

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

NMBU Veterinærhøgskolen
Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi,
seksjon for mikrobiologi, immunologi og parasittologi
Institutt for sports- og familiedyrmedisin,
smådyrklubben

Fordypningsoppgave 2019, 15 stp

Fordypningsretning smådyr

Undersøkelse av forekomst og påvirkning av *Giardia duodenalis* hos yngre sledehunder utenfor løpssesong

Investigations on the prevalence and effects of *Giardia duodenalis* in younger sled dogs outside the racing season

Karoline Kiran Lorentzen og Lillian Lysgård
Kull 2013

Veiledere: Kristoffer Rellingen Tysnes, Lucy Robertson
og Ellen Skancke

Innhold

Sammendrag	5
Definisjoner og forkortelser	6
Innledning	6
Sledehundekjøring i Norge	6
Tarmproblematikk hos sledehund	7
Parasitten <i>Giardia duodenalis</i>	8
Giardiose	11
Påvisning og parasittbehandling	13
Prevalens	15
Formål	15
Materiale og metoder	17
Materiale	17
Studiedesign	17
Populasjon og utvalg	17
Egenskaper – variable og evaluering	20
Metoder	20
Prosedyrer og laboratoriemetode	20
Etablering av studieutvalget	20
Prøvetaking	21
Parasittologiske analyser	23
Statistiske metoder	25
Utvalgsstørrelse og presisjon	25
Statistisk metode for sammenligning av grupper mm.	25

Resultater	26
Parasittforekomst	27
Alder	29
Helse og kliniske parametre.....	31
Vekt.....	32
Fecal score	33
Prestasjon	34
Diskusjon	34
Parasittforekomst	34
Alder som risikofaktor for sykdom.....	35
Helse og kliniske parametre.....	37
Hold og vekt.....	38
Diaré og fecesscoring.....	39
Vurdering av prestasjon	41
Vurdering av materiale og metode.....	42
Svakheter i utvalget.....	42
Variabelvalg.....	43
Utforming av spørreskjema.....	43
Avvik ved prøvetaking og parasittologiske analyser	44
Validitet og systematiske feil.....	45
Konklusjon.....	47
Takk til bidragsytere	48
Summary.....	48
Referanser	51
Vedlegg.....	53

Vedlegg 1: Resultatbrev.....	53
Vedlegg 2: Informasjonsskriv.....	58
Vedlegg 3: Samtykkeskjema.....	60
Vedlegg 4: Skjema for utvelgelse av deltagere.....	61
Vedlegg 5: Elektronisk spørreskjema.....	64
Vedlegg 6: Treningslogg (én for hver av månedene).....	66
Vedlegg 7: Purina avføringskjema.....	67
Vedlegg 8: Body Condition Score.....	69
Vedlegg 9: Laboratorieanalyse.....	70
.....	71

Sammendrag

Tittel: Undersøkelser av forekomst og påvirkning av *Giardia duodenalis* hos yngre sledehunder utenfor løpssesong

Forfattere: Karoline Kiran Lorentzen og Lillian Lysgård

Veileder: Kristoffer Relling Tysnes og Lucy Robertson, Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi. Ellen Skancke, Institutt for sports- og familiedyrmedisin

Avføringsprøver (n=150) ble samlet inn fra 38 sledehunder av typen Alaska husky fra fire ulike kenneler i Østlandsområdet over en fire månedersperiode. Hovedformålet var å kartlegge om *Giardia duodenalis* utgjør et problem hos *unge* sledehunder før de deltar i første løp sammenlignet med eldre hunder. Målet var å se på parasittforekomst og å avdekke en potensiell sammenheng mellom *Giardia*-smitte, alder, kliniske symptomer, vektendring, diaré og prestasjon. Helsestatus ble belyst ved hjelp av klinisk undersøkelse, holdvurdering, veiing og fecescoring. Prestasjon ble vurdert ut fra kenneleiernes ukentlige treningslogging. *Giardia*-smitte ble vurdert ved å analysere månedlige avføringsprøver med fluorescensmikroskopi (IFAT).

Studien avdekket en høy kumulativ prevalens (86,8%) av *G. duodenalis*, noe som underbygger tidligere forskning på *Giardia* hos norske sledehunder. Ingen statistisk signifikant sammenheng mellom infeksjon og undersøkte parametre ble avdekket.

Datagrunnlaget var lite, og ytterligere undersøkelser med et større studieutvalg er nødvendig for mer pålitelige resultater.

Giardia-infeksjon er utfordrende å forhindre grunnet dens intermitterende utskillelse, miljøresistens, miljøkrav tilpasset norske forhold (kulde og fukt), direkte og indirekte

smittevei, og asymptomatiske bærere. Resmitte er trolig et av hovedproblemene. Den høye prevalensen og få kliniske symptomer på sykdom indikerer at fokuset bør ligge på forebygging med behandling kun av diagnostiserte individer som viser kliniske sykdomstegn.

Definisjoner og forkortelser

Endoparasitt: Parasitter som lever inne i verten enten i blod, indre organer, vev eller indre hulrom (luftveier, mage/tarmkanalen, serøse hulrom). Det er vanskelig eller umulig å påvise selve parasitten hos levende dyr, men de som lever i lunge, lever og mage/tarmkanal sender ut overføringsstadium (egg/larver, oocyster, cyster) med avføringen som kan påvises. Mengden av slike stadier i avføringen gir en indikasjon på hvor kraftig smittet dyret er (1).

Protozo: Encellede organismer, dvs. hele organismen består av kun én celle. De tilhører ikke dyreriket (Animalia), men riket Protozoa (1).

Unghund: Hund under 18 måneders som grunnet lav alder ennå ikke har deltatt i løp.

Innledning

Sledehundekjøring i Norge

I Norge er hundekjøring organisert i grenene nordisk, slede og barmark. I sledehundekjøring benyttes en slede der hundene er spent fast i liner foran sleden. Hundene trekker sleden på ulike kommandoer fra kjøreren (2). I nordisk stil går utøveren på ski bak hunden (3).

I barmarkshundekjøring kombineres hund med sykkel, sparkesykkel, vogn eller løping (4).

I konkurranser innen sledehundekjøring varierer antall hunder per spann fra to til atten. Utøverne kan konkurrere i totalt tre disipliner som alle normalt er fordelt på flere dager;

sprint (3 til 24 km), mellomdistanse (20 til 100 km) og langdistanse (200 til over 1200 km) (5). Kvinner og menn er likestilte og konkurrerer i samme disiplin. De vanligste hundene som benyttes i løp er av typen mellomstor til stor polarhund. I langdistansehundekjøring er Alaska husky eller renrasert polarhund hyppigst brukt i Norge (2).

Alaska husky regnes ikke som en egen rase av Norges Kennelklubb (NKK). Den anses som en blandingshund (6).

Tarmproblematikk hos sledehund

Det kan være en rekke årsaker til at sledehunder presterer dårlig i løp. Nedsatt prestasjon i forbindelse med mage- og tarmsykdom er ikke ukjent i langdistansehundekjøring. Primære symptomer på gastrointestinal sykdom er oppkast, regurgitering og diaré. Oppkast og diaré er lite spesifikke kliniske symptomer. Årsakene kan være mange, og de er nødvendigvis ikke lette å identifisere. Ofte er det snakk om en kombinasjon av flere bakenforliggende faktorer. Sekundært følger ofte en rekke andre symptomer, inkludert dehydrering, spisevegring og nedstemthet.

Studiet har valgt å fokusere på forekomsten av diaré. Dette er en tilstand som kan utarte seg akutt eller kronisk. Akutt diaré er kortvarig og kan være et resultat av infeksjoner, forgiftninger, før eller oppstå sekundært til systemiske forandringer, som for eksempel sirkulasjonssvikt. Kronisk diaré er diaré som vedvarer mer enn tre uker, og som kan ha en rekke årsaker, enkeltstående og mer sammensatte. Infeksjoner, nydannelser, forgiftninger og inflammatorisk tilstander er vanlige årsaker, der bakterier, virus, sopp og parasitter er eksempler på infeksjose agens. Også ved kronisk diaré kan symptomene oppstå sekundært til problemer i øvrige organsystem (forelesning om gastrointestinal sykdom. Ellen Skancke).

Hos sledehunder er diaré spesielt assosiert med løpsdeltagelse, og det er antatt at dette skyldes høyt stress og hard påkjenning under konkurranse. Dette ble belyst i en publikasjon av McKenzie et al. i 2010 vedrørende prevalensen av diaré og ulike tarmpatogener hos sledehunder brukt i langdistanseløp (7). Studien avdekket at 36 % av de undersøkte hundene ervervet diaré under løp, uten at dette kunne knyttes til vanlige tarmpatogener som *Clostridium perfringens*, *C. difficile*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Escherichia coli* 0157, *Giardia* eller *Cryptosporidium* spp. Dette ble regnet som en høy prevalens og studiet fremholdt muligheten for at tilstandene var et resultat av langvarig stress på mage/tarmkanalen (7).

Et pilotforsøk utført på 28 deltagende hunder i Iditarod i 2000 viste at 35 % av hundene hadde mage- og tarmlidelser, som magesår, erosjoner og blødninger. Året etter ble en tilsvarende studie utført på 70 sledehunder der 48,5 % av hundene fikk påvist tilsvarende mage- og tarmlidelser (8). Ved universitetet i Texas ble en kontrollgruppe med totalt 87 selskaphunder opprettet. En sammenligning med denne kontrollgruppen viste at prevalensen av mage og tarmlidelser hos de 70 sledehunder var betydelig høyere enn hos selskaphundene, da selskaphundene fikk en prevalens på 32,1 %. Forsøket avdekket at sledehundene hadde 16,4 % høyere forekomst av mage-/tarmlidelser enn selskaphunder (8).

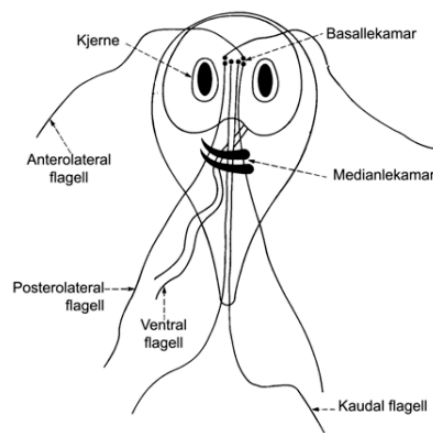
Diaré som symptom vil bli utdypet i diskusjonen.

Parasitten *Giardia duodenalis*

Giardia duodenalis er en endoparasittisk protozo; en snylter bestående av én celle som lever inne i en vert. En rekke pattedyr kan smittes og dermed fungere som vert for parasitten. Morfologisk kjennetegnes *G. duodenalis* ved at den har mer enn én kjerne, flageller for bevegelser, og at den opptrer i to former; som trofozoit, som er den aktive formen med

næringsopptak og reproduksjon, og som en passiv cyste, som er det infektive stadiet eller overføringsstadiet (9).

Trofozoiten er bilateralt symmetrisk og pæreformet (Figur 1), og den har to cellekjerner, åtte flageller og en sugeskållignende struktur den kan feste seg med. Cysten inneholder 2–4 cellekjerner, er ovale til runde, og er omgitt av en relativt tykk cellevegg (10).



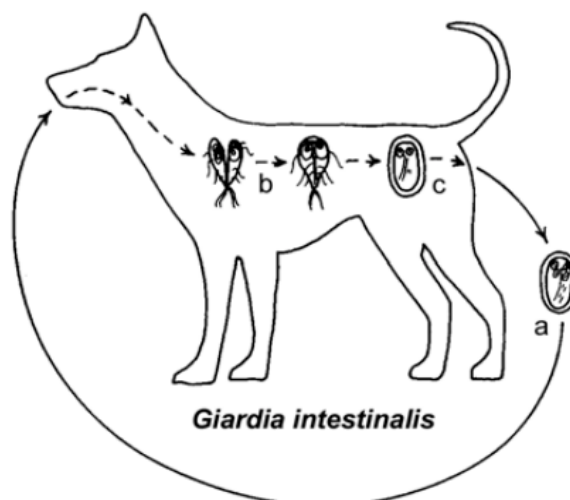
Figur 1. Morfologi til trofozoitstadiet til *Giardia duodenalis* (10).

G. duodenalis omfatter minst åtte ulike grupper av genotyper. Genotypene grupperes inn i A–H, der de har ulike vertsspektre (11). Disse er morfologisk identiske og kan kun skilles fra hverandre med genetiske analyser. Genotype A–D kan smitte blant annet hund. Genotype A–B kan smitte ulike pattedyr inkludert menneske og regnes derfor som zoonotiske. Innenfor genotype A og B finner man flere undergrupper; subgenotyper. Enkelte subgenotyper er påvist hos både mennesker og dyr. Dette er en indikasjon på at slike subgenotyper er zoonotiske, men dette er ikke bevist per i dag (10).

Tabell 1. Genotyper av *G. duodenalis* og tilhørende vertsgruppe (11).

Genotype	A	B	C	D	E	F	G	H
Vert	Ulike pattedyr	Ulike pattedyr	Hundedyr	Hundedyr	Hovdyr	Kattedyr	Gnagere	Sel-familien

Parasitten har en direkte livssyklus (Figur 2). Dette innebærer at parasitten kun trenger én vert for å gjennomføre hele livssyklusen (10). Smitten skjer fekal/oralt, det vil si ved direkte kontakt med cyster i avføring eller ved konsum av kontaminert mat/drikke. Hunder kan smittes fra miljøet ved slikking på kontaminerte overflater. Når cysten kommer ned i vertens øvre tynntarmsavsnitt, så sprekker celleveggen opp slik at cysten klekker og to trofozoiter frigjøres. Ved hjelp av sugeskåla fester trofozoitene seg til overflaten av epitelcellene i tynntarmen. Her vil de formere seg ukjønnnet ved todeling. Ved gode vekstvilkår vil denne formeringen skje raskt. På kort tid kan dermed trofozoitene dekke store deler av tarmoverflata. Trofozoiter som passerer bakover i tykktarmen vil kapsle seg inn og på nytt danne motstandsdyktige cyster. Inne i cysten vil en ny todeling skje, slik at modne *Giardia*-cyster består av to trofozoiter og totalt fire kjerner. Cystene passerer ut med avføringen og er infektive i det de skilles ut. Infeksiøse cyster kan så bli spist av et nytt dyr og prosessen gjentas. Prepatenstid varierer normalt mellom 6–16 dager avhengig av infeksjonsdosen (10).



Figur 2. Livssyklusen til *Giardia duodenalis*. a) Dyret smittes av cyste. b) I tynntarmen frigjør cysten frie organismer som formerer seg ved todeling. c) Parasitten vandrer så bakover til tykktarmen der den kapsler seg inn. Nye cyster dannes og kommer ut med avføringen (1).

Cystene er relativt miljøresistente og kan overleve flere måneder i rett miljø. Fukt og kulde fremmer overlevelse, mens nedfrysing eller uttørking dreper cystene. Ett infisert individ kan utskille millioner av cyster daglig over lange tidsperioder. Denne utskillelsen kan være intermitterende (periodevis). Den infektive dosen er meget lav og teoretisk sett er én cyste tilstrekkelig for å etablere en infeksjon (10).

Giardiose

Giardiose eller giardiasis er en sykdom hos en rekke pattedyr, inkludert mennesker og hund, som skyldes tarmparasitten *Giardia duodenalis* (syn. *G. intestinalis*, *G. lamblia*). Parasitten forårsaker tarminfeksjon hos den som smittes ved å feste seg til tarmveggen (12). Et av symptomene på giardiose er diaré. *G. duodenalis* har global utbredelse og regnes som en av de mest utbredte tarmparasittene hos pattedyr (10).

Både det kliniske bildet og *in vitro*-studier tyder på at *G. duodenalis* skader epitelcellene i tynntarmen, blant annet ved å bryte ned proteinene som binder dem sammen (13). Dette fører

til redusert enzymaktivitet og økt epitelpermeabilitet, noe som igjen resulterer i nedsatt nedbrytning av visse næringsstoffer, samt lokale betennelsesreaksjoner med påfølgende lekkasje av væske og proteiner ut til tarmlumen. Det er i tillegg vist at giardiose kan føre til at ikke-invasive bakterier krysser tarmbarrieren, og at denne effekten vil kunne vedvare over i den postinfeksiøse fasen (14). Graden av sykdom ser ut til å henge sammen med grad av smitte, alder, næringsstatus og immunitet hos verten. Hos hund kan *G. duodenalis* føre til nedsatt evne til å fordøye mat og særlig redusert absorpsjon av fett. Dette gir en lys, illeluktende, fettrik avføring kalt steatorré, som kan gå over i en kronisk diarétilstand med pastøs, halvflytende konsistens på avføringen. Denne langvarige tilstanden kan medføre redusert tilvekst, avmagring og redusert pelskvalitet hos hunder. Symptomene kan komme og gå (intermitterende) eller opptre kontinuerlig (10).

