

Parasittologisk og serologisk undersøkelse av prøver fra gatehunder importert til Norge fra land i Øst-Europa

Inger Sofie Hammes

Siv Klevar

Rebecca K. Davidson

Helga R. Høgåsen

Arve Lund





Veterinærinstituttets rapportserie · 15 - 2013

Tittel

Parasittologisk og serologisk undersøkelse av prøver fra gatehunder importert til Norge fra land i Øst-Europa

Publisert av

Veterinærinstituttet · Pb. 750 Sentrum · 0106 Oslo

Form omslag: Graf AS

Forsideillustrasjon:

Gatehunder. Foto: Colourbox

Brun hundeflåt - *Rhipicephalus sanguineus* - fra hund importert fra Romania.

Trichuris sp. egg fra avføring.

Begge foto: Inger Sofie Hamnes, Veterinærinstituttet

Bestilling

kommunikasjon@vetinst.no

Faks: + 47 23 21 60 01

Tel: + 47 23 21 63 66

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave

Forslag til sitering:

Hamnes IS, Klevar S, Davidson RK, Høgåsen HR, Lund A. Parasittologisk og serologisk undersøkelse av prøver fra gatehunder importert til Norge fra land i Øst-Europa. Veterinærinstituttets rapportserie 15-2013. Oslo: Veterinærinstituttet; 2013.

© Veterinærinstituttet

Kopiering tillatt når Veterinærinstituttet gjengis som kilde



Veterinærinstituttets rapportserie
— Norwegian Veterinary Institute's Report Series
Rapport 15 · 2013

Parasittologisk og serologisk undersøkelse av prøver fra gatehunder importert til Norge fra land i Øst-Europa

Forfattere

Inger Sofie Hamnes

Siv Klevar

Rebecca K. Davidson

Helga R. Høgåsen

Arve Lund

Oppdragsgiver

Mattilsynet

29. mai 2013

ISSN 1890-3290 elektronisk utgave



Veterinærinstituttet
— Norwegian Veterinary Institute

Forord

På oppdrag fra Mattilsynet har Veterinærinstituttet gjennomført en undersøkelse av prøver fra gatehunder innført til Norge i løpet av 2012. Prøvene ble analysert med hensyn på tilstedeværelse av ulike parasitter og dessuten antistoffer mot *Babesia canis*, *Leptospira* sp. og rabiesvirus (etter vaksinerings).

Innhenting av prøver har vært helt avhengig av en velvillig innstilling fra hundeeierne som samtykket i å delta i studien og dekket honoraret til veterinæren. Mattilsynet betalte utgiftene til laboratorieanalysene.

Flere seksjoner ved Veterinærinstituttet har bidratt til gjennomføring av denne studien. For øvrig har samarbeidet med utenlandske laboratorier (Statens Veterinärmedicinska Anstalt, Uppsala, Sverige og Institut für Parasitologie, Universitetet i Zürich, Sveits) vært avgjørende når det gjelder enkelte tester der de hadde spesialkompetanse.

Denne rapporten oppsummerer og drøfter resultatene i forhold til regelverket gjeldende for 2012. Takk til alle som har bidratt.

Kontaktpersoner har vært Solfrid Åmdal, Mattilsynet, Hovedkontoret, og Arve Lund, Veterinærinstituttet.

Oslo, mai 2013

Jorun Jarp
Avdelingsdirektør

Arve Lund
Forsker

Ordliste

Agens: Brukes som samlebetegnelse for smittestoffer som virus, bakterier og parasitter.

Antigen: Del av et agens som kroppens forsvarsapparat (immunapparat) reagerer på med et immunsvær.

Antistoff: Celler i immunapparatet produserer antistoffer som kan være rettet mot antigener på overflaten av et agens. Antistoffer kan påvises i blod med forskjellige metoder. Resultatet av en slik test kan si noe om dyret har vært smittet (eller ikke smittet) med et virus eller en bakterie. Antistoffer dannes også etter vaksinasjon.

Antistofftiter: Konsentrasjonen av antistoffer i blod uttrykkes med en titerverdi. Grenseverdier fastsettes for de ulike metodene. Dersom antistoffresultatet er under denne grenseverdien, er prøven negativ, i motsatt fall er den positiv. Positiv titerverdi er en indikasjon på at et dyr har vært smittet av et virus eller en bakterie tidligere i livet.

EPG: egg per gram (avføring)

Internasjonale enheter (IE): Brukes for å uttrykke konsentrasjonen av antistoffer mot rabiesvirus i blod hos dyr og menneske.

LPG: larver per gram (avføring)

OIE: Office International des Epizooties - World Organization for Animal Health - Verdens Dyrehelse Organisasjon

OPG: oocyster per gram (avføring)

Prepatenstid: Tid fra infeksjon til de første reproduksjonsproduktene av parasitten kan påvises hos verten (egg, larver, mikrofilariar, cyster...osv)

WHO: World Health Organization - Verdens Helseorganisasjon

Innhold

1. Sammendrag	7
2. Summary	8
3. Bakgrunn	9
4. Materiale og metoder	9
4.1 Inklusjonskriterier og opplysninger om hunder som deltok i studien	9
4.2 Undersøkelse for parasitter	10
4.3 Serologiske undersøkelser	10
5. Resultater	11
5.1 Antistoffer mot rabiesvirus	11
5.2 Parasitter	13
5.3 Antistoffer mot <i>Babesia canis</i> og <i>Leptospira</i> sp.....	15
6. Diskusjon	16
6.1 Antistoffer mot rabiesvirus	16
6.2 Parasitter	17
6.3 Antistoffer mot <i>Babesia canis</i> og <i>Leptospira</i> sp.....	18
7. Konklusjoner	19
8. Referanser	20

1. Sammendrag

Endringene i regelverket som trådte i kraft 1.1.2012 førte til en betydelig økning i import og omsetning av gatehunder fra land i Øst-Europa, især Romania, til Norge. Kravene omfattet vaksinasjon mot rabies og forebyggende behandling mot revens dvergbendelmark *Echinococcus multilocularis*. Hensikten med denne studien var å undersøke om import av gatehunder fra land i Øst-Europa ville medføre en helserisiko for norsk hundepopulasjon og eventuelt human helse. Hundeeiere som hadde mottatt en gatehund i løpet av 2012, ble oppfordret til å oppsøke en veterinærklinikk for uttak av blodprøve og innlevering av avføringsprøve oppsamlet over 2-3 dager. Materialet bestod av blodprøver fra 80 hunder og avføringsprøver fra 70 hunder. Blodprøvene ble undersøkt for overflateantigener av *Dirofilaria immitis* (Ag-ELISA), og for antistoffer mot *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae og *Canicola* (mikroagglutinasjonstest, MAT) og mot *Babesia canis* (indirekte fluorescerende antistofftest, IFAT). I tillegg ble antistoffnivået mot rabiesvirus etter vaksinasjon undersøkt (fluorescerende antistoff virus nøytralisasjonstest, FAVN). Avføringsprøvene ble undersøkt for tilstedeværelse av oocyster, parasittegg og parasittlarver ved direkte mikroskopi, McMaster's metode og Baermann's metode.

