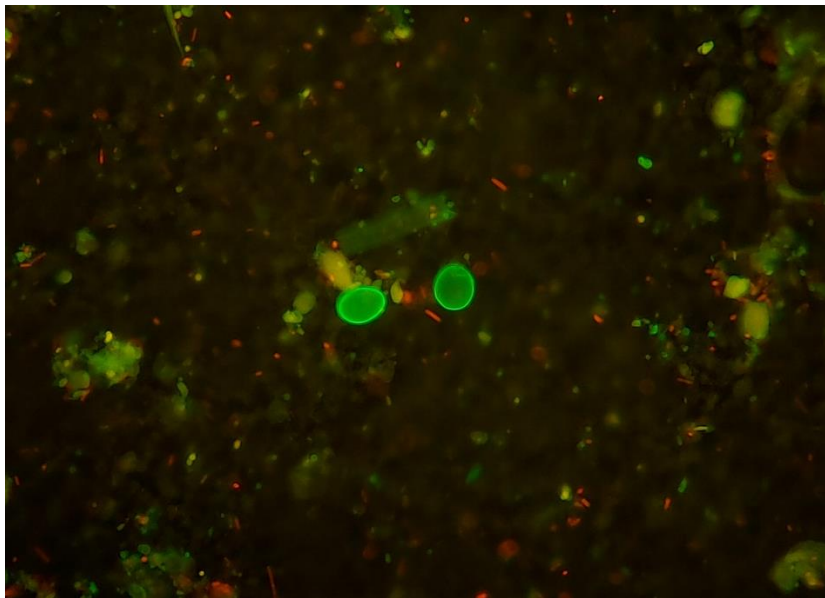




Veterinært kandidatspeciale

Fækal cysteudskillelse hos hunde diagnosticeret med *Giardia duodenalis*



Forfattere: Anne-Sofie Kjærgaard Sindesen (spf603) & Sarah Lerche Kildegaard (fng383)

Vejledere: Helena Mejer, *seniorrådgiver ved Sektion for Parasitologi og Akvatisk Patobiologi ved Københavns Universitet* & Anne Kirstine Havnsøe Krogh, *Studielektor i Veterinær Klinisk Patologi ved Københavns Universitet* & Lise Nikolic Nielsen, *professor (mso) i Veterinær Klinisk Patologi ved Københavns Universitet*.

Afleveret den: 14.06.2024

Forsidebillede: Billedet er udlånt af Julie Simone Svitser. Viser to *Giardia duodenalis* cyster visualiseret ved direkte immunofluorescens antistof test (IFAT).

Indhold

Forord.....	4
Resumé.....	5
Abstract	6
Indledning	7
Formål	7
Baggrund.....	8
Taksonomi og zoonotisk potentiale.....	8
Livscyklus og transmission	9
Epidemiologi	10
Patogenese.....	11
Kliniske tegn.....	13
Diagnostik	14
Behandling.....	17
Hygiejnetiltag	18
Materialer og metoder.....	19
Studieopsætning og dataindsamling.....	19
Håndtering af prøvemateriale	21
Udførelse af metoder til detektion af <i>G. duodenalis</i>	21
Statistiske analyser	24
Resultater	24
Evaluerings af hurtigtests i forhold til IFAT.....	24
Forekomst og risikofaktorer	25
Fælt udskillelsesmønster af cyster	27
Diskussion.....	34
Begrænsninger	39
Konklusion	40
Perspektivering.....	41
Referencer	42
Bilag 1	49
Bilag 2.....	50
Bilag 3	52
Bilag 4.....	53

Bilag 5	56
Bilag 6	57
Bilag 7	59
Bilag 8	60
Bilag 9	62
Bilag 10	66
Bilag 11	72

Forord

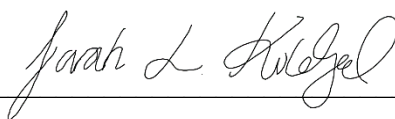
Dette er et specialeprojekt i Veterinærmedicin på Københavns Universitet på 30 ECTS. Projektet er godkendt af og udført i samarbejde med Sektion for Parasitologi og Akvatisk Patobiologi på Institut for Veterinær- og Husdyrvidenskab på Københavns Universitet og Sektion for Medicin, Onkologi og Veterinær Klinisk Patologi på Institut for Klinisk Veterinærmedicin på Københavns Universitet. Projektet forløb fra februar 2024 til juni 2024 og har modtaget økonomisk støtte fra Dansk Kennel Klub.