Det er uvisst om giardiose kan resultere i kroniske endringer i hundenes mage/tarmkanal. Pr. dags dato eksisterer ikke direkte bevis på at post-infeksiøse komplikasjoner kan forekomme hos hund, men studier har blitt gjort på langtidsvirkninger hos mennesker. I en studie i kjølvannet av *Giardia*-utbruddet i Bergen i 2004 ble det påvist langtidskomplikasjoner i form av irritabel tarmsyndrom (IBS) og funksjonell dyspepsi (FD/magekatarr) hos henholdsvis 80,5 % og 24,3 % av pasientene. Pasientene viste vedvarende abdominale symptomer som oppblåsthet, diaré og buksmerter som ble forøket ved inntak av visse matvarer og ved mentalt eller fysisk stress (15). En annen studie har vist at en *Giardia*-infeksjon kan forbli asymptomatisk eller gi en klassiske manifestasjon i form av akutt eller kronisk diaré. Publikasjonen avdekket følgende hos pasienter smittet med *Giardia*: kronisk tretthet, redusert tilvekst og kognitiv funksjon hos mennesker. I tillegg kan giardiose gi øyesykdom, leddbetennelse (inflammatorisk artritt), allergi (elveblest og matallergier) og muskelsykdom.

Giardia-trofozoiter har i tillegg blitt assosiert med enkelte kreftformer, men her er kausaliteten uviss(16).

Selv om det er kjent at *G. duodenalis* kan gi tarmsykdom med påfølgende kronisk diaré, utgjør tarmparasitten kun én av mange mulige årsaker til at sledehunder får diaré under trening eller løp. Parasitten kan også forekomme som opportunist, noe som innebærer at en predisponerende årsak kreves for at infeksjonen skal gi symptomer. Eksempler på dette er plutselig førskifte eller stress (17).

Påvisning og parasittbehandling

Ulike tester kan utføres for å stille en positiv *Giardia*-diagnose. En metode er å påvise cyster i avføring ved bruk av en flotasjonsmetoden og mikroskopi. På grunn av intermitterende utskillelse av cyster er det anbefalt å undersøke avføringsprøver fra tre dager, gjerne samlet inn annenhver dag. Man kan også benytte kommersielle hurtigtester av typen snaptester. Disse påviser *Giardia*-antigener og man er derfor ikke avhengig av at cystene er til stede i avføringen. Det ble benyttet en forenklet variant av Immunofluorescent Antibody Test (IFAT) i denne studien. Dette er en test basert på spesifikke antistoffer som brukes til å påvise cystene i avføringen. IFAT-metoden vil bli forklart i detalj senere. For nærmere typebestemmelse av *Giardia* spp. kan PCR-undersøkelser benyttes. Det er få laboratorier som tilbyr rutinemessig genotyping ved hjelp av PCR-undersøker , og er derfor per dags dato ikke aktuelt å utføre i praksis (17).

Legemiddelverket har egne retningslinjer for behandling av endoparasitter hos hund og katt. De anbefaler kun å behandle som ledd i et profylakseprogram eller ved en sikker indikasjon; fastslått diagnose eller velbegrunnet mistanke om parasittinfeksjon. Det valgte legemiddelet

skal være rettet mot den aktuelle parasitten. Legemiddelet må være godkjent til bruk primært på den aktuelle vertsart med den spesifikke parasitten som indikasjonen (17).

Anbefalt legemiddel for behandling av *Giardia* hos hund er fenbendazol. Dette er førstevalget. Dosering: 50 mg/kg daglig i 3 dager. Alternativt kan man bruke metronidazol; 25–50 mg/kg 1–2 ganger daglig i 5–7 dager (17), eller en kombinasjon av pyrantel, prazikvantel og febantel (18). Tidligere kunne man vaksinere mot *Giardia* spp. hos hund. Dette ble ikke praktisert i Norge og vaksinen er ikke lenger markedsført her til lands. Den gir ikke tilstrekkelig beskyttelse og er heller ikke anbefalt å bruke profylaktisk (18). En studie utført i Polen i 2009/2010 viste en høy prevalens av *Giardia* spp. i de undersøkte kennelene til tross for rutinemessig profylaktisk behandling mot parasitten en til fire ganger i året (19). Dette indikerer at rutinemessig behandling mot parasitten ikke er effektivt; parasitten forblir i miljøet og resmitter dyra. Resultatet av en sveitsisk publisasjon fra 2010 viste at til tross for omfattende hygienetiltak, shamponering og oral parasittbehandling ble ikke parasitten eliminert. Dette skyldtes at samtlige hunder blitt resmittet innen prosjektslutt til tross for god effekt av brukte parasittmidler (20). Publikasjonen viste at saneringstiltak virker til en viss grad, men ikke fullt ut. Tilsvarende tiltak kan gjøres for å redusere smittepresset, men vil ikke medføre parasitteliminering. Fokuset bør ligge på å forebygge (vedlegg 1) introduksjon av smitte.

Parasittmidler påvirker cellulære funksjoner hos parasitten. Seleksjon hos parasitten kan medføre redusert følsomhet for det aktuelle legemidlet. Dette kalles resistens, og defineres som nedsatt følsomhet mot et parasittmiddel i én parasittpopulasjon sammenlignet med en normal populasjon. Resistens kan nedarves og er følgelig genetisk betinget. Overforbruk og/eller feilaktig bruk av parasittmidler kan bidra til resistensutvikling. Oppstår resistens mot

ett parasittmiddel, utvikles ofte en samtidig resistens mot andre parasittmidler som har samme virkningsmekanisme (17). Det foreligger ikke dokumenterte tilfeller av resistente *Giardia*-stammer hos hund eller mennesker, men det er beskrevet resistensutvikling mot fenbendazol og metronidazol *in vitro vitro* (21).

Prevalens

Forekomsten eller prevalensen av *Giardia duodenalis* hos hund i Norge ligger på mellom 0–11,4 % i ulike aldersgrupper fra 1–12 måneder ifølge legemiddelverket (17). I forbindelse med en fordypningsoppgave ved Parasittologisk laboratorium, NMBU, der data fra diagnostisk arbeid ved laboratoriet i perioden 2009–2012 ble undersøkt, ble det funnet en *Giardia*-prevalens på 14,2 % (22). I et pilotprosjekt fra 2014 påviste Kristoffer Relling Tysnes høy prevalens av *Giardia* hos spesifikt norske sledehunder utenfor løpssesongen (høst). 110 sledehunder ble undersøkt og det ble avdekket en prevalens på 43 % (upublisert materiale, Kristoffer Relling Tysnes). En annen undersøkelse fant en noe høyere prevalens (51,6 %) blant hunder som deltok på Femundløpet i 2016 (23).

Formål

Tidligere undersøkelser har gitt en god indikasjon på at forekomsten av *G. duodenalis* er høy hos norske sledehunder uavhengig av hundens alder. Den vide utbredelsen, samt at parasitten kan resulterer i diaré gjør denne type infeksjon til en aktuell problemstilling hos hund generelt i Norge. Siden sledehunder er høytstående konkurransedyr kan parasitten potensielt være av spesiell betydning for denne typen brukshunder både dyrevelferdsmessig for enkelhundene som smittes, biologisk gjennom resistensutvikling ved overbehandling, og økonomisk for oppdretter gjennom kostnader til behandling og ved at han potensielt fostrer opp hunder som senere utrangeres på grunn av manglende prestasjon. Det foreligger per dags dato

kunnskapsmangel på dette området, og på bakgrunn av avsluttede prevalensstudier har det oppstått et ønske om videre undersøkelser av hvorvidt og hvordan forekomsten påvirker helse og prestasjon hos yngre hunder før løp.

Studien bygger videre på et tidligere arbeid fra 2016 der 87 sledehunder ble undersøkt for *Giardia*-prevalens og påvirkning på løpsprestasjon. Prosjektet som var i regi av Veterinærhøgskolen ble foretatt i forbindelse med Femundsløpet samme år. Undersøkelsen avdekket høy prevalens av endoparasitten og de yngste hundene i spannet hadde høyest smitteforekomst. Utover dette ble det ikke funnet tydelig sammenheng mellom smittede individer og løpsprestasjon i langløp (23).

Hovedformålet har vært å kartlegge om endoparasitten *G. duodenalis* utgjør et problem hos unge sledehunder før de deltar i sitt første løp. Samtidig har ønsket vært å se nærmere på parasittforekomsten og cysteutskilnelsen blant ulike aldersgrupper over tid. Finnes det en sammenheng mellom *Giardia*-belastning og kliniske symptomer? Utgjør parasitten et større problem hos unghunder enn hos voksne hunder, og i så fall hvordan påvirker dette kliniske parametre som for eksempel vekst? Hvordan påvirker parasitten hundens prestasjon i forbindelse med trening og oppkjøring til løp? Dette er andre spørsmål som studien har forsøkt å gi svar på.

Materiale og metoder

Materiale

Studiedesign

Prosjektet ble basert på to studiedesign; en deskriptiv studie og en kohortstudie. Studien ble deskriptiv gjennom fokuset på parasittforekomsten. Årsakene til tilstedeværelsen av *G.duodenalis* i kenneler har ikke blitt undersøkt. Målet har vært å gi en kvantifiserbar beskrivelse av fenomenet giardiose. Studien ble analytisk i det en kohort dvs. en gruppe hunder ble fulgt over tid og assosiasjonen til løpsprestasjon ble undersøkt. Oppgaven kan på bakgrunn av dette bli ansett som en kohortstudie med en deskriptiv del.

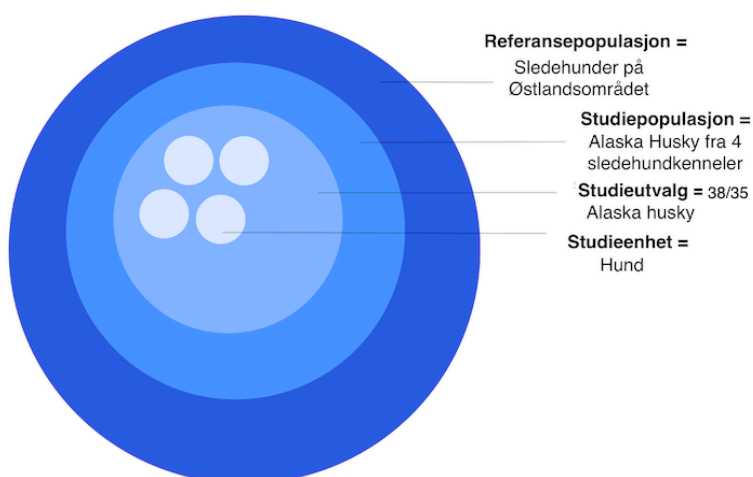
Prosjektet har i tillegg karakter som en pilotstudie der en forundersøkelse har blitt utført blant et lite utvalg av sledehunder i Norge (24). Dette prosjektet har forsøkt å gi en indikasjon på om giardiose utgjør et problem for spesielt unge sledehunder, noe som kan danne utgangspunktet for videre forskning og eventuelt en større fremtidig vitenskapelig studie.

Populasjon og utvalg

Studien som ble gjennomført i forbindelse med Femundløpet i 2016 inkluderte ikke hunder under 18 måneder siden dette er nedre grense for deltakelse i løp. Hovedmålet med denne studien har derfor vært å undersøke eventuelle forskjeller mellom unghunder (<18 måneder) som ikke hadde deltatt i løp og voksne hunder som allerede brukes i løp. Populasjonen i fokus var yngre hunder av typen Alaska husky fra sledehundekenneler. En studiepopulasjon består av studieenheter; i den aktuelle studien var dette «hund». Referansepopulasjonen var samtlige kenneler på Østlandsområdet med unge Alaska husky til bruk i sledehundekjøring. Dette var den generelle populasjonen prosjektet søkte å gi nyttig informasjon om (Figur 3).

En rekke kriterier ble fastlagt for at en enhet i referansepopulasjon skulle kunne inngå i studien. Hundene måtte oppfylle følgende inklusjonskriterier; være av typen Alaska husky, avlet for bruk i sledeløp og lokalisert i nærheten av Oslo. På bakgrunn av følgende eksklusjonskriterier ble enkelte hunder utelukket; annen rase enn Alaska husky, pensjonert, avlivet eller overflyttet til annen kennel underveis i prosjektet eller samarbeidsproblemer med kenneleier.

Størrelsen på det endelige studieutvalget varierte med hvilke parametre som ble undersøkt; 35 hunder ble vurdert for samtlige variabler, mens tre ekstra hunder ble inkludert i vurderingen av parasittforekomst og feceskonsistens (totalt 38). Dette var alle sledehunder av typen Alaska husky fra fire ulike kenneler. Alle de aktuelle kennelene drev med langdistansehundekjøring i nærheten av Oslo. Hundetypen Alaska husky ble valgt på bakgrunn av at dette er den vanligste typen hund brukt i langdistansehundekjøring i Norge. Ingen preferanser forelå når det gjaldt kjønn.



Figur 3. Oversikt over valgte populasjon og utvalg i denne studien.

I utgangspunktet var ønsket å undersøke 10 hunder pr kennel; 6 under og 4 over 18 måneder. Ifølge håndboka til Norges hundekjørerforbund er 18 måneder minstealderen på hunder som skal delta i hundesledeløp. Hunden må ha nådd denne alderen på løpets første dag og det gis ingen dispensasjon på hundens alder (5). Dette dannet grunnlaget for grenseskillet på 18 måneder. Det viste seg vanskelig å nå frem til denne målgruppa derfor ble utvalget tatt fra de yngste hundene i kennelene i tillegg til eldre løpshunder.

Totalt 9 kenneler ble invitert til å delta. Flere ønsket ikke deltagelse, mens andre viste seg å ikke oppfylle valgte inklusjonskriterier. Ved prosjektstart deltok 5 kenneler og 49 hunder.

Helt i starten av studiet ble én hund avlivet og én kennel med sine 10 hunder falt fra. Senere i studiet falt ytterligere tre hunder fra; en ble avlivet og to omplasser.

Tabell 2. Antallet hunder i utvalget fordelt i aldersgruppene «over 18 måneder» og «under 18 måneder» samt hundenes gjennomsnittsalder i disse to gruppene.

	Deltagende hunder	Antall hunder under 18 måneder (gjennomsnittsalder)	Antall hunder over 18 måneder (gjennomsnittsalder)
Kennel 1	10 stk.	4 stk. (1 år)	6 stk. (4,67 år)
Kennel 2	9 stk.	-	9 stk. (1,7 år)
Kennel 3	9 stk.	2 stk. (0,5 år)	7 stk. (5,2 år)
Kennel 4	10 stk.	5 stk. (1 år)	5 stk. (3 år)
Totalt antall	38 stk.	11 stk. (0,9 år)	27 stk. (3,6 år)

Gjennomsnittsalder for hunder <18 måneder var på 0,9 år og på 3,6 år for hunder >18 måneder, altså var deltagerhundene av relativt ung alder.

Egenskaper – variable og evaluering

Det ble benyttet én variabel for å belyse prevalensen av *G. duodenalis*; forekomsten av *Giardia*-cyster i feces, og en rekke ulike variabler for å vurdere eventuelle følger giardiose kan ha for sledehunder; alder, vekt, hold, hjertefrekvens, pulsfrekvens, respirasjonsfrekvens, munnslimhinnestatus, hydreringsgrad, kapillærfyllningstid, størrelsen på de mandibulære, prescapulære og popliteale lymfeknutene, rektal temperatur og feceskonsistens.

Metoder

Prosedyrer og laboratoriemetode

Data ble innhentet via avføringsprøver, klinisk undersøkelse, spørreundersøkelse og treningslogg. I løpet av prosjektet ble samtlige kenneler besøkt to ganger; ved prosjektstart i oktober og ved prosjektslutt i februar. Etablerte scoringssystemer og normalverdier ble benyttet for å gjøre målingene objektive i størst mulig grad. Ved prosjektstart fikk alle deltagerne utdelt et infoskriv om prosjektet, samtykkeerklæringskjema, skjema for utvelgelse av hundene, elektronisk spørreskjema samt en elektronisk treningslogg som deltagerne ble bedt om å føre gjennom hele prosjektperioden (vedlegg 2–6).