Under halvparten (46.7 %) av de undersøkte hundene hadde tilfredsstillende antistofftiter (≥ 0.5 IE/ml) mot rabiesvirus etter vaksinasjon. Til sammen 31 hunder (41 %) hadde titer ≤ 0.2 IE/ml og av disse hadde 14 hunder (18.7 %) titer ≤ 0.1 IE/ml som anses negativt for denne metoden. Det er grunn til å stille spørsmålsteget ved om disse i det hele tatt er vaksinerte. Antistoffer ble påvist hos 10 % og 13.8 % av gatehundene mot henholdsvis *L. serovar Icterohaemorrhagiae* og *Canicola*. I alt 11.3 % av hundene hadde antistoffer mot *Babesia canis*.

I avføringsprøvene ble det påvist egg/larver av *Uncinaria stenocephala* (5.9 %), *Trichuris* sp. (11.8 %), *Toxocara canis* (1.5 %) og *Toxascaris leonina* (2.9 %) og oocyster av *Giardia* sp. (15.3 %) og *Isoospora* (*Cystoisospora*) spp. (2.9 %). *Dirofilaria immitis* antigener ble påvist i blod fra 7.5 % av de undersøkte hundene.

Det forelå opplysninger om riktig forebyggende behandling mot revens dvergbendelorm for cirka 20 % av hundene. Det manglet opplysning om behandling hos over 1/3 av hundene, og flere var behandlet utenfor vinduet angitt i regelverket som gjaldt fra januar 2012 til 1. mai 2013. Resultatene viser at det er grunn til bekymring når det gjelder import av gatehunder med parasitter som forekommer sjelden (for eksempel *Trichuris* sp., *Uncinaria stenocephala*, og *Toxascaris leonina*) eller ikke blant norske hunder (for eksempel *Dirofilaria immitis*). Mange hunder hadde antistoffer i blod mot leptospirabakterier og den encellede parasitten *Babesia canis*. Dette tyder på at de har vært smittet (eventuelt er vaksinert mot leptospirose). En kan ikke se bort fra at enkelte av disse hundene fortsatt er smittefarlige.

Denne undersøkelsen avdekker mangelfull behandling hos enkelte hunder mot revens dvergbendelorm og mangelfull beskyttelse mot rabies. Siden revens dvergbendelorm og rabies finnes endemisk i Øst-Europa er dette assosiert med en risiko for innførsel av disse alvorlige zoonosene til Norge. Denne risikoen er høyere enn tidligere antatt. Denne studien bekrefter tidligere funn om at importerte gatehunder bidrar til introduksjon av sykdomsagens som er sjeldne eller fraværende i Norge.

2. Summary

Harmonization of regulations in the European Union (EU) and European Economic Area (EEA), as of 1st January 2012, has led to an increase in the number of stray dogs imported to Norway from Eastern European countries, notably Romania. The entry requirements for dogs entering Norway are rabies vaccination and prophylactic *Echinococcus multilocularis* treatment. The aim of this study was to investigate health hazards linked to the import of stray dogs to Norway from Eastern Europe. The criteria for inclusion in the study were that the dog was considered a stray animal in its country of origin, and had arrived from Romania, Hungary, the Balkan and Baltic countries during 2012. Dog owners were encouraged to visit a veterinary clinic for blood sampling and submission of faecal specimen collected over three consecutive days. A total of 80 blood samples and 70 fecal samples from dogs were submitted to the Norwegian Veterinary Institute. Faeces were examined by McMaster's method, microscopic examinations of direct smears as well as Baermann's method for the presence parasitic eggs, oocysts and larvae. Blood samples were examined for surface antigens of *Dirofilaria immitis* by *D. immitis* Ag-ELISA. Antibodies against *Leptospira* serovar Icterohaemorrhagiae and Canicola were detected by Microscopic Agglutination Technique (MAT) while IFAT was used for to detect antibodies against *Babesia canis*. In addition, the antibody level against rabies virus following vaccination was tested by the Fluorescent Antibody Virus neutralization (FAVN) assay.

Only 46.7% of the dogs showed a satisfactory antibody level ≥ 0.5 IE/ml in response to rabies vaccination, whereas 31 dogs (41%) had titers of ≤ 0.2 IE/ml and, among these, 14 dogs (18.7 %) had titers of ≤ 0.1 IE/ml considered negative in the FAVN assay. We question if these dogs have been vaccinated. Information regarding *Echinococcus multilocularis* prophylaxis indicates that about 20% were correctly treated according to the regulations implemented in 2013. Information was lacking for more than 1/3, and several were treated outside the required period.

Eggs of *Uncinaria stenocephala* (5.9%), *Trichuris* sp. (11.8%), *Giardia* sp. (15.3%), *Isospora* (*Cystoisospora*) spp. (2.9%), *Toxocara canis* (1.5%) and *Toxascaris leonina* (2.9%) were identified in faecal samples, and antibodies against *L. Icterohaemorrhagiae* (13.8%), *L. Canicola* (10%) and *Babesia canis* (11.3%) were detected in blood samples (percentage positive dogs is indicated in brackets). In addition, *Dirofilaria immitis* antigens were detected in 7.5% of the examined dogs.

Some dogs did not comply with guidelines for treatment against *E. multilocularis* and others were considered unprotected against rabies. Since Echinococcosis and rabies are endemic in Eastern Europe, this is associated with a risk of introducing these serious zoonosis to Norway. This risk is higher than previously estimated. This study confirms earlier findings that imported stray dogs contribute to the spread of pathogens that are rarely observed in, or even absent from, Norway.

3. Bakgrunn

Import av gatehunder fra EU-land i Øst-Europa har økt betydelig etter at regelverket for import til Norge ble endret fra 1.1.2012. Sykdomssituasjonen i disse landene er vesentlig forskjellig fra den vi har i Norge. Økt import av hunder derfra innebærer økt sannsynlighet for innførsel av fremmede smittestoffer som ikke finnes i Norge (1). Fra rumenske gatehunder ble det i første halvår av 2012 påvist tungeorm (*Linguatula serrata*), hjerteorm (*Dirofilaria immitis*) og brun hundeflått, også kalt husflått (*Rhipicephalus sanguineus*). Serologiske undersøkelser for den encellede parasitten *Babesia canis* tydet på at enkelte hunder importert fra Ungarn, Litauen og Slovakia, hadde vært/var smittet.

I april 2012 henvendte Mattilsynet seg til Veterinærinstituttet for gjennomføring av en tidsbegrenset studie av hunder importert til Norge fra land i Øst-Europa (Romania, Bulgaria, Ungarn, Albania, Slovakia, Slovenia, landene på Balkan, Estland, Latvia og Litauen). Hensikten med studien var å få en oversikt over helsetilstanden hos hundene og hvilke agens/sykdommer de kunne være smittet av. Resultatene ville blant annet danne grunnlag for Mattilsynets råd til hundeiere og veterinærer vedrørende innførsel av gatehunder. Mattilsynet dekket kostnadene forbundet med analyser av prøvene fra inntil 150 hunder.