Hovedformålet med dette projekt var at følge en gruppe af danske hunde naturligt inficeret med *Giardia duodenalis* for at undersøge frekvens og kvantitet af cyster i fæces og potentielt identificere mønstre i udskillelsen. Endvidere var et underformål at foretage en risikoanalyse af forskellige værtsfaktorerers indflydelse på forekomsten af *G. duodenalis*.

En særlig tak til vores hovedvejleder Helena Mejer, seniorrådgiver ved Sektion for Parasitologi og Akvatisk Patobiologi ved Københavns Universitet, samt vores medvejledere Anne Kirstine Havnsøe Krogh, Studielektor i Veterinær Klinisk Patologi, og Lise Nikolic Nielsen, professor (mso) i Veterinær Klinisk Patologi. De har alle udvist stor støtte og engagement i forbindelse med udarbejdelsen af projektet og har altid været parate til at give en kompetent vejledning. Desuden en stor tak til personalet i Sektion for Parasitologi og Akvatisk Patobiologi for introduktion til og vejledning i laboratoriearbejdet. Også tak til hundeejerne for det gode samarbejde i forbindelse med deres deltagelse i projektet.



Anne-Sofie Kjærgaard Sindesen (spf603)



Sarah Lerche Kildegaard (fng383)

Resumé

Baggrund: *Giardia duodenalis* er en af de hyppigst forekommende parasitter hos hunde globalt. Smitte med det infektiøse cystestadie forekommer via fækal-oral rute og kan give anledning til et stort spænd af kliniske tegn, strækkende fra langvarig diarré og mistrivsel til asymptomatiske smittebærere. Grundet parasittens intermitterende cysteudskillelse, kan infektionen være svær at diagnosticere i klinisk praksis. En større forståelse for udskillelsesmønsteret vil på sigt kunne bidrage til bedre diagnostiske protokoller samt viden til kontrollerende tiltag, der kan nedbringe miljøkontaminering og derigennem transmission mellem værter.

Formål: Hovedformålet med dette projekt var at følge en gruppe af danske hunde naturligt inficeret med *G. duodenalis* for at undersøge frekvens og kvantitet af cyster i fæces og potentielt identificere mønstre i udskillelsen. Endvidere var et underformål at foretage en risikoanalyse af forskellige værtsfaktors indflydelse på forekomsten af *G. duodenalis*.

Metode: Der blev indledningsvist foretaget en screening for *G. duodenalis* hos 100 danske hunde ved brug af FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip og tamaVet® Multi 2TD Test. De hunde, der var positive på én eller begge hurtigtests, blev efterfølgende testet med direkte immunofluorescens antistof test (IFAT). Såfremt hundene også var positive på IFAT, blev de fulgt over en periode på fem uger med ugentlig IFAT-analyse af tre fæcesprøver. Det var frit for hundeejerne, om de ønskede at opstarte behandling af hundene efter konstatering af *G. duodenalis*.

Resultater: Nitten procent (n=19/100) af hundene var positive for *G. duodenalis* på IFAT. Baseret på hundenes udskillelsesmønster af cyster kunne de inddeles i tre grupper. Gruppe A bestod af fire hunde og var defineret ved et kontinuerligt udskillelsesmønster. Gruppe B bestod af syv hunde og var defineret ved et dynamisk udskillelsesmønster, hvor der sås cysteudskillelse i starten og slutningen af studieperioden afbrudt af en pause i cystedetektion midtvejs. Gruppe C bestod af otte hunde, hvor der ikke kunne detekteres cyster i fæces i de sidste én til fire uger af studieperioden. Resultaterne for risikoanalysen viste en signifikant større forekomst af *G. duodenalis* hos hunde yngre end to år, intakte hunde og hunde med en fæcescore på 4-7.

Konklusion: Data fra dette studie viste stor variation i cysteudskillelsen blandt hunde positive for *G. duodenalis*, og der blev defineret tre grupper af hunde på baggrund heraf. Det var ikke muligt at definere en eksakt årsag til variationen, men flere teorier er blevet belyst. Supplerende forskning er indiceret for at kunne konkludere yderligere på udskillelsesmønstrene hos hunde. Der blev endvidere påvist en signifikant sammenhæng mellem infektionsstatus og alder, neutralisationsstatus samt fæcescore, men ikke med køn.