Etablering av studieutvalget

Studiepopulasjonen ble etablert via nettsøk og påfølgende kontakt per telefon, sms, e-post og Facebook. Norges Hundekjørerforbunds nettsider, www.sleddog.no, ga en oversikt over ulike organisasjoner og kenneler i Oslo, Akershus og Oppland. Nærhet til NMBU campus Adamstua var avgjørende siden besøk av kennelene var ønskelig. Hakadal Sledeklubb ble kontaktet og de videreformidlet kontakt med en rekke aktuelle kenneler.

Ved prosjektstart ble studieutvalget forsøkt etablert gjennom en systematisk, ikke-tilfeldig, utvelgelse etter hundenes alder (25). Samtlige kenneleiere ble bedt om å sende inn en oversikt over fødselsdato/mnd/år på alle hundene i kennelen (vedlegg 4). Hundene ble så valgt ut etter laveste alder og oppover i stigende rekkefølge til ønsket antall deltagere. Hunder født samme år ble i hovedsak valgt ut ved loddtrekking (uten tilbakelegging av allerede valgte hunder), men enkelte hunder ble valgt basert på eieres oppfordring.

Prøvetaking

Det ble samlet inn avføringsprøver fra samtlige hunder som deltok i prosjektet over en periode på fire måneder. Dette ble gjort én gang per måned i månedene oktober, november, desember/januar og februar, noe som utgjør totalt fire innsamlinger per kennel. Dette tilsvarte 150 avføringsprøver som ble analysert for *G. duodenalis*. Ved prosjektets start og slutt ble innsamlingen foretatt av forfatterne i sammenheng med kennelbesøk. De to gjenstående innsamlingene ble gjort av kenneleierne selv og ble sendte til parasittologisk laboratorium per post i emballasjen overlevert ved første besøk. Prøvene ble postlagt i ferdigfrankerte pakker og sendt på spesifikke datoer etter avtale. Dette ble gjort for å forhindre at prøvene ble sendt rett før helg og dermed liggende lenge i posten.

Ved kennelbesøkene ble fecesprøver tatt og avføringskonsistensen vurdert. I tillegg ble hundenes vekt registrert, hold vurderte og en klinisk undersøkelse utført av alle hundene. I den kliniske undersøkelsen ble hundens allmenntilstand vurdert ved å lytte på hjerte-, puls- og respirasjonsfrekvens, visuell undersøkelse av munnslimhinnen, palpere lymfeknuter, bestemme hydreringsgrad, registrere kapillærfyllningstiden og måle rektaltemperatur.

Avføringens konsistens ble vurdert ved bruk av en modifisert form av graderingssystemet «purina fecal scoring system» (vedlegg 7). Konsistensen ble gradert fra 1–4 der en gradering på 1 eller 2 ble klassifisert som diaré. Dette graderingssystemet ble brukt både ute i felt og på laboratoriet. I felt ble feces vurdert direkte eller etter rektalt uttak. På laboratoriet ble innsende prøveglass vurdert både basert på utseende og uttak

Tabell 3. Graderingsscore på avføring.

Grad	Feceskonsistens
1	flytende
2	myk ikke-formet
3	myk formet
4	fast formet

Hundenes hold ble vurdert ut ifra et holdskjema kalt «Body Condition Score RaceVets» (vedlegg 8). Dette er et modifisert form av Royal Canines graderingsskjema, og er utviklet av RaceVets til bruk i langdistanseløp i Norge. RaceVets er en interesseorganisasjon for veterinærer som jobber med å kontrollere hundenes helse under hundeløp (26). Holdet ble gradert fra 1–7 der en body condition score (BCS) på 1 regnes som sterkt undervektig, 3–4 som normalt for en Alaska husky, mens 5 og oppover regnes som overvektig. Skjemaet er modifisert siden løpshunder normalt ligger i den lavere enden av scoringsskjema uten å være undervektige. Dette vanskeliggjør en sammenligning av hold og vekt mellom disse hundene og andre familie- og brukshunder. Til veiingen ble det benyttet en medbrakt kalibrert vekt til bruk på mennesker.

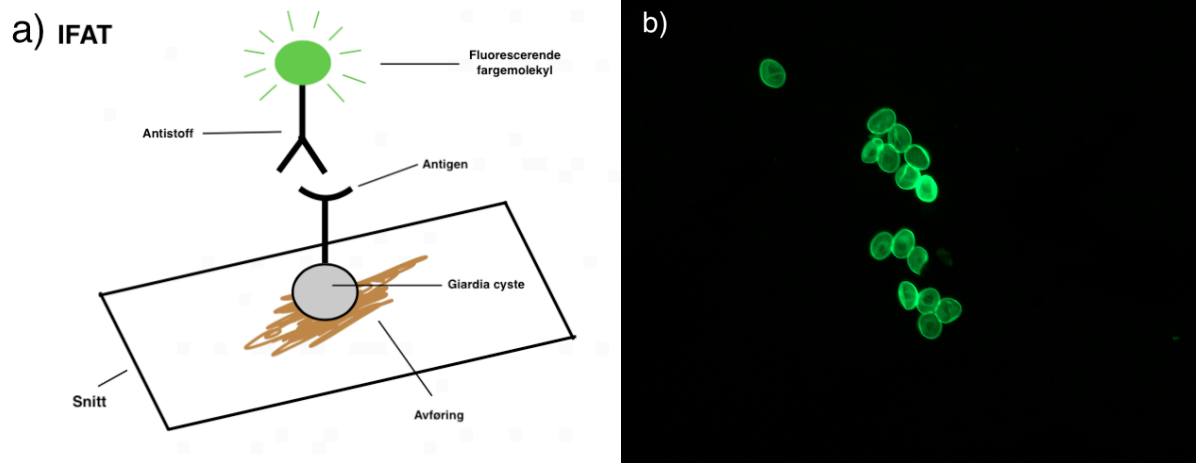
Alle kenneleierne ble bedt om å fylle ut et spørreskjema. Spørreskjemaene var elektronisk (Google Docs) og ble oversendt som link til deltagerne. Her ble det innhentet informasjon om antallet hunder på kennelen, om hundene ble innkjøpt eller selvavlet, hvorvidt og eventuelt

hvor hyppig kennelene behandlet mot *Giardia*, treningsmengde og målsetting for den kommende sesongen (vedlegg 5). Kjenneleierne ble i tillegg bedt om å føre en elektronisk treningslogg (Google Sheets) over de utvalgte hundene fra oktober til januar. Her ble de bedt om ukentlig å registrere alle treningsøktene, timer per treningsøkt og gradere hundenes prestasjon under trening ved å gi en subjektiv vurdering på en skal fra 1 til 3, der 1 var god, 2 middels og 3 dårlig prestasjon (vedlegg 6).

Parasittologiske analyser

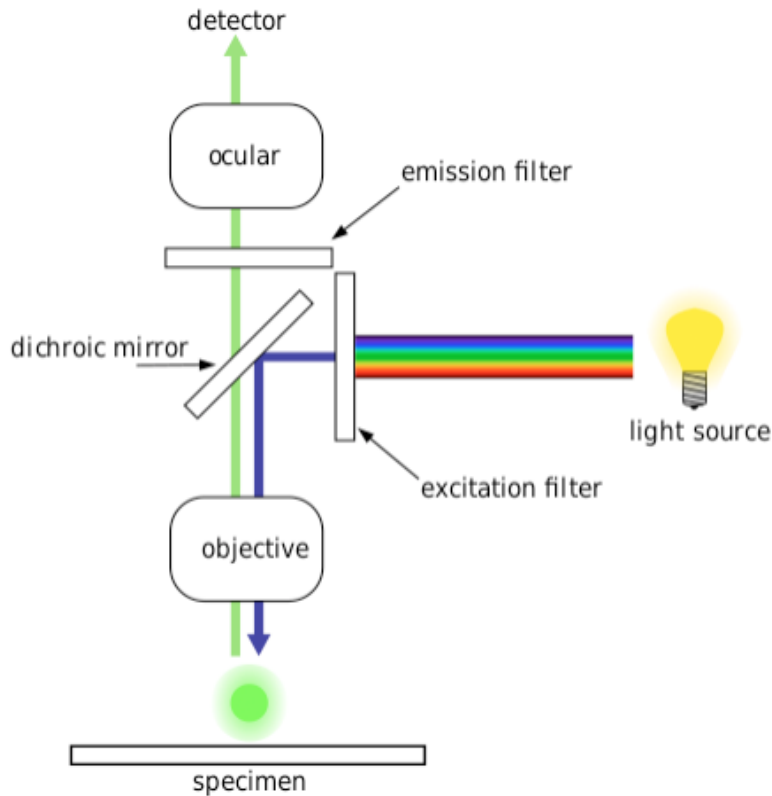
Samtlige avføringsprøver ble analysert ved parasittologisk laboratorium ved Campus Adamstuen, NMBU. Prøvene ble oppbevart i kjøleskap ved 4 °C og analysert innen få dager etter ankomst.

Immunofluorescent Antibody Test (IFAT) var metoden som ble benyttet for å påvise *Giardia duodenalis* i avføringsprøvene. Det ble brukt en forenklet variant der direkteutstryk fra ubearbeidede avføringsprøver ble undersøkt. I IFAT-testen tilføres et antistoff som bindes til spesifikke antigener på overflaten til *Giardia*-cystene (og *Cryptosporidium* spp.) i avføringen. Antistoffet som benyttes er indirekte bundet til et fluorescerende fargemolekyl som avgir en grønn farge når den utsettes for lys av visse bølgelengder (27).



Figur 4. a) Modell av IFAT-test for påvisning av *Giardia*-cyster.
b) *Giardia*-cyster sett i fluorescensmikroskopi.

Laboratorieundersøkelsen (vedlegg 9) startet med påførsel av en dråpe PBS (Phosphate-buffered saline) på et objektglass for å gjøre det lettere å lage et utstryk. Ved hjelp av en pøse ble ca. 5 µl avføring overført fra prøveglass til objektglass. Ved å blande prøvematerialet med PBS fikk man et tynt, sirkulært utstryk på 1–2 cm i diameter. Utstryket ble så lufttørket i romtemperatur før fiksering med en dråpe metanol. Ved hjelp av en 20 µl-pipette ble 15 µl av monoclonale antistoffer spesifikke for *Giardia* og *Cryptosporidium* konjugert til fluorescein-5-isothiocyanate (FITC) (Aqua-glo, Waterborne Inc., New Orleans) påført slik at hele utstryket ble dekket. FITC gjør at *Giardia*-cystene kan visualiseres i fluorescensmikroskopi. Preparatene ble så satt i et eget fukt-kammer i et varmeskap som holder 37° C. Etter inkubering i 20 minutter ble overflødig fargestoff fjernet med destillert vann som ble dryppet på og vippet av. Deretter ble prøvene tilsatt en dråpe Mounting Medium for å bevare fluorescensfargen, samt hindre uttørking. Et dekkglass ble lagt over det ferdige preparatet før undersøkelse i et fluorescensmikroskop med FITC-filter (Leica, Norge) i et mørkt rom. Ved positiv prøve lyser *Giardia*-cyster opp som grønne ovale strukturer (22).



Figur 5. Prinsippet ved fluorescensmikroskopi (28).

Statistiske metoder

Utvalgsstørrelse og presisjon

Med en prevalens på 50 % i referansepopulasjonen måtte en utvalgsstørrelse på 194 hunder til for å gi en nøyaktig beregning av målgruppen (29). Dette var ikke realistisk grunnet praktiske begrensninger i studien og begrenset tid og ressurser.

Statistisk metode for sammenligning av grupper mm.

For å belyse sammenhengen mellom *Giardia*-prevalens og variabelene alder, vektendring og fecal score, ble resultatene analysert med uparet T-test med Welchs korreksjon. Disse ble så presentert med whiskers plot som viser gjennomsnitt og 95% KI. Gjennomsnittlig *Giardia*-prevalens i de ulike kennelene ble testet med one-way ANOVA. Dette ble gjort for å

sammenligne resultatene mellom kenneler. Samtlige tester tok utgangspunkt i signifikansnivå (α) på 0,05 og et konfidensnivå for konstruksjon av konfidensintervall (KI) på 95 %.

Resultatene ble fremstilt på to måter. For å se nærmere på prevalens av *Giardia duodenalis* og variabelen alder, ble utvalget delt inn i gruppene; «over 18 måneder» og «under 18 måneder». Studieutvalgsstørrelsen ble her på 38 hunder. For å se nærmere på variablene helse, vekt, fecal score (diaré) og prestasjon ble utvalget delt inn i gruppene; «gruppe 1» og «gruppe 2» der gruppe 1 inkluderte hundene som testet positivt på 2 eller færre tester, mens de som testet positivt på flere enn 2 tester ble plassert i gruppe 2. Her ble studieutvalgsstørrelsen på 35 hunder.

Inndeling i gruppene over eller under 18 måneder var ikke mulig for samtlige variabler siden det var for få unge hunder som deltok i studien. Inndelingen i gruppe 1 og 2 ble gjort siden det var få hunder som testet negativt på alle prøvene, noe som vanskeliggjorde sammenligning mellom hundene som testet positive og negativt. For videre statistisk testing var ønsket å se nærmere på de *Giardia*-positive hundene uavhengig av alder og deres hyppighet av positive prøveresultater. Skillet mellom gruppe 1 og 2 ble satt ved to positive prøvesvar. Alternativt kunne man ha fordelt studieutvalget inn i f.eks. gruppene «0 eller 1 positive tester for *Giardia*» og « ≥ 2 positive avføringsprøver for *Giardia*», men dette ville ikke ha utgjort vesentlig forskjell for resultatet.

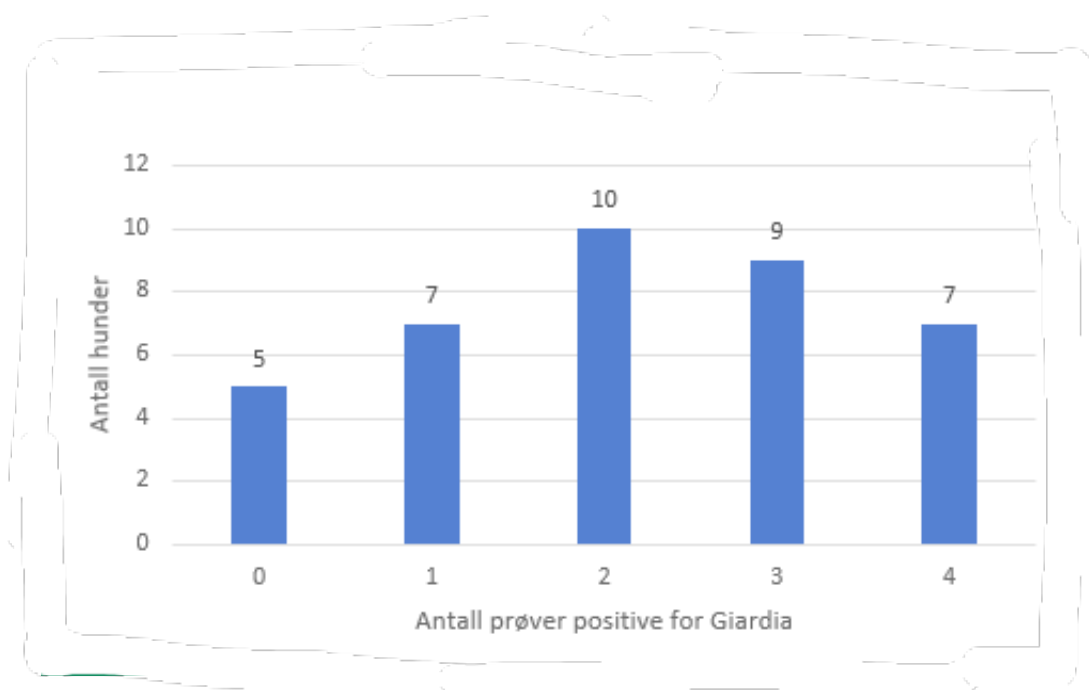
Resultater

Figur 6 inkluderer både positive og negative prøvesvar, mens de resterende figurene (figur 7–13) fremstiller kun de smittede hundene.

Parasittforekomst

Resultatene av *Giardia*-prevalensen ble presentert på tre ulike nivåer; enkelthundsnivå (figur 6), utvalgsnivå (figur 7), kennelnivå (figur 8).