4. Materiale og metoder

4.1 Inklusjonskriterier og opplysninger om hunder som deltok i studien

Informasjon om studien ble gitt til veterinærer og publikum via hjemmesidene til Veterinærinstituttet, Mattilsynet og Norsk Kennel Klub (NKK) som også redegjorde for undersøkelsen i medlemsbladet Hundesport. For øvrig fikk undersøkelsen omtale i riksdekkende og lokale nyhetskanaler (radio, TV og aviser).

I hundeimportmiljøet bredte det seg en viss skepsis og usikkerhet om hensikten med studien. Dette vanskeliggjorde dessverre tilgangen på prøver.

Hundeeiere ble oppfordret til å sende inn prøver fra hunder som oppfylte alle følgende kriterier:

- fortid som gatehund
- opprinnelse i et land i Øst-Europa
- direkte innført til Norge
- ankommet Norge etter 1.1.2012 (hunder innført i 2011 ble ikke inkludert)

Det ble mottatt to prøver fra hunder importert fra Hellas. Disse ble også inkludert.

Det ble spurt om følgende opplysninger:

- kopi av pass eller godkjent innførselsdokument fra opprinnelsesland forevist veterinær
- eiers navn og adresse
- hundens navn, alder (estimert), identitets- eller chipnummer
- opprinnelsesland
- helsetilstand (frisk uten anmerkning eller syk med kort beskrivelse/diagnose)
- dato(er) for rabiesvaksinering, datoer for behandling mot bendelorm og eventuelt mot flått

Det ble innsendt blodprøver fra 80 hunder, fem av disse hundene hadde for lite serum mengde og ble derfor ikke undersøkt for antistofftiter mot rabiesvirus etter vaksinasjon. Vi fikk avføringsprøver fra 70 av de 80 hundene som deltok i studien.

4.2 Undersøkelse for parasitter

4.2.1 Parasitter i avføringsprøver

Avføringsprøvene ble undersøkt med McMaster's metode for å påvise egg og oocyster (direkte mikroskopi) og Baermann metode for å påvise larver. Fra hver hund ble det oppsamlet cirka 10 gram (2-3 spiseskjeer) avføring (fra tre ulike avføringer helst over et par dager). Prøven ble undersøkt for følgende parasitter:

- *Linguatula serrata* (Tungeorm)
- *Echinococcus* spp (Revens dvergbendelorm)
- *Strongyloides stercoralis* (Trådorm)
- *Ancylostoma caninum* (Hakeorm)

I tillegg ble det undersøkt for oocyster av *Giardia* sp. og *Isoospora* spp.(koksidier), egg/larver av *Uncinaria stenocephala* (hakeorm), *Toxascaris leonina* (spolorm), *Toxocara canis* (spolorm) og *Trichuris* sp.(piskeorm).

Totalt 70 avføringsprøver fra hund ble mottatt og analysert for forekomst av parasitter. Hundene kom fra Romania (54/70), Ungarn (9/70), Hellas (2/70) og Latvia og Serbia (1 hund fra hvert land). Opplysninger om opprinnelsesland manglet for tre av hundene. Alderen på hundene varierte fra 12 uker til 10 år (median alder var 2 år, gjennomsnittsalder 2,2 (SEM 0,23)). Opplysninger om estimert alder manglet for åtte av hundene.

4.2.2 Påvisning av antigener fra *Dirofilaria immitis*

Blodprøver fra 80 hunder ble undersøkt for overflateantigener fra *D. immitis* ved Antigen-ELISA (Institut für Parasitologie, Universitetet i Zürich). Testen har høy spesifisitet og sensitivitet for påvisning av antigener fra parasitten.

4.3 Serologiske undersøkelser

Fra hver hund ble det uttatt blodprøver i prøveglass (1x 5 ml) uten tilsetning (for serum).

Blodprøvene ble undersøkt for antistoffer mot:

- Rabies virus (kontroll på antistoffnivå etter vaksinerings)
- *Babesia canis*
- *Leptospira interrogans* serovar Icterohemorrhagiae og serovar Canicola

Alle hundene hadde pass som viste at de var vaksinert mot rabies i opprinnelseslandet før innreise til Norge. Opplysninger om vaksinerings- og blodprøvedato ble oppgitt for 57 av 75 (76 %) importhunder.

Opplysninger om vaksinasjonsstatus mot leptospirose forelå kun for 13 hunder som alle var vaksinert med kombinasjonsvaksiner der rabiesvirus og/eller andre virusantigener inngikk (se 5.1).

I alt 75 blodprøver ble undersøkt for antistoffnivå (titer) mot rabiesvirus. Antistoffer mot rabiesvirus ble påvist ved bruk av Fluoriserende antistoff virus nøytralisasjons test (FAVN) (Cliquet et al. 1998; OIE 2012) som er anbefalt av Verdens dyrehelseorganisasjon (OIE). Tilstedeværelse av antistoffer i serum vil nøytralisere den celleødeleggende effekten av virus (cytopatogen effekt) og blir synliggjort ved immunfluorescens. Titer defineres som den høyeste fortynningen som inhiberer cytopatogen effekt. Denne verdien blir omregnet til IE/ml ved å sammenligne med et standardserum med kjent titer.

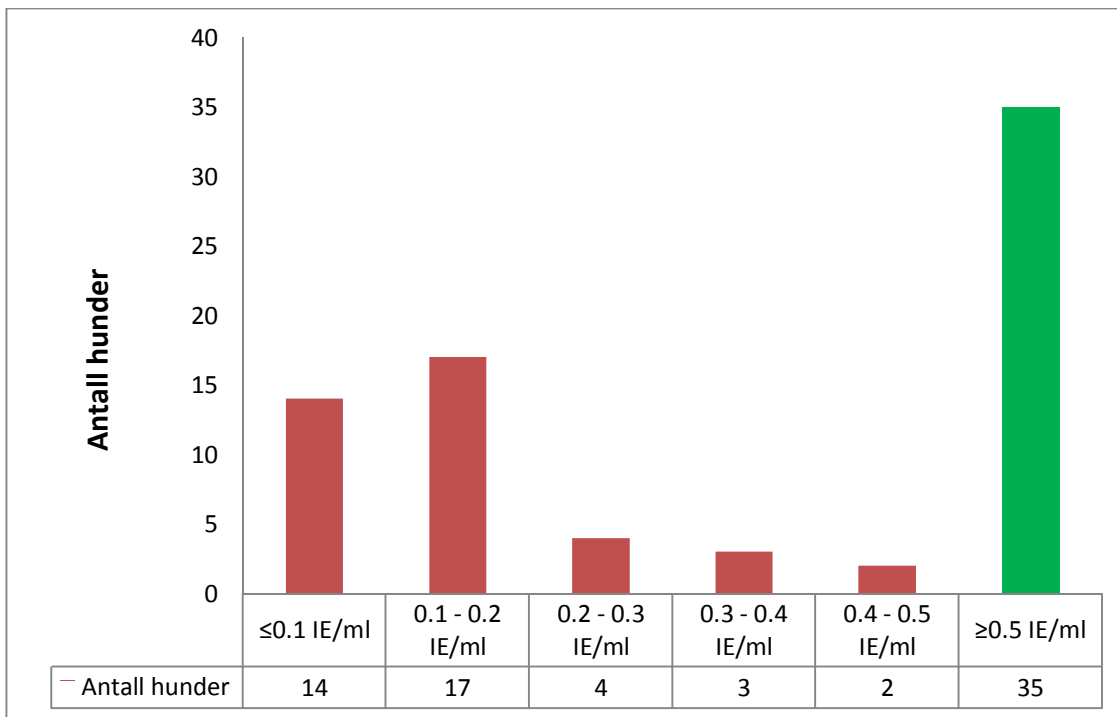
I alt 80 blodprøver ble undersøkt for antistoffnivå mot to varianter av leptospirabakterier (serovar *Icterohemorrhagiae* og *Canicola*) ved bruk av mikroagglutinasjonstest (akkreditert test ved SVA). Fortynninger av serum ble blandet med homologt antigen, og titer ble angitt som høyeste fortynning der man detekterer agglutinasjon.