Abstract

Background: *Giardia duodenalis* is one of the most common parasites worldwide. Infection with the infective cyst stage occurs through the fecal-oral route and can result in various clinical signs, ranging from prolonged diarrhea and poor well-being to asymptomatic carriers. The infection can be difficult to diagnose in clinical practice due to the parasite's intermittent cyst shedding. A greater understanding of the shedding pattern could eventually contribute to better diagnostic protocols, and knowledge about control measures that can reduce environmental contamination, and thereby transmission between hosts.

Objective: The objective of this project was to follow a group of Danish dogs naturally infected with *G. duodenalis* to investigate the frequency and quantity of cysts in feces and potentially identify patterns in the shedding. Additionally, a secondary objective was to conduct a risk analysis of various host factors influencing the prevalence of *G. duodenalis*.

Method: Initially, a screening for *G. duodenalis* was conducted on 100 Danish dogs using FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip and tamaVet® Multi 2TD Test. The dogs that were positive on one or both rapid tests were subsequently tested with direct immunofluorescence antibody test (IFAT). If the dogs were positive on IFAT, weekly analysis of three fecal samples were conducted over a period of five weeks. Dog owners were free to choose whether to initiate treatment of the dogs after the detection of *G. duodenalis*.

Results: Nineteen percent (n=19/100) of the dogs were positive for *G. duodenalis* on IFAT. Based on the dogs' cyst shedding pattern, they could be divided into three groups. Group A consisted of four dogs and was defined by a continuous shedding pattern. Group B consisted of seven dogs and was defined by a dynamic shedding pattern, with cyst shedding observed at the beginning and end of the study period, interrupted by a break in cyst detection mid-way. Group C consisted of eight dogs, in which no cysts could be detected in feces in the last one to four weeks of the study period. The results of the risk analysis showed a significantly higher prevalence of *G. duodenalis* in dogs younger than two years of age, intact dogs, and dogs with a fecal score of 4-7.

Conclusion: The data from this study revealed a variation in cyst shedding among dogs that were positive for *G. duodenalis*, leading to the classification of three distinct groups of dogs. It was not possible to define an exact cause of the variation in cyst shedding, but several theories have been highlighted. Supplementary research is indicated to further conclude on the shedding pattern in dogs. There was a significant correlation between infection status and age, neuter status, and fecal score, but no such correlation was found with gender.

Indledning

Giardia duodenalis er en af de hyppigst forekommende protozoer på verdensplan,^{1,2} og er ligeledes den parasit, der oftest optræder hos hunde globalt.^{3,4} Prævalensen er særligt høj hos unge hunde,⁵ men en høj populationsdensitet disponerer ligeledes for infektion,⁶ hvorfor hunde i internater, kenneler^{2,7} eller husstande med flere hunde⁶ er i særlig risiko. Der er i dag identificeret otte assemblages af *G. duodenalis*, hvoraf hovedparten er værtsspecifikke.^{8,9} Nogle assemblages kan dog inficere både mennesker og hunde og dermed udgøre en risiko for zoonotisk transmission.^{2,10,11} Smitte forekommer via fækal-oral rute,¹² og livscyklus for *G. duodenalis* indebærer to stadier: Det reproduktive trophozoit stadie, som koloniserer tyndtarmens slimhinde, og det hårdføre cyste stadie, der udskilles i fæces og agerer som parasittens infektiøse form.^{5,12} Indtagelsen af cyster kan give anledning til et stort spænd af kliniske tegn, og infektionen kan for nogle hunde være karakteriseret ved mild diarré, mens andre udsættes for et kronisk forløb med langvarig diarré og mistrivsel.^{2,3,13} Et stort antal hunde vil dog være asymptomatiske bærere af parasitten og ubemærket udskille cyster i fæces, hvilket bidrager til en persisterende transmission af *G. duodenalis* til miljøet.^{3,13,14}