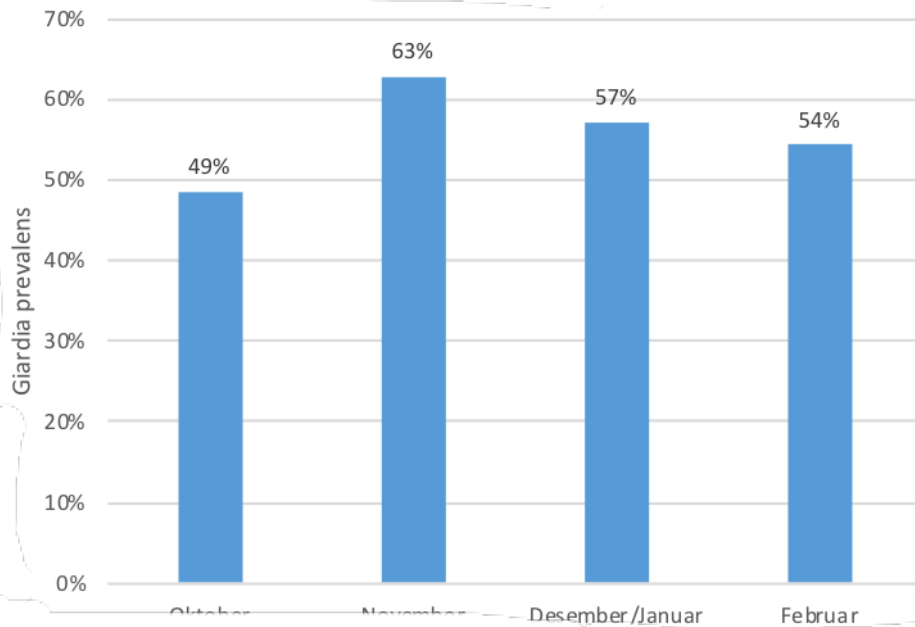
En oversikt over antallet ikke-smitte og smitta hunder (inkludert antallet positive prøver) presenteres i figur 6. Av totalt 38 hundene som ble undersøkt for *G. duodenalis* testet 5 hunder negativt på alle fire prøver, og samtlige av disse hundene var over 18 måneder (hunder fra 2 ulike kenneler). 33 hunder testet positivt på en eller flere tester. Dette utgjør en prevalens av parasitten på 86,8 %, noe som er en meget høy prevalens. I løpet av prøveperioden testet 26,3 % av hundene positivt på totalt 2 prøver, og 2 utgjør typetallet i figuren.



Figur 6. Fordeling av antallet hunder som testet positivt for *Giardia duodenalis* fra 0 til 4 ganger i løpet av prøveperioden.

Fordelingen av smitte i hele studieutvalget over tid presenteres i figur 7. Blant hundene som testet positivt var det stor variasjon i hvilke måneder de skilte ut cyster, dvs. enkelte måneder var testen negativ, mens neste måned testet de positivt, og omvendt. Med unntak av oktober

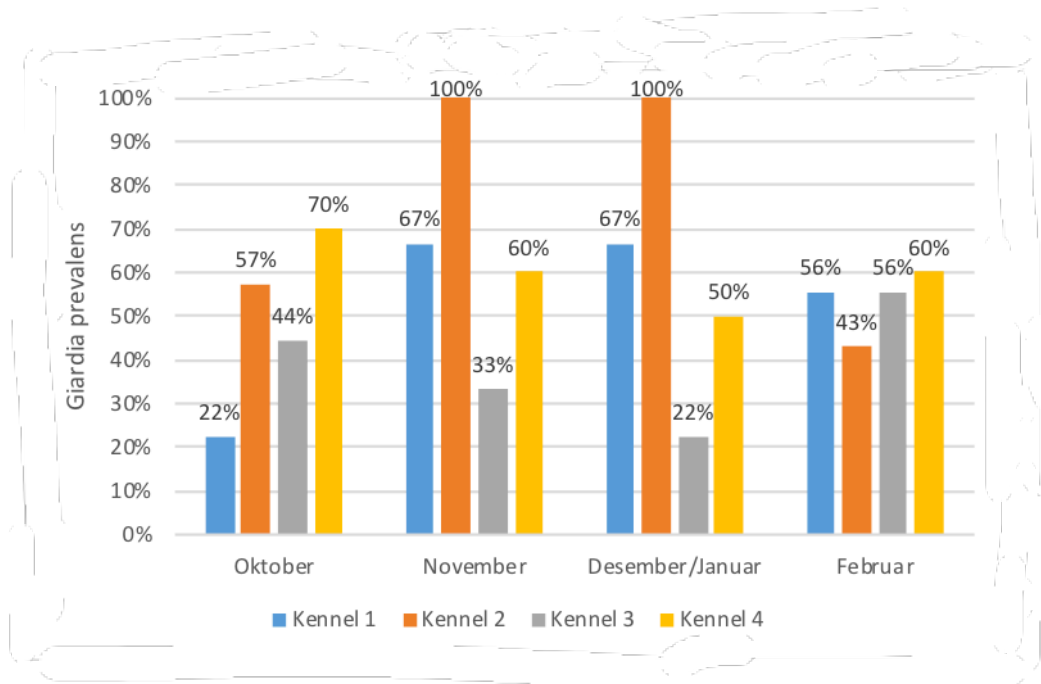
(49 %) var *Giardia*-prevalensen over 50 % i løpet av alle månedene, med høyest prevalens i november (63 %).



Figur 7: Prevalens (%) av *Giardia duodenalis* i fecesprøver for samtlige deltakerhunder fordelt på de fire prøvetakingsmånedene. Hver søyle representerer summen av prøveresultatene per måned for alle deltakerhundene i studien.

Fordelingen av *Giardia*-prevalens i de ulike kennelene over tid presenteres i figur 8.

Parasittforekomsten lå mellom 22–70 % gjennom studieperioden, med unntak av kennel 2 der alle hundene testet positivt i november og desember/januar. På kennelnivå ser man at 100 % av hundene i kennel 1 og 2, samt 78 % (7/9) og 70 % (7/10) i henholdsvis kennel 3 og 4, testet positivt for *Giardia* minst én gang.

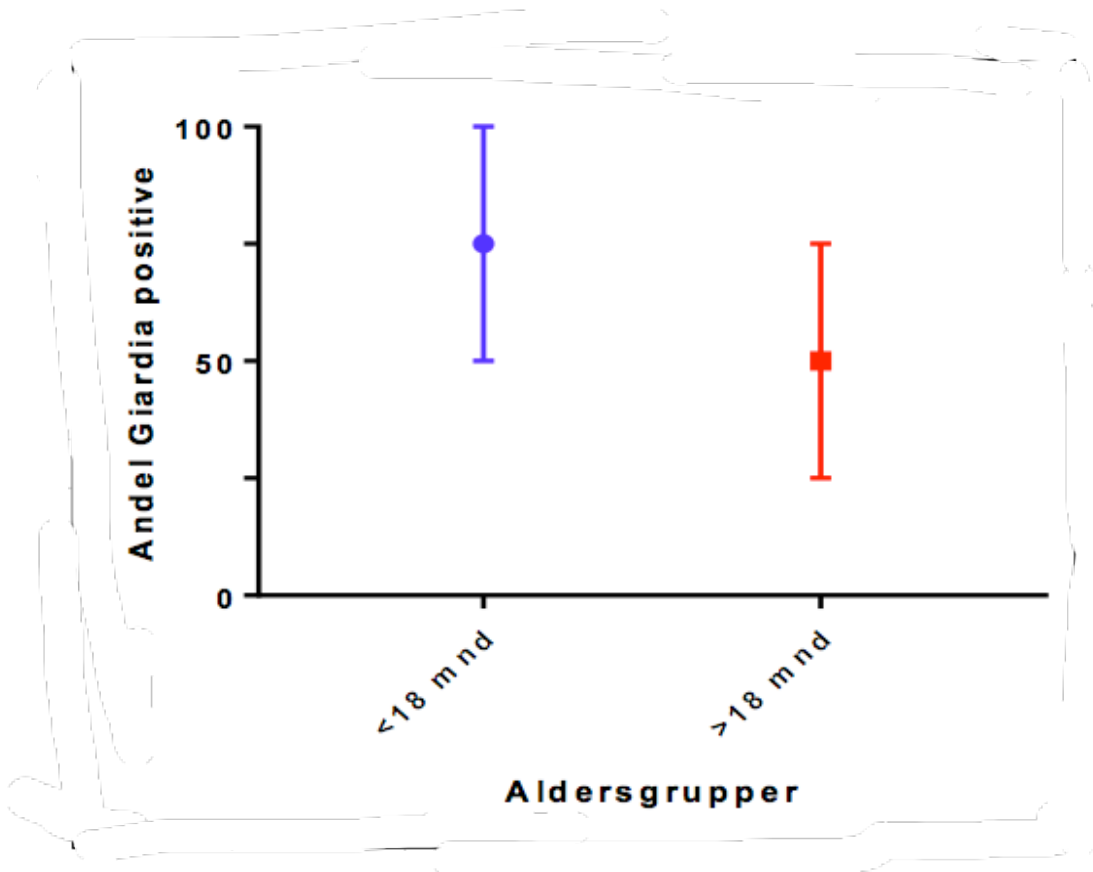


Figur 8: Prevalens (%) av *Giardia duodenalis* i fecesprøver fordelt på enkeltkenneler over de de fire prøvetakingsmånedene. Hver søyle representerer summen av prøveresultatene per måned for samtlige hunder i kennelen.

Alder

Sammenhengen mellom *Giardia*-smitte og alder inndelt i over eller under 18 måneder presenteres i figur 9. Den illustrerer hvor mange av disse hundene som testet positivt.

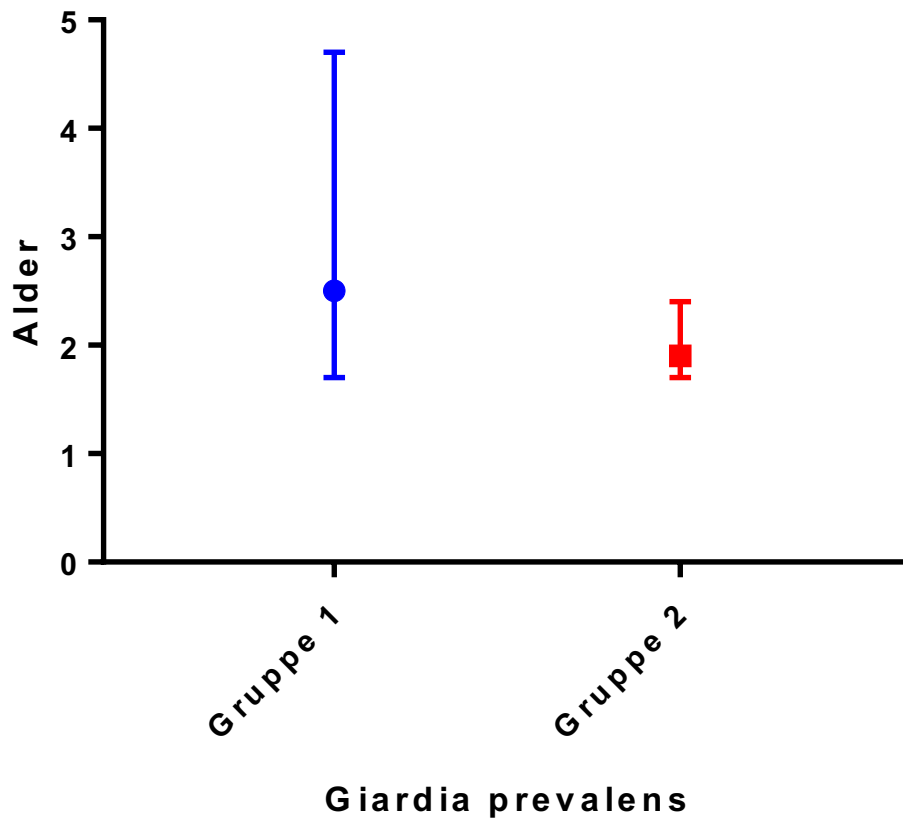
Gjennomsnittlig andel positive prøver til hundene < 18 mnd var på 70,45 % og for hundene >18 mnd på 40,07 %, med relativ lik spredning. Studien avdekket ingen signifikant forskjell mellom aldersgruppene og *Giardia*-smitte.



Figur 9. Prosentandel av studieutvalget under og over 18 måneders alder som testet positivt for *Giardia*. Vertikal linje illustrerer variasjonen i gruppen (95 % KI), mens kulepunktet representerer gruppens gjennomsnittsverdi.

(T-test viser: $p = 0,0517$, 95 % KI <18 mnd. 52,34–88,57 og >18 mnd. 35,65–62,5)

Sammenhengen mellom *Giardia*-smitte, inndelt i gruppe 1 og 2, og alder presenteres i figur 10. Hundene fordeles etter et visst antall positive *Giardia*-prøver; gruppe 1 utgjøres av de som hadde ≤ 2 positive avføringsprøver for *Giardia* ($n=21$), mens gruppe 2 utgjøres av de som hadde >2 positive avføringsprøver ($n=17$). Hundene i gruppe 1 hadde noe høyere alder (gj.snitt 3.657) og et større alderssprik enn gruppe 2 (gj.snitt 2.371). Det ble heller ikke med denne gruppeinndelingen avdekket noen statistisk signifikans mellom parasittforekomst og alder.



Figur 10: Sammenheng mellom hundenes alder og antall positive prøvesvar for *Giardia duodenalis* i gruppe 1 (≤ 2 positive avføringsprøver for *Giardia*) og gruppe 2 (> 2 positive avføringsprøver for *Giardia*). Vertikal linje illustrerer variasjonen i gruppen (95 % KI), mens kulepunktet representerer gruppens gjennomsnittsverdi.

(T-test viser: $p = 0,0652$, 95 % KI 0–50 % 2,453–4,862 og 95 % KI > 50 % 1,634–3,107)

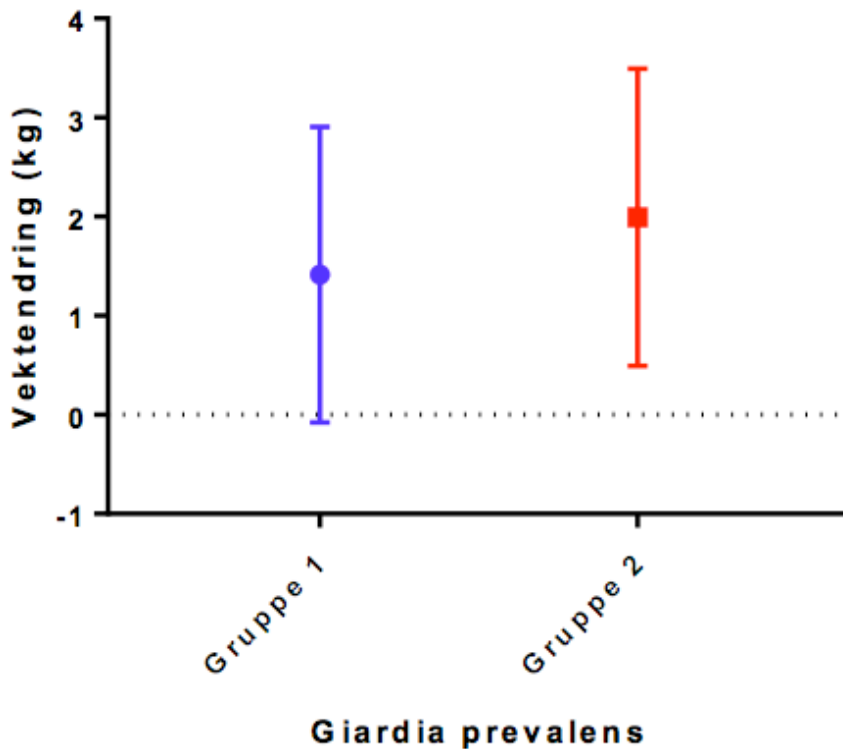
Helse og kliniske parametre

Det ble ikke avdekket avvik på de kliniske undersøkelsene. Alle hundene ble vurdert som friske.

Vekt

Sammenhengen mellom *Giardia*-smitte og vektendring presenteres i figur 12.

Vektberegningen ble gjort ut fra veiinger i slutten av prosjekteperioden minus veiinger i starten av prosjektperioden. Resultatet avdekket ingen sammenheng mellom vekt og infeksjonsgrad.