Indirekte fluorescerende antistoff test (IFAT) (Vercammen et al. 1995) ble brukt for å påvise antistoffer mot *Babesia canis* (MegaScreen® Fluobabesia canis, Megacor, Austria) i blodprøver fra 80 hunder (Institut für Parasitologie, Universitetet i Zürich). Serumprøven ble fortynnet og titer angitt ved den høyeste fortynningen hvor man påviste fluorescens.

5. Resultater

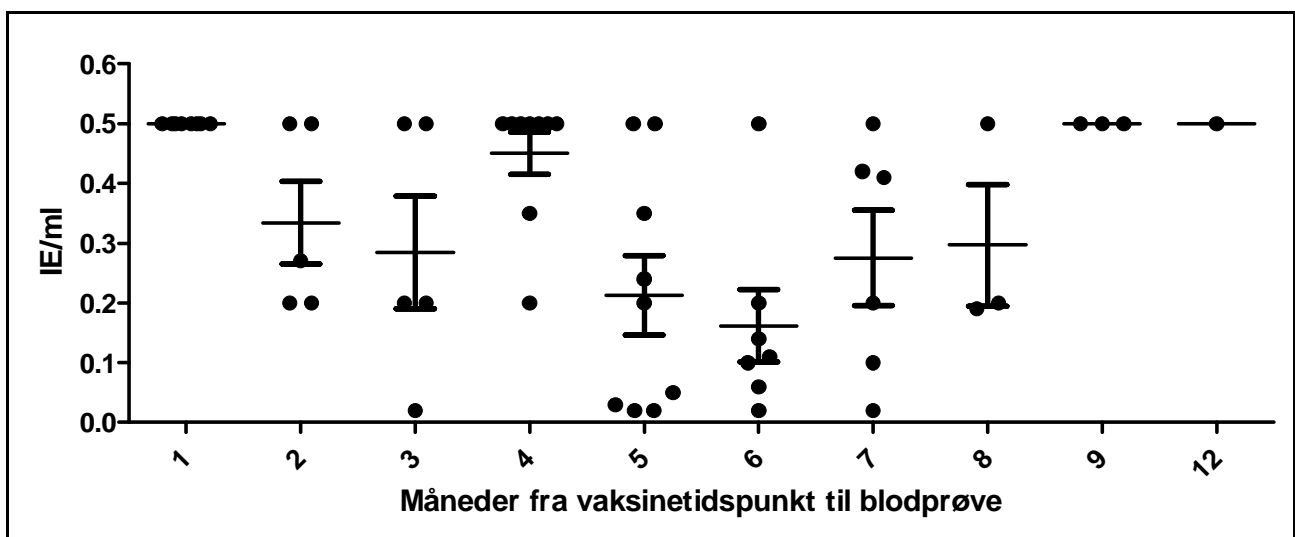
5.1 Antistoffer mot rabiesvirus

Av 75 hunder hadde 35 (46.7 %) tilfredsstillende titer ≥ 0.5 IE/ml etter vaksinasjon, som er anbefalt av Verdens dyrehelseorganisasjon (OIE) ved import fra land med rabies (Figur 1). 40 av 75 hunder (53.3 %) hadde titer < 0.5 IE/ml, og av disse hadde 26 (34.7 %) av hundene antistoff titer mellom 0.1-0.5 IE/ml og 14 hunder (18.7 %) hadde titer ≤ 0.1 IE/ml. Serum prøver med ≤ 0.1 IE/ml anses som negativt for denne metoden.



Figur 1. Fordeling av antistofftiter mot rabiesvirus hos 75 importerte gatehunder ved bruk av Fluoriserende antistoff virus nøytralisasjons test (FAVN) (0.1 eller lavere regnes som negativt)

Vi ønsket å undersøke om intervallet mellom vaksinetidspunkt og blodprøvedato innvirket på resultatet av antistoffnivået i blodprøvene. På grunn av ufullstendig data på rekvisisjons-skjemaene som fulgte prøvene så hadde vi bare vaksine og blodprøvedato på 57 av 75 (76 %) av importhundene. Intervallet mellom vaksineringsstidspunkt og dato for blodprøveuttak varierte fra en til 12 måneder, og det ble ikke påvist noen signifikante korrelasjon mellom antistoff titer og tid siden vaksinasjon (Figur 2).



Figur 2. Gjennomsnittstiter (+/- standard avvik) for antistoffer mot rabiesvirus (IE/ml) fra 57 hunder fordelt på intervall mellom tidspunkt for vaksinerings og dato for blodprøveuttak. Fluoriserende antistoff virus nøytralisasjons test (FAVN) ble brukt for måling av antistofftiter. Prøver med titer ≥ 0.5 IE/ml er representert som 0.5 IE/ml.

Det forelå informasjon om vaksineprodukt for 36 av hundene (48 %). Mange forskjellige vaksiner ble benyttet både monovalente vaksiner og kombinasjonsvaksiner, blant annet Rabisin og Eurican DHPPi-LR (Merial, Frankrike), Nobivac Rabies og Nobivac DHPPi+LR (Merck, Nederland), Biocan R (Bioveta, Tsjekia), Hexadog (M.C.I. Merial, Marokko), Vanguard Rabies (Pfizer, USA). Det var ikke mulig å undersøke effekten av vaksineprodukt på titer på grunn av lave prøvetall per vaksine.

5.2 Parasitter

Det ble ikke påvist egg/larver av *Linguatula serrata*, *Echinococcus* spp, *Strongyloides stercoralis* eller *Ancylostoma caninum*.