Der er i dag en række forskellige metoder, som kan bruges til at diagnosticere infektion med *G. duodenalis*, men sensitiviteten og specificiteten af disse kan variere, og nogle af metoderne er dyre og tidskrævende.^{13,15} Hvad der komplicerer diagnostikken yderligere, er den intermitterende udskillelse af cyster hos inficerede hunde,^{5,15-17} som kan lede til falsk negative testresultater og dermed hindre en præcis diagnose. Til trods for den høje forekomst af parasitten både globalt og i Danmark, mangler der fortsat viden om udskillelsesmønsteret af cyster, hvilket kan vanskeliggøre kontrollen af parasitten.¹⁸ En større forståelse for udskillelsesmønsteret og epidemiologien i hundepopulationer vil på sigt kunne bidrage til bedre diagnostiske protokoller og viden til kontrollerende tiltag, der kan nedbringe miljøkontaminering og derigennem transmission mellem værter. Med større viden på området vil livskvaliteten for mange hunde ultimativt kunne forbedres.

Formål

Hovedformålet med dette projekt var at følge en gruppe af danske hunde naturligt inficeret med *G. duodenalis* for at undersøge frekvens og kvantitet af cyster i fæces og potentielt identificere mønstre i udskillelsen. Endvidere var et underformål at foretage en risikoanalyse af forskellige værtsfaktoreres indflydelse på forekomsten af *G. duodenalis*.

Baggrund

Taksonomi og zoonotisk potentiale

I dag har nyere laboratorieteknologier og molekylære værktøjer som polymerase chain reaction (PCR) og DNA-sekventering medvirket til en større viden om *Giardia* spp., og det har ligeledes ført til bedre muligheder for at subtype parasitten og dermed blive klogere på dens genetiske variation. Den teknologiske udvikling har endvidere været et springbræt til kortlægningen af parasittens zoonotiske potentiale.⁸

Giardia spp. hører til underrekken *Mastigophora* (flagellater), ordenen *Diplomonadida* og familien *Hexamitidae*.^{10,12} Der er i dag identificeret ni forskellige *Giardia* species.⁹ Ud af disse er *Giardia duodenalis*, der også betegnes *Giardia intestinalis* eller *Giardia lamblia*, den species med det bredeste værtsspektrum, som inkluderer en lang række pattedyr herunder mennesker og hunde.⁸⁻¹⁰ Grundet den store genetiske variation inden for *G. duodenalis*, betegnes denne species i dag som et "species complex", der består af en række assemblages baseret på genotyper. Hver genotype benævnes med bogstaverne A-H og kan inficere forskellige værter (tabel 1).^{8,9,19} Der findes dog undtagelser for disse grupperinger, og der er rapporteret om tilfælde, hvor flere af de nævnte assemblages har inficeret andre værter end de listede.^{8,10} Hunde inficeres oftest med assemblage C og D, men kan også inficeres med de humane assemblages. Da mange hundeejere har et tæt forhold til deres kæledyr, er det derfor relevant at være bekendt med den potentielle zoonotiske risiko, der kan være forbundet med at have en *G. duodenalis* positiv hund.^{2,9-11} Det er endnu ikke præcist klarlagt, hvor stor denne risiko er, men den antages at være lille.¹⁰

Tabel 1. Et simplificeret overblik over værtspotentialet for de forskellige assemblages af *Giardia duodenalis* ^{8,9}.

<i>G. duodenalis</i> assemblage	Vært
A / B	Mennesker, hunde samt andre pattedyr
C / D	Hunde
E	Klovbærende dyr
F	Katte
G	Gnavere
H	Sæler

Livscyklus og transmission

G. duodenalis har to forskellige livsstadier: Det inaktive og infektiøse cystestadie samt det aktive og vegetative trophozoit stadie.^{5,12,20} Cysten måler omkring 8-12 x 7-10 mikrometer og har to eller fire cellekerner.^{12,20} Trophozoiten måler omkring 12-15 x 5-9 mikrometer og har desuden to unikke ventrale sugeskåle og to cellekerner,^{10,12,20} samt fire par af flageller, der gør den i stand til at bevæge sig.¹⁰