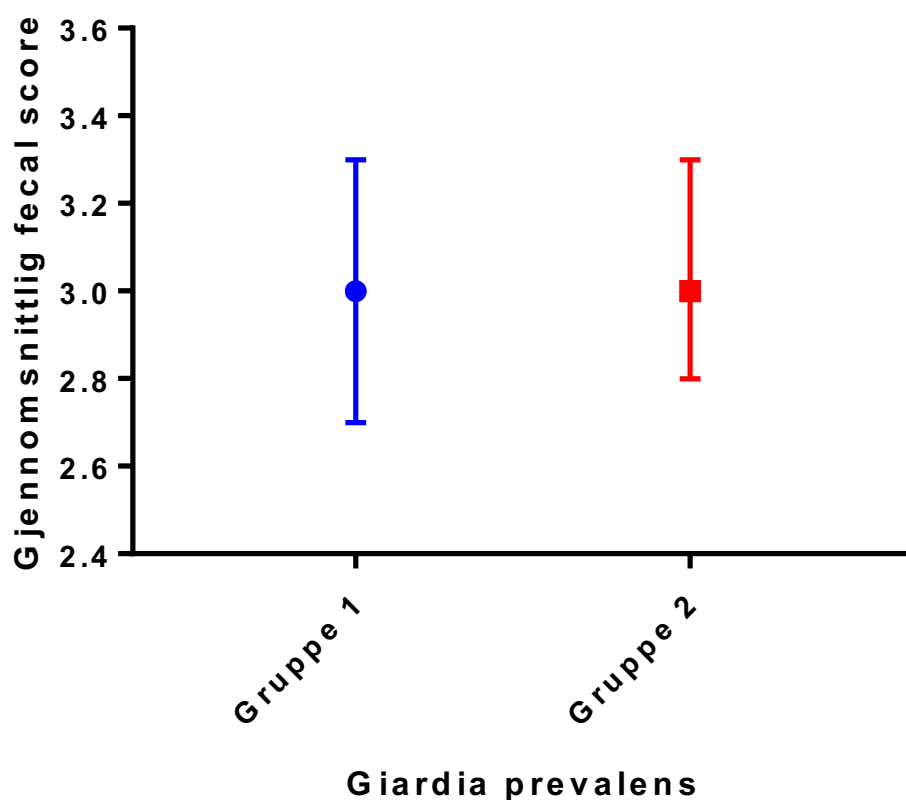
Figur 12. Endring i vekt (kg) i løpet av hele prøveperioden for samtlige hunder i gruppe 1 (≤2 *Giardia*-positive avføringsprøver) og gruppe 2 (>2 *Giardia*-positive avføringsprøver). Vertikal linje illustrerer variasjonen i gruppen (95 % KI), mens kulepunktet representerer gruppens gjennomsnittsverdi.

(T-test viser: $p = 0,5664$, 95 % KI gruppe 1 $-0,0757557-2,906$ og 95 % KI gruppe 2 $0,4931-3,494$).

Fecal score

Sammenhengen mellom *Giardia*-smitte og avføringskonsistens presenteres i figur 13.

Avføringskonsistensen i både gruppe 1 og 2 hadde et gjennomsnitt på 3 hvilket regnes som normalt. Resultatene ga dermed ingen indikator på at *Giardia*-utskillelse over tid påvirker avføringskonsistensen i noen grad.



Figur 13. Graderingen (score 1–4) av avføringskonsistensen i løpet av hele prøveperioden for alle hundene i gruppe 1 (≤2 *Giardia*-positive avføringsprøver) og gruppe 2 (>2 *Giardia*-positive avføringsprøver). Vertikal linje illustrerer variasjonen i gruppen (95 % KI), mens kulepunktet representerer gruppens gjennomsnittsverdi.

(T-test viser: $p = 0,676$, 95 % KI gruppe 1 2,833–3,205, 95 % KI gruppe 2 2,766–3,163)

Prestasjon

Med hensyn til prestasjon var det små forskjeller mellom kennelene og hundene innad i hver kennel (median=1), og det ble ikke funnet noen statistisk signifikans. Kjørerne ble bedt om å notere de enkelte hundenes prestasjon (score 1–3) hver uke i hele prosjektperioden på totalt 17 uker. Dette resulterte i 609 vurderinger. Hundenes prestasjon ble vurdert som god (score 1) i 91,3 % (n=556) av tilfellene, som middels (score 2) i 8,1 % (n=49) av tilfellene og som dårlig (score 3) i <1 % (n=4) av tilfellene. Av ulike grunner, slik som at hundene hadde hviledag, manglet 53 vurderinger.

Diskusjon

Parasittforekomst

Prevalensen av *G. duodenalis* hos hund; selskaphunder og sledehunder, har blitt studert både nasjonalt og internasjonalt. Fokuset ved NMBU har blitt rettet mot sledehunder siden dette er konkurransedyr som lever under høyt smittepress og stor belastning (upublisert materiale, Kristoffer Relling Tysnes) (30) (31).

De fem siste årene har tre studier på *Giardia*-smitte blitt utført i regi av Veterinærhøgskolen; én i og to utenfor løpssesong. Pilotprosjektet fra 2014 var en tverrsnittstudie med én enkelt *Giardia*-analyse per hund, og resultatet var en *Giardia*-prevalens på 43%. I studien fra Femundløpet ble det avdekket en høyere prevalens på 51,6% basert på to målinger (før/etter løp). Vår studie avdekket en prevalens på 86,8% basert på fire målinger der kun fem av 38 hunder testet negativt. Dette indikerer at hvis hunder testes flere ganger, så øker sjansen for å avdekke smitte.

På kennelnivå kan det se ut som det var flest hunder som testet positivt for parasitten på vinteren, i måneden november og desember, der man kunne finne 2 kenneler med 100 % prevalens av *Giardia*. Dette samsvarer med kjent kunnskap om parasittens miljøkrav; fuktig miljø og lave temperaturer.

Videre ble fokuset lagt på en mulig sammenheng mellom cysteutskillete i løpet av studieperioden og deltakerhundredes alder, helse, hold og vekt, diaré og prestasjon. En aktuell arbeidshypotese var at unge hunder under 18 måneder har et mindre utviklet og mer naivt immunforsvar, og dermed lettere kunne utvikle sykdom som følge av smitte. Dette kan gi en langvarig diaré som vil kunne resultere i vekttap og redusert allmenntilstand, noe som igjen kan gi redusert prestasjon på trening og i en fremtidig løpssituasjon.

Alder som risikofaktor for sykdom

Det ble ikke avdekket en statistisk signifikans mellom alder og *Giardia*-smitte verken ved inndeling av studieutvalget i gruppene over/under 18 måneder eller gruppe 1/2. Målingene viste at hunder under 18 måneder testet oftere positivt for *Giardia duodenalis* i løpet av prøveperioden, noe som indikere at yngre hunder kan ha mer aktive *Giardia*-infeksjoner sammenlignet med voksne individer.

Det finnes studier på prevalensen, men lite forskning har blitt gjort på *Giardia*-påvirkning på yngre individer. En aktuell publikasjon på området er en treårig tysk studie fra perioden 1997 til 2000 der det ble innhentet avføringsprøver fra 6833 selskaphunder for å undersøke forekomsten av *Giardia* spp. Forskningsarbeidet avdekket en prevalens av endoparasitten på 16,5 %. Videre ble det påvist at smitten var hyppigst hos valper og hunder under ett år

sammenlignet med eldre hunder over ett år (32). I en polsk publikasjon fra 2009/2010 ble avføringsprøver fra totalt 108 sledehunder fra 25 ulike kenneler undersøkt. Det ble påvist *Giardia* spp. hos 28 % av hundene, og i 54 % av de aktuelle kennelene. Høyest prevalens ble avdekket hos kenneler med over 3 hunder, samt hos hunder under 2 år (19).

I Norge foreligger det noe forskningsarbeid på området. I 2007 ble det samlet inn individuelle avføringsprøver fra totalt 290 hunder fra 57 kull. Individene som ble undersøkt var mellom tre til tolv måneder gamle. I tillegg ble det innhentet samleprøver fra 43 kull og 42 mødre med valper mellom en til to måneder gamle. Undersøkelsene viste en prevalens på 20,7 % for *Giardia* spp. Den individuelle prevalensen lå mellom 6–11,4 %, og denne var høyest hos hunder over seks måneder. Ingen statistisk signifikant sammenheng mellom prevalens og alder ble avdekket. Det ble derimot påvist en sammenheng mellom prevalens og geografi der prevalensen var lavere i Nord-Norge. Den reduserte forekomsten var trolig et resultat av at cystene dør når de utsettes for kulde (31). Studien fra Femundsløpet i 2016 avdekket i utgangspunktet ikke statistisk signifikans mellom smittede individer og lav alder hos hundene ved undersøkelse før deltakelse i løp. Det ble derimot vist at gjennomsnittsalder for hunder som testet positivt for *Giardia* var lavere enn for dem som testet negativt ved undersøkelser av fecesprøver tatt i etterkant av løpet (23).

Selv om det ikke kunne påvises noen statistisk signifikans mellom alder og smitte, kan ikke en slik sammenheng utelukkes basert på disse resultatene alene. Datagrunnlaget er lite og ytterligere undersøkelser med et større studieutvalg er påkrevd for å få mer sikre resultater. Studiene beskrevet over har vist en sammenheng mellom alder og smitte, men hvorvidt smittede individer blir klinisk syke av infeksjonen er fortsatt uklart.

Siden det ikke ble avdekket en sammenheng mellom smitte og alder, er det heller ikke mulig å finne en sammenheng mellom alder, smitte og prestasjon, noe som var hovedmålet med oppgaven. Lite forskning finnes på feltet, og hvorvidt dette er et faktisk problem kan ikke stadfestes.

Helse og kliniske parametre

Ingen statistisk signifikans ble avdekket når det gjaldt *Giardia*-prevalens, helse og prestasjon. Selv om det i dette forsøket ikke ble påvist nedsatt helse til tross for at flertallet testet positivt på *Giardia*, kan det ikke utelukkes at *Giardia*-infeksjon kan påvirke helsen negativt. Lite forskning har blitt gjort på dette feltet. Det eksisterer per dato ikke direkte bevis på at endoparasitten kan gi permanente skader i hundens mage/tarmkanal, men forskning innen human helse viser langtidsvirkninger hos mennesker (15). Det kan tenkes at en infeksjon hos en hund i vekst kan forårsake større problemer for hunden senere i livet enn om den smittes i voksen alder.

En kompliserende faktor ved *Giardia*-smitte er at den kan være vanskelig å avdekke.

Parasitten kjennetegnes ved en høy andel av friske smittebærere. Dette er hunder som er infisert med parasitten og derfor kan smitte andre, men som ikke selv utvikler kliniske symptomer på giardiose. *Giardi*-infeksjon hos hund kan også gi seg utslag i diffuse kliniske symptomer som ikke nødvendigvis oppdages av eier. Et stort antall dyr pr kennel muliggjør at eier utenfor sesong lett kan overse en mildt eller moderat syk hund. I flokksammenheng eller i arbeidsmodus er det i tillegg også trolig at disse arbeidshundene kan maskere sykdom hvis sykdommen gir seg utslag i andre kliniske symptomer enn diaré.

En kilde til feil kan ha vært selve utvalget av kenneleiere. De som ønsket å delta i studien kan ha hatt andre forutsetninger for deltagelse enn kenneleiere som ikke ønsket å delta. De kan ha operert med en høyere hygienestandard, noe som kan ha vært utslagsgivende for resultatene.

Ingen deltakerhunder ble behandlet mot *G. duodenalis* under prøveperioden, men halvparten av kennelene hadde parasittbehandlet i løpet av de to siste årene; én i oktober 2017 (syke enkelthunder) og én i august 2018 (samtlige hunder på kennelen rutinemessig to ganger årlig). Parasittmiddelelene benyttet var henholdsvis Flagyl og Panacur. Parasittbehandling nærme prosjektstart kan potensielt ha påvirket resultatene av forsøket.

Hold og vekt

Det ble ikke avdekket statistisk signifikans mellom *Giardia*-infeksjon og unormal vekt/BCS. I løpet av prosjektperioden gikk hovedparten av hundene opp i vekt (80 %). Kun et fåtall hadde vektreduksjon (20 %), og dette var hovedsakelig hunder over 18 måneder som i utgangspunktet var overvektige med en BCS på 5 eller mer. Overvekten skyldtes trolig at vekteregistreringen ble gjort før oppstart av løpssesongen, og at kenneleier ønsket at hundene hadde vekt å tære på i løpet av sesongen. Ved siste måling hadde denne vektreduksjonen funnet sted som ønsket. Kun en av de overvektige var valp. Ved prosjektstart var denne valpen i godt hold men en BCS på 5, noe som kan anses som normalt for en valp i vekst. Ett forskningsprosjekt innen humanmedisin viste at barn eksponert for *Giardia*-cyster fra griseavføring fikk redusert vekst (33). I hvilken grad denne trenden kan overføres til hunder er ukjent.

Vekt og BCS ble vurdert sammen. Individuelle forskjeller i hundenes kroppsbygning gjorde at vekt alene ikke var en god indikator på hvorvidt hunden lå innenfor normalen. Veiing er en

objektiv vurdering av vekt. Problemet var at dette er en flyktig parameter siden det her er snakk om hunder i vekst. De la naturlig på seg i løpet forsøket, i tillegg til å bygge muskelmasse ved opptrening. Holdscoring er en subjektiv vurdering. Dette ble forsøkt korrigert ved å bruke objektive scoringsskjemaer. Holdvurderingen ga informasjon om hvordan hunden var muskelsatt. Dette var bakgrunnen for at vekt og BCS ble brukt sammen for å si noe om dyrets fysikk.

I dataene som beskriv sammenhengen mellom infeksjonsgrad og vekt ble ikke vekt kontrollert opp i mot kjønn og alder. Bakgrunnen for dette var den lave studieutvalgsstrørrelsen. Optimalt sett skulle dette ha blitt gjort; et større utvalg hadde muliggjort kontroll for kjønn og alder.

Diaré og fecesscoring

En aktuell arbeidshypotese var at *Giardia*-smitte hos unge hunder kan gi langvarig diaré som vil resultere i vekttap og redusert allmenntilstand, noe som igjen eventuelt vil kunne gi redusert prestasjon i trening og i en fremtidig løpsituasjon.

Ved endt prøveperiode ble det ikke avdekket noen statistisk signifikans mellom *Giardia*-smitte og avføringskonsistens/diaré. Både gruppe 1 (to eller færre *Giardia*-positive tester) og gruppe 2 (flere enn to *Giardia*-positive tester) hadde et gjennomsnitt på fecesscoringen på 3. En score på 3 indikerer normal avføring. Dette underbygger resultatet fra fecesundersøkelsene gjort ved Femundløpet i 2016 der det heller ikke ble påvist sammenheng mellom diaré og *Giardia*-positive hunder. Gjennomsnittlig konsistens på avføringen til samtlige hunder i studien (n=93) før løpet var på 3,01 og etter løpet (n=86) på 3,0, altså verken fastere eller

løser konsistens enn normalt (23). Caron et al. (2018) har derimot vist at barn eksponert for *Giardia*-cyster fra gris også ble mer robuste mot å utvikle diaré (33).

I 2008 ble et forsøk utført i forbindelse med Iditarod. Her ble det innsamlet avføringsprøver fra 55 hunder før start og 80 hunder underveis i løpet. Det ble testet for ulike parasitter blant annet *Giardia* spp. Kun 5 hunder testet positivt for *Giardia* spp., men hovedfunnet i prosjektet omfattet avføringskonsistensen. Samtlige 5 hunder som testet positivt før løpet hadde en avføring gradert til 3 eller 4. Dette ble regnet som normalt i følge fecesscoringskjemaet som ble benyttet. De som testet positivt underveis i løpet hadde derimot en avføringskonsistens på 2. Dette ble definert som diaré (7). Dette kan indikere at hunder med *Giardia*-smitte har høyere sannsynlighet for å utvikle diaré i en løpsituasjon, selv om dette ikke ble klart påvist i vår studie.

Hunder som stiller i langdistanseløp skal være klinisk friske. Dette innebærer at de ikke skal ha noen former for diaré på startdagen. Rutinemessige veterinærkontroller både før, under og etter løp skal sikre at hundene er klinisk friske. Dersom hundene derimot er infiserte med *Giardia*, kan det antas at disse lettere utvikler akutt diaré under løp. Løpsituasjonen er stressende og utgjør en påkjenning på dyret, noe som potensielt kan gjøre at infiserte dyr lettere utvikler diaréproblemer. Diaré kan som nevnt tidligere ha annet opphav enn *Giardia*-smitte og/eller stress. Det kan imidlertid ikke utelukkes at *Giardia* er en opportunistisk patogen i denne sammenheng. Tilstedeværelsen av endoparasitten sammen med andre potensielt sykdomsfremkallende faktorer, kan føre til kliniske symptomer i form av diaré.