Derimot ble det påvist egg fra en rekke andre parasitter og i tillegg cyster av *Giardia* sp. og oocyster av *Isospora* spp. (Tabell 1). Det ble påvist egg/oocyster og/eller larver i 15 av 70 avføringsprøver (21,4 % [13,4-32,4 95 % konfidensintervall (KI)], Tabell 1). Direkte mikroskopi av 59 prøver i Sheather's sukrose oppløsning viste at ni prøver inneholdt *Giardia* cyster (15,3 % [8,2-26,5 KI]). Blandingsinfeksjoner forekom hos to hunder; den ene hadde både *Isospora* spp. og *Giardia* sp., mens den andre hadde *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Uncinaria stenocephala* og *Isospora* spp. Denne siste hunden kom fra Romania tre dager før prøveuttak (muntlige opplysninger fra eier). Det var ingen signifikant forskjell i alder mellom parasittpositive eller parasittnegative hunder.

I seks av 80 importerte gatehunder (7.5 %) ble det påvist antigener mot *D. immitis* (Tabell 1).

Tabell 1. Parasittologisk undersøkelse av prøver fra gatehunder innført fra land i Øst-Europa og Hellas til Norge i 2012.

Prøvemateriale (antall prøver)	Parasitt	Antall (%) positive prøver	Antall egg/oocyster per gram
Avføring (n=70)	<i>Trichuris</i> sp.	8 (11.8)	10 - 1600
	<i>Uncinaria stenocephala</i>	5 (5.9)	<10 - 580
	<i>Isospora</i> spp.	2 (2.9)	40 - 2680
	<i>Giardia</i> sp.*	9 (15.3)	
	<i>Toxascaris leonina</i>	1 (1.5)	2180
	<i>Toxocara canis</i>	2 (2.9)	60-130
Blod (n=80)	<i>Dirofilaria immitis</i>	6 (7.5)	

*59 avføringsprøver undersøkt

Ufullstendige opplysninger som fulgte prøvene, kompliserte tolkning av resultatene. Kun 7 av 15 hunder med påviste parasitter hadde fullstendige opplysninger om dato for ankomst og parasittbehandling (Tabell 2). I tre tilfeller ble *Trichuris* sp. påvist til tross for at hundene skal ha blitt behandlet 10-21 dager tidligere. En av disse hundene skal ha blitt behandlet nylig med praziquantel etter ankomst til Norge, og dessuten med et mer bredspektret anhelmintikum ti dager før det igjen (Tabell 2).

Tabell 2. Intervall mellom parasittbehandling og uttak av avføringsprøve fra sju hunder med påviste parasitter i prøven.

Virkestoffer	Produktnavn som bruker disse virkestoff kombinasjonene	Ant. dager siden parasittbehandling før prøveuttak	Parasitt påvist
Pyrantel og Praziquantel	Drontal vet., Pratel, Biheldon	21	<i>Trichuris</i> sp.
Pyrantel, Praziquantel, og Fenbendazole	Cestol, Caniverm	112	<i>Uncinaria stenocephala</i>
Pyrantel, Praziquantel, og Febantel	Drontal plus, Drontal comp	39 ^a 102	<i>Uncinaria stenocephala</i> <i>Isoospora</i> spp.
Praziquantel	Droncit	10*	<i>Trichuris</i> sp.
Praziquantel og Milbemycin oxime	Milbemax	20*, 169	<i>Trichuris</i> sp.

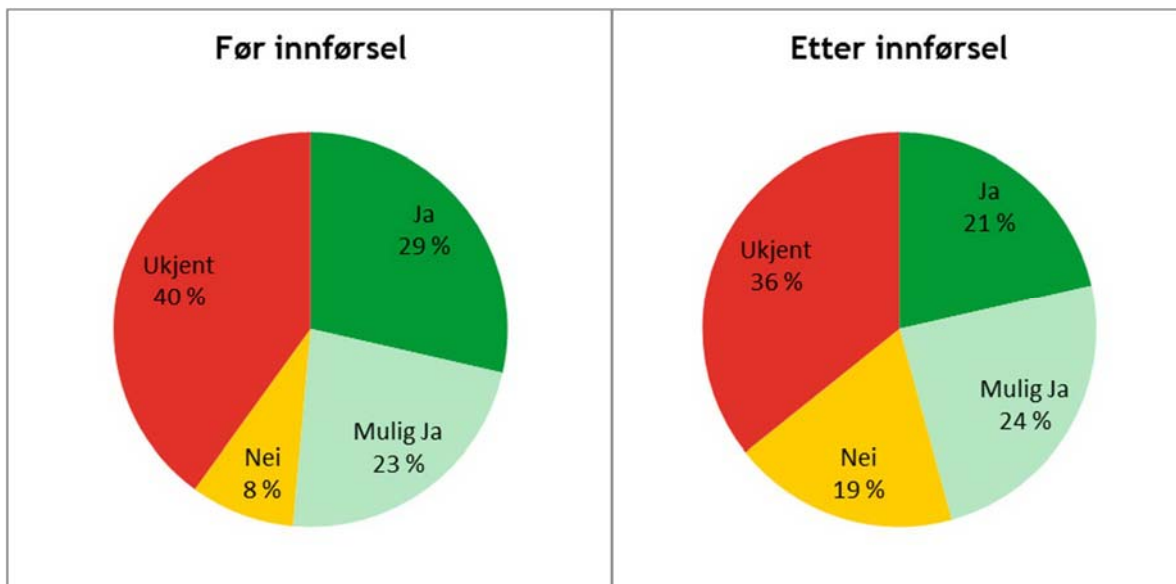
*Hunden nylig behandlet med praziquantel etter ankomst til Norge, og dessuten med et mer bredspektret anthelmintikum ti dager før der igjen.

^a To hunder hadde blitt behandlet 39 dager før prøvetaking og var positive for *Uncinaria* og *Isoospora*. Intervall mellom ankomst til Norge og dato for uttak av avføringsprøve ble sammenliknet for hunder positive og negative for henholdsvis nematoder/koksidier og for *Giardia* sp. (Tabell 3). Forskjellene var ikke signifikante for noen av gruppene.

Tabell 3. Intervall mellom ankomst til Norge og dato for uttak av avføringsprøve for hunder positive og negative for henholdsvis nematoder/koksidier og for *Giardia* sp.

Parasitt gruppe	Median ant. dager	Gjennomsnitt ant. dager (SEM)	N
Nematode/koksidier negative	31	55.2 (10.8)	25
Nematode/koksidier positive	56	78.3 (31.3)	6
<i>Giardia</i> negative	28	55.3 (14.5)	19
<i>Giardia</i> positive	15	31 (20.4)	4

Forebyggende parasittbehandling mot *Echinococcus multilocularis* før og etter ankomst til Norge er illustrert i Figur 3 basert på opplysninger fra rekvisisjonsskjemaene til 70 innførte gatehunder.



Figur 3. Opplysninger om parasittbehandling mot *Echinococcus multilocularis* av 70 innførte gatehunder før og etter ankomst til Norge sett i forhold til regelverket gjeldende i 2012.