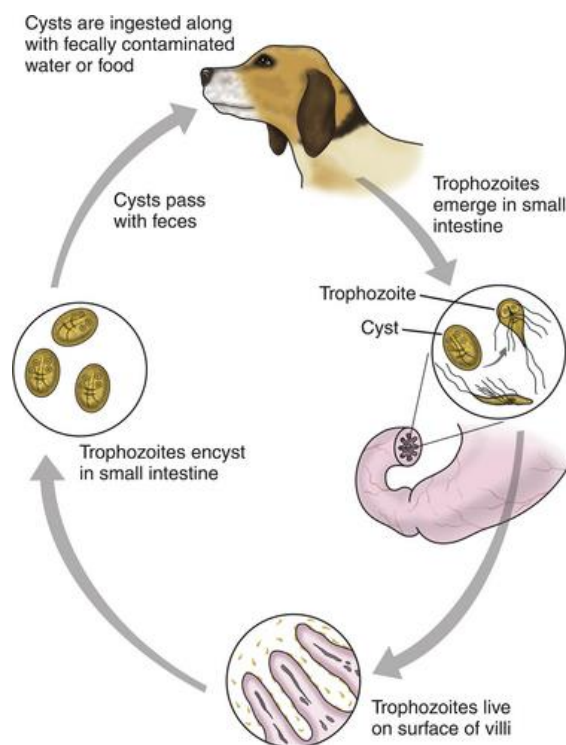
Smitte med *G. duodenalis* forekommer via fækal-oral rute (figur 1). Transmissionen kan både foregå ved direkte eller indirekte kontakt.¹² Den typiske smitte forekommer gennem fækal kontamineret vand eller fødevarer.^{8,11,12} Hundes naturlige adfærd disponerer ligeledes for infektion med *G. duodenalis*, da mange hunde er i tæt kontakt med stillestående vand, jord og græs, der kan være kontamineret. Endvidere er hundens adfærd over for andre artsfæller ligeledes en risikofaktor for transmission af cyster fra én vært til en anden.^{2,7} I mødet mellem to hunde vil normal adfærd være, at de snuser i modpartens inguinal- og perianalområde,^{21,22} ligesom tæt leg mellem to hunde kan lede til indtag af cyster fra pelsen.¹⁶ Slutteligt kan koprofagi være en almindelig adfærd for nogle hunde.²³ En høj populationsdensitet af hunde vil naturligt øge risikoen for infektion med parasitten.^{6,12} Yderligere gælder det, at *G. duodenalis* har særdeles gode overlevelsessevner i miljøet, hvis de rette forhold er opfyldt. I kolde og fugtige omgivelser kan cyster således overleve i op til flere måneder.^{11,15} Ydermere er den infektiøse dosis meget lav, og helt ned til ti cyster kan være nok til at etablere en infektion.²⁴

Efter værtens indtagelse af det infektiøse stadie vil den lave pH værdi i ventriklen stimulere cysterne til at påbegynde excyseringen og derigennem omdannelsen til det aktive trophozoit stadie.

Processen fuldendes, når cysterne når tyndtarmen og eksponeres for en højere pH værdi samt fordøjelsesenzymer.¹⁵ Trophozoiterne vil efterfølgende kolonisere slimhinden af jejunum og duodenum, hvor de med deres ventrale sugeskåle adhærer til enterocytterne og påbegynder deres fødeindtag af lumenale næringsstoffer.²⁵ Herefter indledes en reproduktiv fase, hvor trophozoiterne, ved binær fission, gennemgår en cyklisk opformering gennem flere generationer.^{10,12,15,24}

Trophozoiterne vil skiftevis befinde sig fastsøget til enterocytterne og frit i tarmlumen.¹⁵ Af samme årsag vil trophozoiterne løbende føres med tarmindeholdet mod colon, hvor flere faktorer menes at stimulere encyseringen undervejs heriblandt koncentrationen af galdesalte, mængden af næringsstoffer og pH ændringer.²⁶ Omdannelsen fra trophozoit til cyste er altafgørende for overlevelsen af *G. duodenalis* i miljøet. I tilfælde med vandig diarré og øget tarmmotilitet, kan det

dog ske, at encystringen ikke når at finde sted, hvormed trophozoiter udskilles i fæces. I et sådan tilfælde vil overlevelsestiden af trophozoiten være begrænset, og den vil ikke være infektiøs.¹⁵ Præpatensperioden er hos hunde rapporteret til at være omkring tre til seksten dage.^{16,24,27}



Figur 1. Livscyklus af *Giardia duodenalis* hos hunde. Fra “What is Giardia?”, Vet Online Consult New Zealand, 2022 (<https://www.vetonlineconsult.co.nz/post/what-is-giardia>).