Mot slutten av prøveperioden i januar 2019 ble betydningen av *Giardia*-forekomst aktualisert i det det kom tilbakemeldinger om et diaréutbrudd fra enkelte deltagende kenneler. Utbruddet

ble satt i sammenheng med deltakelse i flere små løp og bruk av felles treningsarealer i oppkjøringen mot langdistanseløpene Femund og Finnmarksløpet. I ettertid kom ytterligere innspill som indikerte at diaré var ett problem i andre kenneler flere steder i landet. Ved kjøreremøtet under Pasvik Trail avkreftet veterinærer som jobbet ved løpet at dette utbruddet var koblet til *Giardia*-smitte. Trolig var diaréutbruddet virusbetinget, men det er ikke sikkert at hundene hadde blitt like dårlige om de ikke allerede var infisert med *Giardia*.

Vurdering av prestasjon

Resultatene fra prestasjonsvurderingene viste svært lite variasjon mellom kennelene og mellom hundene innad i kennelen. Dette kan være en indikasjon på at *Giardia*-infeksjon hos sledehund ikke nødvendigvis påvirker prestasjon. Det var totalt 53 vurderinger som manglet, og vi kan ikke utelukke at hundene ble tatt ut av trening på grunn av *Giardia*. Objektiv vurdering av prestasjon viste seg å være vanskelig tilgjengelig noe som resulterte i subjektive vurderinger gjort av hundekjørerene selv gjennom prøveperioden. Det kan argumenteres for at dyreeier er den beste til å vurdere sin hunds prestasjon. Det bør allikevel fremholdes at det var mange hunder som ble vurdert på samme tid og det kan ikke utelukkes at sykdomstendenser hos enkelthunder ikke ble fanget opp. Hunder kan være flinke til å maskere visse sykdomstegn og kanskje spesielt brukshunder som er avlet for å jobbe hardt. Det er også mange faktorer som kan påvirke en hunds prestasjon i trening som ikke er relatert til sykdom, som for eksempel potekutt, haltheter og lignende. Hva deltagerne la i begrepene «god», «middels» og «dårlig prestasjon» kan ha variert, noe som potensielt vanskeliggjør sammenligningen på tvers av kenneler.

I studien fra Femundsløpet 2016 var også hensikten å se etter sammenhenger mellom blant annet smitte og prestasjon, og der ble det ikke avdekket noen signifikant sammenheng mellom smittede/ikke-smittede individer og løpsprestasjon (23). Materialet i begge disse studiene er lite, og det er av interesse å følge dem opp med ytterligere undersøkelser av større populasjoner for slik å komme nærmere en avklaring på betydningen av parasitten for sledehunders prestasjon og helse.

Hard trening over tid, samt øvrig stress i forbindelse med trening og løp representerer en stor belastning for hunden, noe som kan resultere i svekket immunforsvar. Dette gjør sledehunder potensielt mer utsatt enn selskaphunder for smitte og sykdom, men her mangler det data for å underbygge en slik hypotese for *G. duodenalis*. Uformelle samtaler med kenneleiere i prosjektet og andre hundekjørere som deltok ved årets Femundløp og Pasvik Trail, har etterlatt et inntrykk av at parasitten er noe sledehundkjørere og kenneleiere selv opplever som et problem for deres hunder.

Vurdering av materiale og metode

Svakheter i utvalget

Studieutvalget ble etablert gjennom en systematisk, ikke-tilfeldig, utvelgelse etter hundenes alder. Det endelige utvalget ble bestående av kun 35/38 hunder basert på kriteriet om nærhet til NMBU campus Adamstuen. Dette utgjør et lite utvalg av antallet sledehunderhunder i Østlandsområdet og representerer en svakhet i arbeidet. Etableringen av et tilstrekkelig studieutvalg viste seg utfordrende. 90 hunder var planlagt deltagende i studien, men fem av de interesserte kennelene ønsket allikevel ikke deltagelse og en trakk seg etter innledende besøk på kennelen.

Ved inndelingen i «gruppe 1» og «gruppe 2» ble skillet satt ved to positive prøvesvar. Arbeidshypotesen var at hyppig utskilling av *Giardia*-cyster indikerer en vedvarende infeksjon, noe som kan forstås som en mer aktiv infeksjon. Resmitte kan være en annen årsaker til at hunden tester positivt gjentatte ganger. Dette kan være en alternativ forklaring på den vedvarende utskillelsen.

Optimalt sett skulle studieutvalget ha hatt en kontrollgruppe; en kennel uten påvist *Giardia*-smitte. Dette hadde muliggjøre sammenligninger mellom smittede og smittefrie kenneler. Hvorvidt en slik kontrollgruppe hadde vært mulig å finne er usikkert siden parasitten er utbredt og kjennetegnes ved friske smittebærere og hardføre cyster i miljøet. Dersom dette hadde vært et krav før prosjektstart, hadde det vært små sjanser for gjennomføring av prosjektet siden sannsynligheten for å finne en slik kennel er minimal.

Variabelvalg

De ulike parametrene som inngikk i den kliniske undersøkelsen samt alder, feceskonsistens og forekomst av *Giardia*-cyster i feces utgjorde variablene benyttet for å avdekke prevalens og eventuelle følger av *Giardia*-smitte. Spørsmålet var hvor effektive spesielt de kliniske parametrene var på å avdekke smitte. Klinisk friske smittebærere vil ikke bli fanget opp ved en klinisk undersøkelse og dette gjelder en stor andel av de *Giardia*-smittede. I studien var 86,8 % smittet. Hundene fremstod for øvrig som friske og ingen av hundene hadde påfallende diarésymptomer. De smittede ble kun fanget opp ved gjentagende *Giardia*-testing.

Utforming av spørreskjema

Upresis spørsmålsformulering og misvisende språkbruk i spørreskjemaet medførte vide og varierende svar fra kenneleierne. Dermed gikk man glipp av informasjon om alder ved

opptrening og treningsmengden utenfor sesong som potensielt kunne ha blitt brukt til å si noe om *Giardia*-påvirkningen på prestasjon. En avgrenset definisjon på uttrykket «utenfor sesong» og bruk av etablerte termer innen sledehundekjøremiljøet slik som «innkjøringsalder» kunne ha bidratt til mer entydige svar på undersøkelsen. Svarene bar preg av at respondentene forstod spørsmålene ulikt. Ønsket om presisering av termer ble da også etterspurt av en av respondentene.

Avvik ved prøvetaking og parasittologiske analyser

Ulike avvik ved prøvetaking utgjorde potensielle feilkilder. Hundeeierne samlet selv inn prøvene i 2 av 4 prøveperioder. Forskjellige prøvetakere vanskeliggjorde kontroll og etterprøving av prøvetakingsprosessen. Prøver kan potensielt ha blitt tatt fra feil hund eller fra gammel avføring. Ekstrem kulde destruerer *Giardia*-cyster. Kuldeperioden kan ha påvirket påvisningsprosessen med mindre fecesprøvene ble tatt fra fersk avføring. Prøvene ble sendt per post. Det er uklart hvor lang tid det tok fra prøvetaking til sending og hvor lang tid selve postsendelsen tok. Dette har gjort det vanskelig å avgjøre hvor lenge prøvene lå i romtemperatur før de ankom laboratoriet.

Ulike avvik ved de parasittologiske analysene utgjorde også potensielle feilkilder. Prøver som beviselig lå lenge i posten på grunn av ferieavvikling medførte oppvekst av blant annet sopp i feces. Visse typer sopp danner strukturer med stor grad av likhet til *Giardia*-cyster. Disse soppsporene kan også binde uspesifikt til den fluorescerende fargen som blir brukt i testen, og kan dermed ha blitt feilklassifisert som *Giardia*-cyster ved fluorescensmikroskopi. På laboratoriet ble kun 5µl av prøvemateriale benyttet. Dette utgjorde en liten andel av innsendt prøve. I tillegg ble prøvene undersøkt direkte uten homogenisering. Dette kan ha medført falske negative i prøvematerialet.

Validitet og systematiske feil

Trussel mot intern validitet

Informasjonsfeil kan ha forekommet i den aktuelle studien for målingene av kliniske parametere og laboratoriearbeidet. Enkelte hunder kan ha fått ukorrekte verdier på den kliniske undersøkelsen. Enkelte hunder kan ha fått ukorrekte verdier på den kliniske undersøkelsen. Dette gjelder spesielt feces- og holdscoringer siden dette var subjektive vurderinger. Dette ble forsøkt korrigert ved å bruke objektive scoringsskjemaer. Underveis i de kliniske undersøkelsene ble det også avdekt en potensiell målefeil ved veiingene som kan ha gjort at enkelthunder fikk registrert feil vekt. Vekten som ble benyttet krevde et absolutt flatt underlag for å avgi korrekt verdi. Dette resulterte i at opptil tre målinger ble utført for å sikre at slike målefeil ikke oppstod. I tillegg ble respirasjon- og hjerterefrekvens i flere tilfeller tatt etter at hundene hadde stresset seg opp enten på grunn av selve prøvetakingssituasjonen eller på grunn av aktivitet før målingene ble gjennomført. I flere tilfeller ble hunden sluppet løs kort tid før målingene ble tatt. I studien eksisterte det en fare for både falske positive og negative resultater. Den intermitterende utskillelsen av *Giardia*-cyster hos hunder kan potensielt resultere i falske negative slik at smittede hunder ikke ble avdekket. Dette ble forsøkt forhindret ved å ta fire fecesprøver på ulike tidspunkter.

Konfundering og interaksjon: Prosjektet har tatt for seg *Giardia duodenalis* som mulig årsaksfaktor til sykdom og har i den sammenheng undersøkt en rekke faktorer som kan være tegn på smitte eller sykdom. Vektendring, prestasjonsfall eller diaré kan skyldes andre årsaker enn *Giardia*-infeksjon. Fôrmengde, -type og -kvalitet, hygiene på kennelen og geografisk beliggenhet i landet er slike mulige konfundervariabler. Tilsvarende kan sies om *Giardia*-smitte som mulig årsaksfaktor til nedsatt prestasjon. Ernæring, kjører, underlag, rutiner og underlag er tredjefaktorer som kan gi nedsatt prestasjon uten at det er snakk om *Giardia*-

problematikk. Slike konfoundere kan avdekkes på flere områder. Ved interaksjon er det en reell effekt, men effekten er forskjellig for ulike verdier av den tredje variabelen (Rolf. F.lesning dag 2). Sammenhengen mellom *Giardia*-smitte og vektendringer vil også påvirkes av treningsgraden. Vektendringer er blant annet avhengig av alder og utviklingen hos hunden. I tillegg er vektendringer forskjellig hos tisper og hannhunder.

Muligheten for *feiltolkning av sammenhenger* kan oppstå hvis vi drar feil konklusjoner til tross for at datamaterialet er korrekt og representativt (Rolf, protokoll). Både diaré, vekttap og redusert allmenntilstand er lite spesifikke klinisk symptomer som kan skyldes en rekke andre faktorer enn infestasjon av endoparasitten. Diaré kan som tidligere diskutert skyldes akutte faktorer som raskt fôrskifte eller stress eller andre mer sammensatte kroniske tilstander. Det samme kan sies å gjelde for vekttap der fôrallergier eller sykdom forøvrig kan være den faktiske årsaken. En dårlig allmenntilstand kan være et resultat av dårlig immunstatus eller sykdom for øvrig. Dette utgjør mulige feiltokninger.

Trussel mot ekstern validitet

Spørsmålet her var hvorvidt funnene og konklusjonene fra de fire sledehundkennelene er gyldig for sledehunder på Østlandsområdet eller i Norge for øvrig. Studien hadde lav grad av generaliserbarhet siden man valgte å avvike fra kriteriene for tilfeldig og representativt utvalg, i tillegg til at utvalget er lite, men siden prosjektet har karakter som en pilotstudie kan man forfekte at den vil kunne gi en pekepinn på om giardiose utgjør et problem for spesielt unge sledehunder.

Konklusjon

Formålet har vært å kartlegge om endoparasitten *Giardia duodenalis* utgjør et problem hos unge sledehunder før de deltar i første løp. Det ble i den sammenheng sett på parasittforekomst og målet var å finne potensielle sammenhenger mellom smitte og alder, helse, vekt, diaré og prestasjon. Studien avdekket kun en statistisk signifikans mellom parasittprevalens og prestasjon.

IFAT-metoden avdekket en **parasittforekomst** på 86,8 % blant de 38 hundene som var delaktige i prosjektet. Arbeidet konkluderte med en høy prevalens hos deltagende sledehunder, noe som kan gi en indikasjon på høy prevalens hos sledehunder i Norge forøvrig. Dette finnes både nasjonal og internasjonal forskning som støtter dette.

Det ble ikke påvist noen sammenheng mellom smitte og **prestasjon**. Studieutvalget var lite, og prestasjonsvurderingen ble gjort av kenneleierne selv, noe som kan ha påvirket resultatet. Det ble heller ikke påvist noen statistisk signifikans mellom smitte og avføringskonsistens/**diaré**. Den høye parasittforekomsten uten tilstedeværelse av diaré, viser at friske smittebærere er utbredt i denne studien. Arbeidet konkluderte med en høy andel av friske smittebærere, noe som samfaller med tidligere studier. Det ble ikke produserte data som avdekket en sammenheng mellom smitte og **alder**. Selv om alle hundene under 18 måneder testet positivt for *G.duodenalis*, så var utvalget såpass lite at man ikke kunne konkludere med en statistisk signifikans. Tidligere forskning har derimot påvist dette. Det ble heller ikke avdekket noen statistisk signifikans mellom smitte og **nedsatt allmenntilstand**.

Basert på tidligere forskning og kjent kunnskap om parasittens egenskaper kan man konkludere med at *Giardia* spp. er en parasitt som er vanskelig lar seg sanere. Den er vanskelig å bli kvitt i miljøet og reinfeksjon har vist seg å være et av de største problemene i en kennelsituasjon. Hvis smitten først er introdusert er en parasittfri kennel vanskelig å oppnå, utfordringen blir da å fjerne parasitten både fra dyret selv og fra miljøet dyret oppholder seg i. Fokuset bør derfor ligge på å **forebygge** introduksjon av smitte.

Takk til bidragsyttere

Vi ønsker å rette en stor takk til hundekjørerene som deltok i prosjekt vårt, og som slapp oss inn i hundegårdene samt inn i sine hjem på både gode samtaler og sårt tiltrengt kaffe. Uten dere hadde ikke prosjektet eksistert, så takk for tålmodigheten ved uttak av utallige avføringsprøver og full klinisk undersøkelse på dager dere utvilsomt hadde annet fore. Vi ønsker også å rette en takk til Torunn Garder, leder i Hakadal sledehundklubb, som hjalp oss med å finne deltagere til prosjektet og som sporenstreks inviterte oss på hundekjørerseminar på Brandbu – den perfekte inspirasjonskilden. En takk går også til veiledere og ansatte ved parasittologisk laboratorium ved Campus Adamstuen for hjelp med å finne frem i en labyrint av skuffer og skap, samt med fiksering av prøver og vurdering av utstryk.

Summary

Title: Investigations on the prevalence and effects of *Giardia duodenalis* in younger sled dogs outside the racing season

Authors: Karoline Kiran Lorentzen and Lillian Lysgård

Supervisor: Kristoffer Relling Tysnes and Lucy Robertson, Department of Food Safety and Infection Biology, and Ellen Skancke, Department of Companion Animal Clinical Science.

Faecal samples (N=150) were collected from 35 Alaskan husky sled dogs from four different kennels in southeastern Norway over a 4-month period. The main aim of the study was to determine whether the endoparasite *Giardia duodenalis* is a problem for young sled dogs before they participate in their first race, compared to that of adult dogs. The goal was to look at parasite occurrence and to explore potential relationships between *Giardia* infection, age, clinical symptoms, weight change, diarrhoea and performance. Health status was evaluated by clinical examination, assessment of body condition score, weighing, and faeces scoring. Performance was assessed from the kennel's weekly training log. *Giardia* infection was assessed by analysing monthly stool samples with immunofluorescence microscopy (IFAT).

A high cumulative prevalence (86,8 %) of the *G. duodenalis* was detected, which supports previous research on *Giardia* in Norwegian sled dogs. No statistical significant association between infection and the other parameters examined was identified. The database was small, and further investigations with a larger study population are necessary to achieve more trustworthy results.