Informasjonen ble kategorisert som følger i pre-innførsel og post-innførsel bendelorm behandling

1. Ja: Dyret behandlet innenfor 10-dagers vindu før innførsel og behandlet i Norge innen 7 dager etter innførsel (innførselsdato, behandlingsdato før/etter innførsel og preparat brukt)
2. Mulig ja: Dyret behandlet innenfor et vindu av 17 dager, men innførselsdato manglet.
3. Nei: Dyret behandlet utenfor 10-dagers vindu før og 7 dagers perioden etter innførsel
4. Ukjent: Ingen informasjon oppgitt.

Informasjon om behandling før eller etter innførsel manglet for over 1/3 av prøvene (Figur 3). Basert på opplysningene fra hundeeierne hadde kun 29 % og 21 % blitt forskriftsmessig bendelmarkbehandlet henholdsvis før og etter innførsel. Seks hunder hadde ikke fått korrekt behandling før innførsel og at ytterligere 13 ikke hadde blitt behandlet innen syv dager etter innførsel. De gjenværende hundene hadde fått bendelmarkbehandling innen et 17 dagers vindu, men innførselsdato var ikke oppgitt slik at disse hundene ble kategorisert som usikre (Mulig ja) med hensyn på forskriftsmessig behandling.

5.3 Antistoffer mot *Babesia canis* og *Leptospira* sp.

Av 80 importerte gatehunder hadde 9 (11.3 %) hunder positivt antistofftiter mot *Babesia canis*, og for fire av disse ble titerverdiene angitt som meget høye med titerverdier over 1:2048 (Tabell 4).

Antistoffer mot *Leptospira interrogans* serovar Canicola og serovar Icterohaemorrhagiae ble påvist hos henholdsvis 10 % og 13.8 % av de innførte gatehundene. Tre av hundene hadde antistoffer mot begge serovarianter (Tabell 4). Med denne testen er det ikke mulig å skille om antistoffene i prøven er dannet etter naturlig infeksjon eller etter vaksinasjon mot leptospirose.

Tabell 4. Antistoffer mot *Babesia canis* og *Leptospira* sp. i serumprøver uttatt fra 80 gatehunder innført til Norge i 2012.

Agens	Antall positive prøver (%)	Merknader
<i>Babesia canis</i>	9 (11.3)	4 hunder hadde meget høye titerverdier
<i>Leptospira interrogans</i> serovar Canicola	8 (10)	Manglende og usikre opplysninger om vaksinasjon mot leptospirose
<i>Leptospira interrogans</i> serovar Icterohaemorrhagiae	11 (13.8)	
<i>Leptospira interrogans</i> serovars Canicola og Icterohaemorrhagiae	3 (3.8)	

6. Diskusjon

6.1 Antistoffer mot rabiesvirus

I denne studien har over halvparten av gatehundene ikke oppnådd tilfredsstillende antistofftiter ≥ 0.5 IE/ml mot rabiesvirus etter vaksinasjon i følge anbefalinger fra Verdens dyrehelseorganisasjon, OIE (2012). I tillegg har 18,7 % av hundene ingen antistoffrespons mot vaksinen noe som betyr at de ikke har fått en vaksine som har fungert (personlig kommunikasjon Berndtsson). Det stilles spørsmål ved om disse hundene i det hele tatt er blitt vaksinert til tross for at det er anført i hundenes pass. Mangel på spesifikk beskyttelse øker risikoen for smitte med rabies i endemiske områder. Risikoen for import av rabies gjennom gatehunder er dermed høyere enn tidligere antatt.

Mange forhold kan influere på hundens evne til å reagere med en adekvat immunrespons, blant annet lagringstemperatur for vaksinen, vaksinasjonsprosedyre og hundens helsestatus. Det er dessuten kjent at det er forskjell mellom vaksiner når det gjelder evne til å stimulere en antistoffrespons (Berndtson et al., 2011; Lund et al., 2010).

Mange forskjellige rabiesvaksiner ble brukt for å vaksinere gatehundene i dette materialet. Alle var inaktiverte og tillatt brukt i EUs medlemsland.

Vaksinasjon beskytter mot senere infeksjon med rabiesvirus, men har begrenset virkning mot infeksjon påført før vaksinasjon. Antistofftiteret er derfor ikke direkte relatert til risikoen for innføring av rabies. Opplysninger fra Dr Fehlner-Gardiner, leder for WHO Collaborating Centre for Control, Pathogenesis and Epidemiology of Rabies in Carnivores, tyder på følgende:

- Vaksinasjon etter injeksjon av rabies virus, viser ingen beskyttende effekt under eksperimentelle forhold (Clark og Wilson, 1996; Hanlon et al. 2002). Disse eksperimentene er imidlertid utført på et fåtall dyr, og med høye doser virus basert på den korte inkubasjonstiden observert.
- Under naturlige forhold er det sterke holdepunkter for at vaksinasjon hjelper infiserte dyr å bekjempe viruset før symptomer oppstår, forutsatt at vaksinasjon gis raskt etter eksponering. I Texas har det foregått siden 1979 en protokoll for å forebygge rabies hos husdyr (flesteproblemer og katter, noen andre husdyr), etter eksponering for rabide dyr. Denne estimeres å ha 99,7 %

effektivitet (Wilson og Clark 2001; Wilson et al. 2010). Anbefalt protokoll er å isolere dyret i 90 dager med tre injeksjoner rabiesvaksine:

- Umiddelbart etter eksponering
 - 3 uker senere (for å booste immunrespons hos lavresponderende)
 - 8 uker senere (ekstra sikkerhet)
- I tilfeller der dyr er vaksinert senere i inkubasjonsforløpet, har det i noen tilfeller oppstått en rask død, som følge av rabies. Inkubasjonstiden ser ut til å forkortes ved vaksinasjon, til under en måned, mot vanligvis opp til to måneder (Wilson og Clark 2001; Wilson et al. 2010). Dette er gunstig i forhold til å øke sannsynligheten for at rabies symptomer oppstår mens dyret er isolert.

Et viktig element i importsammenheng fra et rabies-endemisk område, er hvor lenge hunden har oppholdt seg i beskyttet tilstand (uten eksponering for rabide dyr eller beskyttet av vaksinasjon) før det importeres. Jo lengre denne “ventetiden” er, jo større er sannsynligheten for at inkuberende dyr har utviklet rabies. Tre uker er i denne sammenhengen lite, og et høyt titer vil ikke kunne garantere at hunden ikke inkuberer rabies. I følge resultatene fra Texas vil likevel de fleste inkuberende hunder forventes å vise symptomer innen en måned etter vaksinasjon. Et høyt titer kombinert med en lang ventetid gir trygghet på at hunden ikke inkuberer rabies.

6.2 Parasitter

Alvorlige zoonotiske parasitter som vi ikke har her i landet (*Echinococcus* spp., *Ancylostoma caninum*, *Strongyloides stercoralis* og *Linguatula serrata*), ble ikke påvist i denne undersøkelsen av 80 gatehunder som ble frivillig presentert av sine eiere, med unntak av *Dirofilaria immitis*. Derimot ble det påvist parasitter som forekommer sjelden (*Trichuris* sp., *Uncinaria stenocephala*, og *Toxascaris leonina*) i den norske hundepopulasjonen. Innførsel av gatehunder kan endre dette bildet og bidra til spredning av disse parasittene. *Linguatula serrata* er tidligere påvist hos en importert gatehund. Våre resultater utelukker ikke at andre alvorlige parasitter er blitt eller kan bli introdusert, men tyder på at deres forekomst er lav. Imidlertid vil også sjeldne agens kunne importeres når antallet importerte hunder stiger (Høgåsen et al. 2012).

