder på att det guajakbaserade test som användes i försöket hade högre känslighet för peroxidaktivitet än ortotolidintestet. Är ortotolidintestet för okänsligt eller ger det guajakbaserade testet för många falskt positiva resultat?

Den positiva kontrollen i vilken hemolyserat blod blandats i avföring innan utstryk gjordes på testkortet gav inte positivt resultat då analys gjordes enligt tillverkarens bruksanvisning. Det krävdes att provet först rehydrerades med vatten innan reagens tillsattes för att få ett positivt resultat. Enligt tillverkaren ska Hemoplus® ha en nedre detektionsgräns av 0,22–0,26 g Hb per 100 g faeces varför den positiva kontrollen borde gett positivt resultat även utan rehydrering av provet. Proven från den hund som ätit blodpudding samt den ena av hundarna som ätit rå köttfärs var dock positiva även utan rehydrering. Sensitiviteten hos guajakbaserade test ökar genom rehydrering medan specificiteten minskar (Mandel et al., 1993). Eftersom avföringsprovet med hemolyserat blod inte gav ett positivt resultat utan rehydrering kan Hemoplustestets känslighet ifrågasättas något. När testet ska genomföras på en patienthund bör rekommendationen därför vara att proven analyseras både med och utan vatten för att minska risken för falskt negativa resultat. Ytterligare studier skulle behöva göras där Hemoplustestets känslighet utvärderas för prover från hund.

Resultatet av denna studie visar att det troligen inte är nödvändigt att, som tidigare rekommendationer varit, sätta en hund på en köttfri diet inför ett test för påvisande av ockult blod i avföringen. Det är sannolikt tillräckligt att hunden utfodras med enbart torrfoder minst fyra dagar innan testets genomförande. Det går dock inte att utesluta att även torrfoder kan ge ett falskt positivt resultat av ett sådant test. Då majoriteten av de torrfoder som ingick i studien hade kyckling som proteinkälla

vore det intressant att i framtida studier utvärdera torrfoder med annan proteinkälla. I denna studie har endast Hemoplustestet utvärderats. Eftersom sensitiviteten skiljer sig åt mellan olika guajakbaserde tester (Allison et al., 1996) är det möjligt att fodrets inverkan på resultatet av testerna också varierar mellan dessa.

## REFERENSLISTA

- Allison, J.E., Tekawa, I.S., Ransom, L.J. & Adrain, A.L. 1996. A comparison of fecal occult-blood tests for colorectal-cancer screening. *New England Journal of Medicine* 334, 155-159
- Cook, A.K., Gilson, S.D., Fischer, D. & Kass, P.H. 1992. Effect of diet on results obtained by use of two commercial test kits for detection of occult blood in feces of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 53, 1749-1751
- Caligiore, P., Macrae, F.A., St John, D.J.B., Rayner, L.J. & Legge, J.W. 1982. Peroxidase levels in food: relevance to colorectal cancer screening. *American Journal of Clinical Nutrition* 35, 1487-1489
- Edoff, Bo. 2007. Royal Canin AB. *Personligt meddelande*.
- Eriksson S. 1997. Blod i faeces. I: *Klinisk kemi i praktisk medicin*. Författare: Fernlund P., Fex G., Hanson A., Stenflo J. & Lundh B. 7e upplagan. Studentlitteratur. ss 517-520
- Fleisher, M., Winawer, S.J., Graham Zauber, A., Smith, C., Schwartz, M.K. & the National Polyp Study Work Group. 1991. Accuracy of fecal occult blood test interpretation. *Annals of Internal Medicine* 114, 875-876
- Gilson, S.D., Parker, B.B. & Twedt, D.C. 1990. Evaluation of two commercial test kits for detection of occult blood in faeces of dogs. *American Journal of Veterinary Research* 51, 1385-1387
- Guilford, W.G. 1996. Melena and Hematochezia. In: *Strombeck's Small Animal Gastroenterology*. Editors: Guilford W.G., Center S.A., Strombeck D.R. Williams D.A. & Meyer D.J. 3<sup>rd</sup> edition. W.B. Saunders Company. pp 69-71
- Holt Madsen, Liselotte. 2007. R&D Specific. *Personligt meddelande*.
- Högberg, Ann. 2007. Lantmännen Doggy AB. *Personligt meddelande*.
- Jaffe, R.M., Kasten, B., Young, D.S. & MacLowry, J.D. 1975. False-negative stool occult blood tests caused by ingestion of ascorbic acid (vitamin C). *Annals of Internal Medicine* 83, 824-826
- Jinbo, T., Shimizu, M., Hayashi, S., Shida, T., Sakamoto, T., Kitao, S. & Yamamoto, S. 1998. Immunological determination of faecal haemoglobin concentrations in dogs. *Veterinary Research Communications* 22, 193-201
- Jinbo, T., Shinmura, R., Shida, T., Shimizu, M., Honda, M., Hayashi, S., Iguchi, K. & Yamamoto, S. 1997. Experimental detection of canine haemoglobin (occult blood) in canine faeces by reversed passive latex agglutination. *Veterinary Research Communications* 21, 347-353
- Kelly, K.M. 2005. Melena and Hematochezia. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Editors: Ettinger S.J. & Feldman E.C. 6<sup>th</sup> edition. Elsevier Saunders. pp 141-142

- Ko, C.W., Dominitz, J.A. & Nguyen, T.D. 2003. Fecal occult blood testing in a general medical clinic: comparison between guaiac-based and immunochemical-based tests. *American Journal of Medicine* 115, 111-114
- Mandel, J.S., Bond, J.H., Church, T.R., Snover, D.C. Bradley, M., Schuman, L.M. & Ederer, F. 1993. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. *New England Journal of Medicine* 328, 1365-1371
- Meijer, Ingrid. 2007. Konsument kontakt, Mars Sverige AB. *Personligt meddelande*.
- Rice, J.E. & Ihle, S.L. 1994. Effects of diet on fecal occult blood testing in healthy dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 58, 134-137
- Ristic, J.M.E. & Stidworthy, M.F. 2002. Two cases of severe iron-deficiency anaemia due to inflammatory bowel disease in the dog. *Journal of Small Animal Practice* 43, 80-83
- Rockey, D.C. 1999. Occult gastrointestinal bleeding. *New England Journal of Medicine* 341, 38-46
- Rockey, D.C., Koch, J., Cello, J.P., Sanders, L.L. & McQuaid, K. 1998. Relative frequency of upper gastrointestinal and colonic lesions in patients with positive fecal occult-blood tests. *New England Journal of Medicine* 339, 153-159
- Young, G.P. & St John, D.J.B. 1992. Faecal occult blood tests: choice, usage and clinical applications. *Clinical Biochemist* 13, 161-167