Infection with *G. duodenalis* is challenging to prevent, due to its intermittent excretion, environmental resistance, favourable conditions for the parasite in Norway (cold and wet environment), direct and indirect paths of infection, and asymptomatic carriers. Repeated infections are probably one of the main problems. The high prevalence with few clinical

symptoms suggest that focus should be on prevention, with treatment only of diagnosed individuals showing clinical signs of disease.

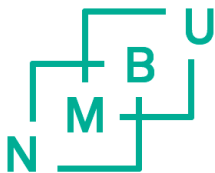
Referanser

1. Gjerde BK. Innføring i parasittologi bk.gjerde.name: Bjørn Gjerde; 2014 [updated 31.12.2014; cited 2019 01.02]. Available from: <http://bk.gjerde.name/index.php/component/phocadownload/file/129-innforing-i-parasittologi-2015>. Side: 14.
2. Norges-hundekjørerforbund. Slede sleddog.no [cited 2019 13.02]. Available from: <https://www.sleddog.no/grener/slede/>.
3. Norges-hundekjørerforbund. Barmark sleddog.no [cited 2019 13.02]. Available from: <https://www.sleddog.no/grener/barmark/>.
4. Norges-hundekjørerforbund. Nordisk sleddog.no [cited 2019 13.02]. Available from: <https://www.sleddog.no/grener/nordisk>.
5. Norges-hundekjørerforbund. Konkurransereglement og arrangementsreglement for hundekjøring sleddog.no2016 [cited 2019 18.02]. Available from: <https://www.sleddog.no/wp-content/uploads/2019/01/Felles-kj%C3%B8rereglement-2016-VEDTATT-31082016.pdf>.
6. Norges-hundekjørerforbund. Trekkhundregisteret www.sleddog.no [Available from: <https://www.sleddog.no/trekkhundregisteret/>].
7. E. McKenzie JR, H. Banse, P.H. Kass, S. Nelson, Jr, S.L Marks. Prevalence of Diarrhea and Enteropathogens in Racing Sled Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2010;24(1).
8. Davis MS WM, Nelson SL, Mandsager RE, McKiernan BS, Mansell JK, Lehenbauer TW. Prevalence of gastric lesions in racing Alaskan sled dogs. 2003.
9. Direct S. Assessing the Potential for Pathogen Transfer from Grassland Soils to Surface Waters *sciencedirect.com* [cited 2019 17.01]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/giardia>.
10. Gjerde BK. Protozoologi bk.gjerde.name2014 [cited 2018 01.10]. Available from: <http://bk.gjerde.name/index.php/component/phocadownload/file/115-protozoologi-2011>.
11. Tysnes KR. In vitro studies on canine giardiasis. Department of Food Safety and Infection Biology, Faculty of Veterinary Medicine and Biosciences, Norwegian University of Life Sciences. 2014.
12. Veterinærinstituttet. *Giardia duodenalis* [vetinst.no](http://www.vetinst.no) [cited 2018 01.10]. Available from: <https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/giardia-duodenalis>.
13. Kevin G.–E. Scott JBM, David R. Kirk, Susan P. Lees–Miller,□, Buret aAG. Intestinal Infection With *Giardia* spp. Reduces Epithelial Barrier Function in a Myosin Light Chain Kinase–Dependent Fashion. 2002.
14. Tzu-Ling Chen SC, Hsiu-Wei Wu, Tsung-Chun Lee, Yen-Zhen Lu, Li-Ling Wu, Yen-Hsuan Ni, Chin-Hung Sun, Wei-Hsuan Yu, Andre G Buret⁶ and Linda Chia-Hui Yu. Persistent gut barrier damage and commensal bacterial influx following eradication of *Giardia* infection in mice. 2013.
15. Kurt Hanevik VD, Nina Langeland and Trygve Hausken. Development of functional gastrointestinal disorders after *Giardia lamblia* infection. 2009.
16. Buret MCHaAG. Extra-intestinal and long term consequences of *Giardia duodenalis* infections. *World journal of Gastroenterology*. 2013.
17. Statens-legemiddelverk. Endoparasittbehandling av hund og katt. In: legemiddelverk S, editor. legemiddelverket.no2010.
18. Sahatchai Tangtrongsup D, MSc, and Valeria Scorza, DVM, PhD. Update on the diagnosis and management of *giardia* spp infections in dogs and cats. 2010.

19. Anna Bajer MB, Anna Rodo Risk factors and control of intestinal parasite infections in sled dogs in Poland. 2010.
20. Ruth Fiechter PD, Manuela Schnyder. Control of *Giardia* infections with ronidazole and intensive hygiene management in a dog kennel. 2011;187(1-2).
21. Raul Arguello-Garcia MC-S, Lydia Romero-Montoya, Guadalupe Ortega-Pierres. In vitro resistance to 5-nitroimidazoles and benzimidazoles in *Giardia duodenalis*: Variability and variation in gene expression. *Infection, Genetics and Evolution*. 2009;9.
22. Jørgen Dalaker SG, Elin Beate Sundsbø. Retrospektiv studie av forekomst av endoparasitter hos hunder i Norge påvist ved facesundersøkelse i årene 2009-2012 2008.
23. Iselin Fjellanger SDLoSRS. Forekomst av intestinale parasitter hos norske sledehunder som deltok på Femundløpet 2016: NMBU; 2017.
24. Løvås GG. Statistikk - for universiteter og høyskoler 1999.
25. Ask FF. Elementær statistikk - en pedagogisk innføring 2006. 131 p.
26. Racevets. Om oss www.racevets.org [Available from: <https://racevets.org/no/om-oss/>].
27. Inoue N. Indirect Fluorescent Antibody Technique: IFAT.
28. Wikipedia. Fluorescence microscope. www.wikipedia.com.
29. ClinCalc. Sample Size Calculator www.clincalc.com [Available from: <https://clincalc.com/stats/samplesize.aspx>].
30. Floren A. Förekomst av *Giardia* i symtomfria valpkullar 2008.
31. Hamnes IS GB, Robertson LJ. A longitudinal study on the occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in dogs during their first year of life. 2007.
32. Barutzki D. Prevalence of *Giardia* spp. in dogs in Germany.
33. Yannick Caron RH, Ludovic Gauthier, Arnaud Laillou, Frank T. Wieringa,, Poirot JBaE. Stunting, Beyond Acute Diarrhoea: *Giardia Duodenalis*, in Cambodia. 2018.

Vedlegg

Vedlegg 1: Resultatbrev



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Oslo, mai 2019

Informasjon om resultater

Resultater fra parasittologisk analyse utført i forbindelse med forskningsprosjektet «Forekomst og påvirkning av *Giardia duodenalis* hos yngre sledehunder utenfor løpssesong».

Vi har analysert avføringsprøvene fra kennelen din som ble innsamlet i løpet av månedene oktober - februar. En eller flere av hundene dine testet positivt for *Giardia duodenalis*. Du bør ta kontakt med din veterinær for nærmere råd angående forebyggende tiltak og eventuell parasittbehandling. Vedlagt finner du resultatene på *Giardia*-testene og den kliniske undersøkelsen.

I dette skrevet finner du informasjon om parasitten, behandlingsalternativer og hvilke tiltak som er anbefalt for å begrense utbredelsen.

Informasjon om parasitten

Giardia duodenalis er en parasitt bestående av én celle som lever inne i en vert der den forårsaker mage- og tarminfeksjon ved å feste seg til tarmveggen. En rekke pattedyr kan smittes inkludert menneske. Det finnes åtte ulike *Giardia*-varianter; fire kan smitte hunder, to av disse hos hund kan også smitte mennesker. Sykdommen kalles giardiose eller giardiasis. De vanligste symptomene hos hund er diaré og oppkast, og trolig er en akutt variant vanligst. *G. duodenalis* overføres med cyster som skilles ut via avføringen. Cystene kan smitte andre dyr i det de utskilles, og det tar mellom 6–16 dager fra dyret er smitte til det er mulig å påvise infeksjonen. Cystene er relativt miljøresistente og kan leve i flere måneder under norske forhold med fukt og lave temperaturer. Ett infisert individ kan utskille millioner av cyster daglig over lange tidsperioder. Denne utskillelsen kan være periodevis. Smittedosen er meget lav og teoretisk sett er én cyste tilstrekkelig for sykdom. Parasitten spres både via direkte kontakt og via miljøet gjennom blant annet feces og drikke. En av utfordringen i en kennelsammenheng er tilstedeværelsen av asymptomatiske smittebærere. Dette er hunder som

ikke utvikler sykdom, men som bidrar til videre smitte. Forekomst av parasitten hos hunder i Norge ligger på mellom 0–11,4 % i ulike aldersgrupper fra 1-12 måneder. Forekomsten blant sledehunder i denne studien var på 86,6 %.

Parasittbehandling

Legemiddelverket har egne retningslinjer for behandling av endoparasitter hos hund og katt. De anbefaler kun å behandle som ledd i et profylakseprogram eller ved en sikker indikasjon; fastslått diagnose etter velbegrunnet mistanke om parasittinfeksjon. Valgte legemiddel skal være rettet mot den aktuelle parasitten. Legemiddelet må være godkjent til bruk primært på den aktuelle versart med den spesifikke parasitten som indikasjonen.

Anbefalt legemiddel for behandling av *Giardia* hos hund er fenbendazol. Dette er førstevalget. Dosering: 50 mg/kg daglig i 3 dager. Alternativt kan man bruke metronidazol; 25–50 mg/kg 1–2 ganger daglig i 5–7 dager, eller en kombinasjon av pyrantel, prazikvantel og febantel. Tidligere kunne man vaksinere mot *Giardia* spp. hos hund. Dette ble ikke praktisert i Norge og vaksinen er ikke lenger markedsført her til lands. Den gir ikke tilstrekkelig beskyttelse og er heller ikke anbefalt å bruke profylaktisk. Reinfeksjon på grunn av smitte i miljøet kan være et problem. Dette gjør at god hygiene og miljøtiltak er viktig for å holde smittepresset nede.

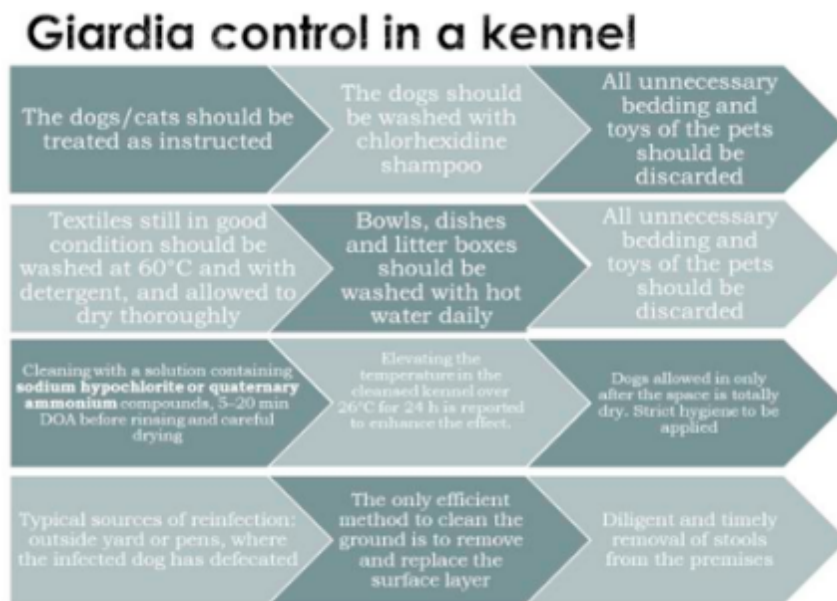
Parasittmidler påvirker cellulære funksjoner hos parasitten. Seleksjon hos parasitten kan medføre redusert følsomhet for det aktuelle legemidlet. Dette kalles resistens, og defineres som nedsatt følsomhet mot et parasittmiddel i én parasittpopulasjon sammenlignet med en normal populasjon. Resistens kan nedarves og er følgelig genetisk betinget. Overforbruk og/eller feilaktig bruk av parasittmidler kan bidra til resistensutvikling. Oppstår resistens mot ett parasittmiddel, utvikles ofte en samtidig resistens mot andre parasittmidler som har samme virkningsmekanisme. Det foreligger ikke dokumenterte tilfeller av resistente *Giardia*-stammer hos hund eller mennesker, men det er beskrevet resistensutvikling mot fenbendazol og metronidazol *in vitro*.

Aktuelle forebyggende tiltak mot parasitten

Giardia ssp. er en parasitt som vanskelig lar seg fjerne. Et problem er reinfeksjon, og derfor bør fokuset ligge på å forebygge introduksjon av smitte. Et aktuelt forebyggende tiltak er å redusere smittepresset. Dette gjøres ved å redusere antallet hunder i kennelen. Kjenneleier bør unngå at hundene kommer i kontakt med avføring fra hunder i samme kennel eller fra andre kenneler i sammenheng med trenings- eller løpssituasjoner. Det er viktig med regelmessig og hyppig fjerning av avføring fra liggeplass og luftegård for øvrig. Generell god hygiene på kennelen med regelmessig vask av disse områdene er å anbefale. På vaskbare overflater bør vaskemidler med ammoniakk benyttes. Et underlag med god drening i form av grus eller plattning er å anbefale.

Hvis smitten allerede er introdusert i kennelen, så er utfordring å fjerne parasitten både fra dyret selv og fra miljøet hundene oppholder seg i. Bekjempelsesplanen (figur 1) er et forslag

til fremgangsmåte for smittesanering i hundekenneler med allerede eksisterende *Giardia*-problemer. Hundene bør gjennomgå behandling etter retningslinjer drøftet i studiens innledning. Hovedregelen er å kun behandle hunder som tester positivt for parasitten. Hunden vaskes med klorheksidinsjampo. Tekstiler og leker som tilhører hunden bør i størst mulig grad kastes. Gjenværende tekstiler vaskes med såpe på minimum 60 °C før de tørkes. Mat- og vannskåler bør vaskes daglig med varmt vann. Overflater i kennelen vaskes med en løsning inneholdende natriumhypokloritt eller kvarternær ammonium. La løsningen sitte i 5–20 minutter før avskylning og tørking. Temperaturen i kennelen økes til >26 °C i et døgn. Alle vaskede flater skal være tørre før hundene slippes inn igjen. Typiske kilder for reinfeksjon er hundegården på grunn av avføring fra smittede individer. Den eneste effektive metoden for rengjøring av uteområder er å fjerne og erstatte det øvre jordlaget og påfølgende hyppig fjerning av feces.



Figur 1. Bekjempelsesplan mot *G.duodenalis* (hentet fra boken *Canine parasites and parasitic diseases* – av Seppo Saari, Anu Nareaho og Sven Nikander)

Kennelnavn: resultater fra Giardia-undersøkelsen

Hundens navn	Giardiasstatus
Nr. 1:	Påvist
Nr. 2:	Påvist
Nr. 3:	Påvist
Nr. 4:	Påvist
Nr. 5:	Ikke påvist
Nr. 6:	Ikke påvist
Nr. 7:	Påvist
Nr. 8:	Påvist
Nr. 9:	Påvist

Kennelnavn: resultater fra klinisk undersøkelse i oktober:

Hundens navn	Parametre							
	Kg	T	HF	Puls	RR	Slh	Lln	BCS
Nr. 1:								
Nr. 2:								
Nr. 3:								
Nr. 4:								
Nr. 5:								
Nr. 6:								
Nr. 7:								
Nr. 8:								
Nr. 9:								
Nr. 10:								

Kg = hundens vekt
T= temperatur (°C)
HF = hjertefrekvens (slag pr. min.)
Puls = Pulsslag pr. min.

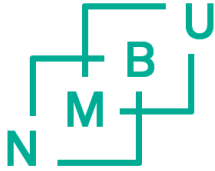
RR = respirasjonsfrekvens (pust pr. min.)
Slh = slimhinner der r= rosa, f=fuktige
BCS = body condition score (1-9)

Lln = størrelse på lymfeknuter der
u.a. = normal, >N: forstørret

Kennelnavn: Resultater fra klinisk undersøkelse i februar:

Hundens navn	Parametre							
	Kg	T	HF	Puls	RR	Slh	Lln	BCS
Nr. 1:								
Nr. 2:								
Nr. 3:								
Nr. 4:								
Nr. 5:								
Nr. 6:								
Nr. 7:								
Nr. 8:								
Nr. 9:								
Nr. 10:								

Vedlegg 2: Informasjonsskriv



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Oslo, september 2018

Informasjon til hundekjørere

Vi viser til tidligere kommunikasjon per telefon, e-post og/eller via kontaktperson vedrørende deltakelse i vårt fordypningsprosjekt «*Undersøkelse av forekomst og påvirkning av Giardia duodenalis hos unge sledehunder før deltakelse i første løp*». I dette skrivet vil du få mer informasjon om prosjektet og om hvordan vi ønsker å gjennomføre det i samarbeid med dere.