Trichuris har en prepatenstid på 10-12 uker, *Uncinaria stenocephala* 15 dager og *Isospora* artene hos hund 6-9 dager. Med unntak av *Trichuris* er det derfor en teoretisk mulighet for at hundene kan ha blitt smittet etter behandling og utviklet en patent infeksjon før prøvetaking. Pyrantel og praziquantel er ikke angitt å ha effekt på *Trichuris*, slik at funn av denne parasitten hos hunder som bare er behandlet med disse virkestoffene, kan forklares med behandling med inaktive virkestoffer. Pro-benzimidazoler og milbemycin er angitt å ha effekt på (voksne) *Trichuris*, effekten på larvestadier under utvikling i tarmslimhinnen er mer usikker. En hund behandlet med milbemycin oxime 20 dager før prøvetaking fikk påvist *Trichuris* egg i avføringen. På grunn av *Trichuris* sin lange prepatenstid, må hunden ha blitt smittet minst to måneder før prøvetaking og derfor før innførselen.

Parasitten *Dirofilaria immitis* har hund og katt som hovedverter og overføres via stikkemygg. Smittebærende mygg deponerer hjerteormlarver (mikrofilariier) i hovedvertens hudvev hvor de videreutvikles. Etter en stund (opp til et par måneder) vandrer mikrofilariene til hjertet og utvikler seg til

voksne ormer som kan være opp til 20-30 cm lange. Symptomer hos hund forårsakes av voksne parasitter lokalisert i hjertet og/eller blodårene hvor de hindrer normal blodtilførsel. Vi fant at 7.5 % av hundene var infiserte med hjerteorm. Dette betyr at disse hundene kan utgjøre et reservoar for mikrofilarien for mulige vektorer. Videre smitte til andre hovedverter skjer via vektor. Utviklingen til smittefarlig stadium i vektor er sterkt temperaturavhengig og krever helst omgivelsestemperatur >20 °C. Vektor for *Dirofilaria immitis* er stikkemygg (*Culex*, *Aedes* og *Anopheles* arter). Noen av de kompetente vektorartene (f.eks *Culex pipiens* og *Aedes vexans*) forekommer i Norge. Selv om temperaturforholdene i Norge ikke er optimale for parasittens videreutvikling i stikkemygg, har en retrospektiv beregning av HDU (Heart worm Development Units) for Blindern værstasjon (Oslo) vist at sju somrer siden 2000 har vært tilstrekkelig varme for parasittene til å gjennomføre utviklingen i mygg og dermed muligheten for å videreføre smitte til hund. Det årlige smittevinduet har i gjennomsnitt vært 24 dager (opptil 42 dager) i de 7 årene som somrene har vært varme nok i perioden 2000-2010 (pers comm. Abelkader Mezghani (meteorologisk institutt)).

Importregelverk som gjaldt da undersøkelsen pågikk (1.1.2012 -1.5.2013) sier tydelig at hund skal behandles mot *Echinococcus multilocularis* før de importeres. Behandlingen skal gis innen et 10-dagers vindu før import (altså i løpet av de siste 10 dager før innførsel til Norge). I tillegg skal hunden ha en oppfølgingsbehandling innen 7 dager etter innførsel til Norge. Begge disse behandlingene skal gis av veterinær, behandlingene skal føres i hundens pass og behandlingene skal attesteres med veterinærens stempel og signatur for å bekrefte at hunden er behandlet forskriftsmessig. Vi var ikke i stand til å avgjøre om majoriteten av hundene hadde blitt behandlet forskriftsmessig i henhold til gjeldende regelverk. Hvis vi tar med de usikre tilfellene (vist som mulig ja i Figur 3), så fikk litt over halvparten av hundene bendelmark behandling før innførsel, men mindre enn halvparten fikk den påkrevde behandlingen innen gitt tidsramme etter innførsel. Mest bekymringsfullt er det at en tredjedel av hundene som vi vet ikke fikk korrekt bendelormbehandling før innførsel (2/6) heller ikke fikk korrekt behandling etter innførsel. Sammenlikning av oppfølging av krav til behandling før og etter ankomst viser at dersom vi inkluderer «mulig ja» gruppen inn i gruppen som har fått forskriftsmessig behandling, så har bare 36 % av de importerte hundene fått forskriftsmessig behandling både før og etter innførsel, 40 % oppgav manglende informasjon, mens totalt 24 % ikke hadde blitt forskriftsmessig behandlet før/eller etter innførsel. Per 1.5.2013 ble regelverket angående behandling mot *Echinococcus multilocularis* endret. Behandlingskravet nå er behandling 120-24 timer før innførsel, behandlingen skal være utført og attestert av veterinær. Det er ikke lengre krav om behandling etter innførsel.

6.3 Antistoffer mot *Babesia canis* og *Leptospira* sp.

I denne studien ble det påvist antistoffer mot *Babesia canis* hos 11,3 % av gatehundene. Flere hadde et meget høyt antistofftiter som kan indikere at de er i en aktiv infeksjonsfase. En kan ikke se bort fra at disse hundene kan være smittebærere og dermed utgjøre en kilde for denne parasitten dersom vektor er til stede. Det er stort sett enighet i fagmiljøet om at *Ixodes ricinus* (skogflått) er lite aktuell som vektor, og bred spredning vil da forutsette at nye vektorer importeres til Norge.

Babesia canis er en encellet parasitt som infiserer de røde blodcellene og kan gi varierende klinisk bilde. Babesiose hos hund er vanlig i Romania (Imre et al. 2013), men forekommer normalt ikke i Norge

fordi infeksjonen spres med to flåttarter som ikke forekommer i den norske faunaen (*Dermacentor reticulatus* og *Rhipicephalus sanguineus*). Det har likevel blitt registrert ett tilfelle av babesiose hos en norskfødthund uten reisehistorikk (Øines et al., 2010). Årsaken er usikker, og en teori er import av infiserte vektorer.

I denne studien hadde over 10 % av gatehundene antistoffer mot *Leptospira interrogans*. Hos tre hunder ble det påvist antistoffer mot begge av de to vanligste serovariantene, for de øvrige ble det påvist antistoffer kun mot en av disse. Det antas derfor at disse hundene sannsynligvis har vært smittet med leptospirabakterien, og man kan ikke se bort fra at de fortsatt kan være smittefarlige. Leptospirose forekommer blant rumenske hunder (Ivana et al 2011, EFSA 2012), men det er ikke foretatt systematiske sero-epidemiologiske studier.

Leptospirose er en sykdom som forårsakes av ulike serovarianter av bakterien *Leptospira interrogans*. Bakterien kan forårsake alvorlig sykdom hos dyr og menneske. Smittede dyr skiller ut bakterier i urinen, og den spres i miljøet blant annet gjennom forurenset vann. Leptospirabakterier kan trenge gjennom uskadet hud, og den kan dermed smitte ved bading. Smågnagere regnes som et viktig reservoar for serovar Icterohaemorrhagiae, mens hund er reservoar for serovar Canicola. I Norge er leptospirose påvist sporadisk og sjelden hos hund (Sunde et al. 2003) og antistoffer er påvist hos ca 10% av rødvrev (Åkerstedt et al. 2010).

7. Konklusjoner

Undersøkelsen har ført til en rekke viktige funn vedrørende 78 hunder importert i 2012 fra Øst-Europa (og to fra Hellas):

- Mange hunder hadde ikke tilfredsstillende beskyttelse mot rabies og 18.7 % var negative for antistoffer. Risikoen for å importere rabies er dermed høyere enn tidligere antatt.
- Det kan være lav gjennomføringsgrad av behandling mot revens dvergbendelorm. Kun en av fem hunder var med sikkerhet riktig behandlet. Risikoen for å importere revens dvergbendelorm er dermed høyere enn tidligere antatt.
- Relativ høy forekomst av tarmparasitter som er uvanlige i Norge (*Trichuris* sp., *Uncinaria stenocephala*, og *Toxascaris leonina*).
- Relativ høy forekomst av *D. immitis*, som ikke finnes i Norge. Mulighet for å fullføre syklus i Sør-Norge kan ikke utelukkes.
- Påvisning av antistoffer mot *Leptospira* sp. og *Babesia canis* i vel 10 % av undersøkte hunder. Infeksjon kan ikke utelukkes.

Resultatene understreker behovet for å advare mot import av gatehunder. Tiltak må iverksettes for å sikre adekvat parasittbehandling og beskyttelse mot rabies.

8. Referanser

- Berndtsson LT, Nyman AKJ, Rivera E, Klingeborn B. Factors associated with the success of rabies vaccination of dogs in Seden. *Acta Vet Scand* 2011, 53:22
<http://www.actavetscand.com/content/53/1/22> (19.4.2013).
- Clark, K.A., Wilson, P.J., 1996. Postexposure rabies prophylaxis and preexposure rabies vaccination failure in domestic animals. *J Am. Vet Med Assoc.* 208, 1827-1830.
- Cliquet F., Aubert M., Sagne L. Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody. *J. Immunol. Methods* 1998; 212: 79-87.
- EFSA. *Leptospira*. I: Inventory of available data and data sources and proposal for data collection on vector-borne zoonoses in animals. 2012; 64-89
<http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/234e.pdf> (23.4.2013).
- Hanlon, C.A., Niezgodna, M., Rupprecht, C.E., 2002. Postexposure prophylaxis for prevention of rabies in dogs. *Am. J Vet Res* 63, 1096-1100.
- Høgåsen H.R., Hamnes I.S., Davidson R., Lund A. 2012. Importrisikovurdering av gatehunder fra Øst-Europa. Veterinærinstituttets rapportserie 11-2012. Oslo: Veterinærinstituttet; 1-30
<http://www.vetinst.no/Publikasjoner/Rapportserie/Rapportserie-2012/Importrisikovurdering-av-gatehunder-fra-OEst-Europa> (19.4.2013).
- Imre M, Farkas R, et al. Seroprevalence of *Babesia canis* Infection in Clinically Healthy Dogs From Western Romania *J Parasitology* 2013; 99: 161-3.
- Ivana S, Andreescu N et al. Clinical and laboratory studies on the incidence of leptospirosis in Romania. *Bulletin UASVM Veterinary medicine* 2011; 68: 179-85.
- Lund A, Bratberg AM, Høgåsen HR. Vaksinasjon av hund og katt mot rabies. *Norsk veterinærtidsskrift* 2010; 122: 147-154.
- OIE. Rabies.i: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2012
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.13_RABIES.pdf (19.4.2013).
- Sunde M, Heiene R, Fonnum KJ, Wold A. Leptospirose - en infeksjon med ny aktualitet? *Norsk veterinærtidsskrift* 2003; 11: 561-8.
- Vercammen, F., R. de Deken, and L. Maes. Clinical and serological observations on experimental infections with *Babesia canis* and its diagnosis using the IFAT. *Parasite* 1995; 2: 407-410.
- Wilson, P.J., Clark, K.A., 2001. Postexposure rabies prophylaxis protocol for domestic animals and epidemiologic characteristics of rabies vaccination failures in Texas: 1995-1999. *J Am. Vet Med Assoc.* 218, 522-525.
- Wilson, P.J., Oertli, E.H., Hunt, P.R., Sidwa, T.J., 2010. Evaluation of a postexposure rabies prophylaxis protocol for domestic animals in Texas: 2000-2009. *J Am. Vet Med Assoc.* 237, 1395-1401.
- Øines Ø, Storli K, Brun-Hansen H. First case of babesiosis caused by *Babesia canis canis* in a dog from Norway. *2010 Vet Parasitol.* 4;171(3-4):350-353.
- Åkerstedt J, Lillehaug A, Larsen IL, Eide NE, Arnemo JM, Handeland K. Serosurvey for canine distemper virus, canine adenovirus, *Leptospira interrogans* and *Toxoplasma gondii* in free-ranging canids in Scandinavia and Svalbard. *J Wildlife Dis* 2010; 46: 474-80.



Veterinærinstituttet er et nasjonalt forskningsinstitutt innen dyrehelse, fiskehelse, mattrygghet og dyrevelferd med uavhengig forvaltningsstøtte til departementer og myndigheter som primæroppgave. Beredskap, diagnostikk, overvåking, referansefunksjoner, rådgivning og risikovurderinger er de viktigste virksomhetsområdene.

Veterinærinstituttet har hovedlaboratorium i Oslo og regionale laboratorier i Sandnes, Bergen, Trondheim, Harstad og Tromsø, med til sammen ca. 360 ansatte.

www.vetinst.no

Tromsø

Stakkevollvn. 23 b · 9010 Tromsø
9010 Tromsø
t 77 61 92 30 · f 77 61 92 31
vitr@vetinst.no

Harstad

Havnegata 4 · 9404 Harstad
9480 Harstad
t 77 04 15 50 · f 77 04 15 51
vih@vetinst.no

Bergen

Bontelabo 8 b · 5003 Bergen
Pb 1263 Sentrum · 5811 Bergen
t 55 36 38 38 · f 55 32 18 80
post.vib@vetinst.no

Sandnes

Kyrkjev. 334 · 4325 Sandnes
Pb 295 · 4303 Sandnes
t 51 60 35 40 · f 51 60 35 41
vis@vetinst.no

Trondheim

Tungasletta 2 · 7047 Trondheim
Pb 5695 Sluppen · 7485 Trondheim
t 73 58 07 50 · f 73 58 07 88
vit@vetinst.no

Oslo

Ullevålsveien 68 · 0454 Oslo
Pb 750 Sentrum · 0106 Oslo
t 23 21 60 00 · f 23 21 60 01
post@vetinst.no