Kort om oss

Vi er to veterinærstudenter på avsluttende år ved Veterinærhøgskolen, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), som ønsker å sette fokus på tarmparasitten *Giardia duodenalis* hos unge Alaska huskyer i Oslo og omegn

Prosjektgruppen består av:

- Veileder: Kristoffer Relling Tysnes, forsker ved Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi ved NMBU
- Medveileder: Lucy Robertson, professor ved Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi ved NMBU
- Medveileder: Ellen Skancke førsteamanuensis ved Institutt for sports-og familiedyrmedisin ved NMBU
- Veterinærstudenter, kull 2013:
 - Lillian Lysgård
 - Karoline Kiran Lorentzen

Bakgrunn for prosjektet

Vårt prosjekt bygger på en tidligere studie i regi av Veterinærhøgskolen der 87 hunder ble undersøkt for tarmparasitter i forbindelse med Femundløpet i 2016. I denne studien undersøkte man forekomsten av blant annet *Giardia duodenalis* for så å se om en eventuell smitte påvirket hundenes prestasjon. Studien avdekket høy forekomst av parasitten og da særlig hos de yngste hundene som deltok. Ut over dette fant man ingen klar sammenheng mellom smitte og løpsprestasjon. På bakgrunn av dette ønsker vi nå å se nærmere på unge hunder før de deltar i første løp. Er parasitten et større problem hos unghunder? Kan smitten påvirke fremtidige løpsdeltagelse?

Utførelse av prosjektet

Vi ønsker å undersøke totalt 10 hunder fra 9 ulike kenneler i Oslo og omegn i perioden oktober 2018 til januar 2019. Hundene som skal delta i studien bør være i aktiv trening og i tillegg være tiltenkt deltakelse i løp i kommende sesong.

Vi kommer til å reise ut til dere etter avtale i begynnelsen og mot slutten av studieperioden for å gjøre en klinisk undersøkelse av hundene. Hundens allmenntilstand, hold og vekt vil bli registrert. Vi ønsker videre å undersøke avføringsprøver fra hundene for *Giardia*-cyster én gang i måneden. Selve prøvetakingen utføres av hver enkelt kennel i månedene oktober til og med januar. Vi kan bistå ved første prøvetaking hvis ønskelig. For å kunne vurdere hundenes prestasjon vil vi be dere om å føre en enkel logg over treningene gjennom hele prosjektperioden. Vi vil også be dere om å fylle ut et spørreskjema for å få relevant informasjon om hundene.

Spørreskjema, informasjonsskriv, utvelgesskjema, samtykkeskjema og oppsett for treningslogg vil bli oversendt per e-post i forkant av prosjektstart. Spørreskjemaet utfylles elektronisk. Utvelgesskjema sender du oss i retur per e-post innen 26. september. Signert samtykkeskjema samles inn ved første besøk i begynnelsen av oktober. Samtidig overleveres prøvetakingsutstyr for fire måneder med tilhørende ferdigfrankerte konvolutter for innsendelse av prøvene. Treningsloggen oversender du elektronisk ved endt prosjekt eller overleveres oss i papirform ved siste besøk.

Detaljert om prøvetakingen

Vi ber om at du tar én avføringsprøve én gang i måneden for hver av de ti hundene som deltar i prosjektet. Vi ønsker prøver fra seks hunder under 18 måneder og fire hunder som er over 18 måneders alder. Grensen på 18 måneder samsvarer med aldersgrensen for deltagelse i løp. Hvilke hunder som skal delta i prosjektet avklares med oss før prosjektstart. Vi ber om at dere tar prøvene i midten av måneden slik at de er postlagt innen den 15. hver måned. Prøvene oversendes i ferdigfrankert konvolutt til Veterinærhøgskolen. Hver avføringsprøve skal være på størrelse med en plomme. Prøveglassene må merkes nøye med dato for prøvetaking og hundens identifikasjon (navn og nummer i lista). Det er viktig at prøvene lagres kaldt, fortrinnsvis i kjøleskap, frem til innsendelse slik at prøveresultatene ikke påvirkes. Prøvene må heller ikke fryses! Vi ber om at prøvene sendes snarlig etter prøvetaking og at dere inngår å sende prøver på torsdag eller fredag (prøvene risikerer da å bli liggende i postsystemet over helgen).

For ytterligere spørsmål om prosjektet kan dere henvend dere til:

- Kristoffer Relling Tysnes per epost: kristoffer.tysnes@nmbu.no, eller per mobil: 99649574

For praktiske spørsmål er dere hjertelig velkommen til å ta kontakt med en av oss (se kontaktinformasjon under).

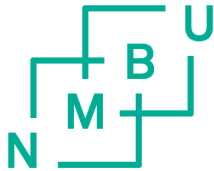
På forhånd takk for din deltagelse i vårt prosjekt!

Med vennlig hilsen

Lillian Lysgård Mob: 99352511 Epost: lillian.lysgard@nmbu.no	Karoline Kiran Lorentzen Mob: 98686780 Epost: karoline.kiran.lorentzen@nmbu.no
---	--

Vedlegg 3: Samtykkeskjema

Oslo, September 2018



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

AVTALE OM STUDIEDELTAELSE

Jeg bekrefter herved at jeg ønsker å delta i studien «Forekomst og påvirkning av *Giardia duodenalis* hos unge sledehunder før første løp» i regi av Institutt for mattrygghet og infeksjonsbiologi ved Norges Miljø og Biovitenskapelige Universitet (NMBU). Jeg sier meg villig til å bidra med de nødvendige prøvene som beskrevet i informasjonskrivet jeg har mottatt (vedlegg 1). Jeg er innforstått med at deltakelsen i studien vil være anonym og at eventuell publisering av resultater ikke vil kunne spores tilbake til deltakerne.

Vi informerer herved om at du kan trekke deg fra prosjektet hvis dette skulle være ønskelig.

Dato:

Sted:

Navn (blokkbokstaver):

Signatur: _____

Vedlegg 4: Skjema for utvelgelse av deltagere

Skjema for utvelgelse av deltagere

Dette er et skjema for utvelgelse av hvilke hunder som skal delta i vårt prosjekt. Vi ønsker å plukke ut seks hunder under 18 måneders alder og fire hunder over 18 måneders alder. Hvis du har flere hunder enn disse ti, så ønsker vi å velge ut hvilke hunder som er aktuelle gjennom en trekning. Dette gjøres for å få et mest mulig representativt utvalg av hundene i deres kennel. Vi har valgt å dele skjemaet opp i to kategorier: én for hunder under 18 måneder og én for hunder over 18 måneder. Vennligst full ut skjemaet etter denne kategoriseringen. Du trenger ikke å ta hensyn til nummeringen siden dette er kun til vår bruk.

Hvis du ikke har tilstrekkelig antall hunder i de to kategoriene (10 stk. totalt), så fyll inn for de hundene du har. Dette vil i utgangspunktet ikke ekskludere deg fra vårt prosjekt. Hvis du ikke har informasjon om hundens eksakte fødselsdato, så kan du notere ned fødselsmåned.

Vi setter pris på at du sender oss en utfylt liste så snart som mulig, og senest innen 26. september. Dette er nødvendig for at vi skal kunne informere deg om hvilke hunder vi ønsker at skal delta i prosjektet.

Ferdig utfylt liste og eventuelle spørsmål knyttet til selve utfyllelsen, kan sendes til Karoline på e-postadresse: karoline.kiran.lorentzen@nmbu.no.

Takk for at ditt bidrag så langt i prosjektet vårt.

Aktuelle hunder under 18 måneder:

Nr.	Hundens navn	Hundens fødselsdato (dd.mm.åå)	Ble valpen kjøpt inn? (X=ja, ingen kryss=nei)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			

15			
----	--	--	--

Aktuelle hunder over 18 måneder:

Nr.	Hundens navn	Hundens fødselsdato (dd.mm.åå)	Ble valpen kjøpt inn? (X=ja, ingen kryss=nei)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			

14			
15			

Vedlegg 5: Elektronisk spørreskjema

Spørreskjema om *Giardia duodenalis* hos unge sledehunder

I forbindelse med forskningsprosjektet om forekomst og påvirkning av tarmparasitten *Giardia duodenalis* hos unge sledehunder, så ønsker vi informasjon om hundene, parasittbehandling, trening og din målsetning for sesongen. Vennligst se vedlagt «Informasjonsskriv til hundekjørere» for ytterligere informasjon om studien. Vi setter pris på at du besvarer alle våre spørsmål. Dette sikrer tilstrekkelig og korrekt informasjon til vårt videre arbeid. På forhånd takk for din deltagelse.

Generell informasjon

Dato for utfyllelse av skjema (dd.mm.åå)

Navn på kenneleier(e)

Kennelens navn og adresse

Antall hunder på kennelen

Informasjon om hundene

1. Har du kjøpt inn hunder til kennelen i løpet av 2018?

- Ja
- Nei

Hvis ja, navn på disse? Alder ved innkjøpsdato?

2. Har du fått egne valper på kennelen de siste 12 månedene?

- Ja
- Nei

Hvis ja, hva er navnet på disse?

Informasjon om parasittbehandling

3. Har du behandlet hundene dine mot *Giardia duodenalis* de siste to årene?

- Ja
 Nei -----> gå til spørsmål 6
 Husker ikke -----> gå til spørsmål 6

Hvis ja, hvor mange hunder har du behandlet og når behandlet du sist? (dd.mm.åå)

4. Hvilket parasittmiddel benyttet du ved disse behandlingene?

Panacur, Flagyl eller andre legemidler? Vennligst spesifiser med navn.

5. Behandler du årlig mot *Giardia*?

- Ja
 Nei

Hvis ja, hvor mange ganger i året?

Hvis ja, når på året behandler du? (flere kryss er mulig)

- Vår
 Sommer
 Høst
 Vinter

Informasjon om trening

6. Hvor mange dager per uke trenes hundene utenfor løpsesongen? Hvis hundene trenes flere ganger om dagen, så vennligst utdyp.

7. Hvor lenge varer hver treningsøkt utenfor løpsesongen? (antall timer)

8. I hvilken måned begynner du oppkjøringen til løpsesongen?

9. Hvor gamle er unghundene dine når de begynner å trene sammen med voksne hunder?

Målsetninger for kommende sesong

10. Har du konkrete planer om å delta i løp?

- Ja
- Nei

11. Hvilke løp ønsker du å delta i og hvilken plassering sikter du på?

SUBMIT

Vedlegg 6: Treningslogg (én for hver av månedene)

TRENINGSLOGG for kennel X oktober 2018					
Dette er et skjema for innhenting av informasjon om treningsregimet i kennelen. For at vi skal kunne vurdere hundenes prestasjon ber om at treningsloggen fylles ut i sin helhet gjennom prosjektets varighet. Vi ønsker at du fyller ut loggen hver uke for hver hund i i prosjektperioden. Når det gjelder prestasjon så ønsker vi at du gjør en subjektiv totalvurdering av enkeltindividene basert på ukens økter.					
Uke	Hund Nr.	Hundens navn	Antall treningsøkter denne uken	Timer pr treningsøkt	Din subjektive vurdering av hundens prestasjon denne uken (god/middel/dårlig)
Uke 40: 1. -7. oktober	1.				
	2.				
	3.				
	4.				
	5.				
	6.				
	7.				
	8.				
	9.				
	10.				
Uke 41: 8. - 14. oktober	1.				
	2.				
	3.				
	4.				
	5.				
	6.				
	7.				
	8.				
	9.				
	10.				
Uke 42: 15. - 21. oktober	1.				
	2.				
	3.				
	4.				
	5.				
	6.				
	7.				
	8.				
	9.				
	10.				
Uke 43: 22. - 28. oktober	1.				
	2.				
	3.				
	4.				
	5.				
	6.				
	7.				
	8.				
	9.				
	10.				
Uke 44: 29. oktober - 4.	1.				
	2.				

november	3.				
	4.				
	5.				
	6.				
	7.				
	8.				
	9.				
	10.				

Vedlegg 7: Purina avføringsskjema



PURINA

FECAL SCORE CHART

Fecal consistency is primarily a function of the amount of moisture in the stool and can be used to identify changes in colonic health and other problems. Ideally, in a healthy animal, stools should be firm but not hard, pliable and segmented, and easy to pick up (Score 2).



Score 1
Very hard and dry; requires much effort to expel from the body; no residue left on ground when picked up. Often expelled as individual pellets.



Score 2
Firm, but not hard; should be pliable; segmented in appearance; little or no residue left on ground when picked up.



Score 3
Log-like; little or no segmentation visible; moist surface; leaves residue, but holds firm when picked up.



Score 4
Very moist (soggy); distinct log shape visible; leaves residue and loses form when picked up.



Score 5
Very moist but has distinct shape (piles rather than distinct logs); leaves residue and loses form when picked up.



Score 6
Has texture, but no defined shape; occurs as piles or as spots; leaves residue when picked up.



Score 7
Watery, no texture, flat; occurs as puddles. Leaves residue.

Vedlegg 8: Body Condition Score

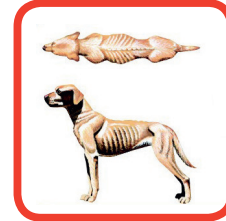
BODY CONDITION SCORE

RaceVets

TOO THIN

1

Prominent ribs, backbone and spine of shoulder blade. Tummy tucked in under transversal backbone on lumbar vertebrae. No palpable fat on ribs, sternum (breastbone) or sacrum. Eyes and temporal might be sunken in. Evident loss of muscle mass on back, thigh and shoulder muscles. Severe deficit on energy. Too thin to start. Drop during race. Intensive care required.



BORDERLINE

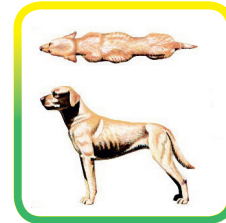
2

Prominent ribs, backbone and spine of shoulder blade. Tummy some tucked in under transversal backbone on lumbar vertebrae. No palpable fat on ribs, minimal on sternum (breastbone) or sacrum. Minimal loss of muscle mass on back, thigh and shoulder muscles. Less convex curves on muscles. Pronounced deficit on energy. Borderline. Too thin to start. Feed and rest more during race.

WATCH BCS

3

Intercostal room/ ribs less obvious, backbone and spine of shoulder blade equal to muscles/ might show some prominence. Some palpable fat, most in the dens of sacrum. No or minimal layer of palpable fat on ribs. No/ Minimal loss of muscle mass. Convex curves on muscles. Some deficit on energy. Watch BCS closely.



OK

4

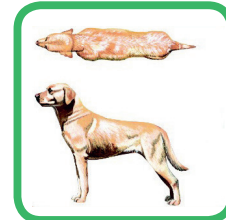
Some muscular prominence over bones on backbone and spine of shoulder blade. Good convex curves on muscles. Slight palpable fat on ribs, dens of sacrum filled out. BCS ok.

5

Good muscular prominence over bones on backbone and spine of shoulder blade. Good convex curves on muscles. Palpable fat on ribs, sacrum partially filled out. BCS ok.

6

Good muscular prominence over bones on backbone and spine of shoulder blade. Good convex curves on muscles. Fat clearly palpable on ribs, sacrum all filled out/ hip bones less prominent. BCS ok. Good starting weight in cold conditions.



7

Some muscular prominence over bones on backbone and spine of shoulder blade. Curves on muscles difficult to determine. Fat covering all over. Some overweight.

Recipe for returned journals after ended race. Kvittering for innleverte journaler etter endt løp		
Journal Team		Date:
Journal Drop Dog		Sign:

Vedlegg 9: Laboratorieanalyse

Laboratorieanalysen ble utført på følgende måte:

1. Påfør en dråpe PBS på et objektglass.
2. 5µl prøvemateriale blandes med PBS.
3. Lufttørk utstryket.
4. Påfør en dråpe metanol.
5. Påfør 15 µl av fargestoffet MAB.
6. Preparatet inkuberes i et fuktkammer i 20 minutter.
7. Påfør en dråpe Mounting Medium og legg på dekkglass.
8. Undersøkelse under fluorescensmikroskop.



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no