Epidemiologi

Både globalt og i Danmark gælder det, at den sande prævalens af *G. duodenalis* hos hunde er ukendt. Studier har rapporteret om prævalenser mellem 7% og 45%, men prævalensen afhænger i høj grad af den undersøgte population.^{2,5,28–32} Blandt andet har populationsdensiteten en betydning, da studier har påvist en højere forekomst af *G. duodenalis*-inficerede hunde, hvis der er flere hunde i husstanden,⁶ eller hvis hunde færdes i flokke med mange hunde, eksempelvis i kenneler.^{2,5,7} Ligeledes har nogle studier vist en tendens til en lavere prævalens i Europa og Nordamerika sammenlignet med resten af verden, sandsynligvis som følge af generelle forskelle i sanitære forhold.²⁸

Flere studier har også vist en signifikant sammenhæng mellem hundens alder og infektionsstatus,^{5,30-33} hvor unge hunde under tre år, og særligt under to år, i større grad er inficeret med *G. duodenalis* sammenlignet med ældre hunde.⁵ Ligeledes har et studie vist, at hunde yngre end ét år har seks gange større risiko for at være inficeret end hunde ældre end ét år.³¹ Årsagen til sammenhængen mellem dyrets alder og infektionsrisiko menes, ifølge nogle studier, at skyldes dyrets immunforsvar, da voksne dyr med et veludviklet immunforsvar har bedre forudsætninger for at håndtere en infektion end unge dyr, hvor immunforsvaret fortsat er under udvikling.^{15,31} Ligeledes er der i et studie beskrevet, at forskellen i adfærd mellem unge og ældre hunde kan være en indvirkende faktor på infektionsrisikoen. Årsager hertil er, at unge hunde gennemgår en oral fase tidligt i deres liv, og at de har større tilbøjelighed til at opsøge andre artsfæller sammenlignet med ældre hunde.³¹ Studier har ligeledes påvist en signifikant sammenhæng mellem neutralisationsstatus og infektion med *G. duodenalis*, hvor intakte hunde er i større risiko for infektion sammenlignet med neutraliserede hunde.^{31,33,34} En mulig årsag til denne sammenhæng tilskrives i nogle studier forskellen i intakte hundes adfærd.³¹ Hormonelle faktorer beskrives ligeledes som en mulig årsag, da studier hos andre arter har vist, at hormoner i nogle tilfælde kan påvirke parasitære infektioner.^{34,35} Dog har de fleste studier vist, at der ikke er en signifikant sammenhæng mellem køn og infektionsstatus, idet der synes at være en ligelig fordeling af infektion med *G. duodenalis* mellem hanner og hunner.^{7,30,33} Kun et enkelt studie har vist en signifikant større infektionsrisiko for hunnhunde.³⁶

Patogenese

Der forskes meget i interaktionen mellem vært og parasit samt de patofysiologiske mekanismer bag infektion med *G. duodenalis*. Selvom der fortsat er ubekendte, har *in vivo* og *in vitro* studier på nuværende tidspunkt identificeret en række virulensfaktorer med indflydelse på sygdomsudviklingen hos mennesker og mus, særligt i den akutte fase af sygdommen.^{13,25,27} Om det præcist er de samme mekanismer, der ligger til grund for patofysiologien hos hunde er uvist, men der ses en række ligheder i de kliniske tegn, når man sammenligner sygdomsforløbet hos de to værter,² og flere artikler med fokus på *G. duodenalis* hos hunde har beskrevet samme patofysiologiske indvirkninger, dog mere overordnet.^{2,15,24} Generelt har man identificeret tre store barrierer, som *G. duodenalis* er nødt til at krydse for at kunne etablere sig i tarmen: Mikrobiomet, mucuslaget og epithellaget.²⁵

Den første barriere er værtens mikrobiom, der udgør en konkurrent til såvel plads som næringsoptagelse. De bagvedliggende mekanismer er endnu ikke fuld klarlagt, men trophozoiterne menes at udskille virulensfaktorer, der kan nedbryde biofilm dannet af kommensale bakterier og dermed inducere ændringer i tarmmiljøet såvel som kommensalernes genetik.²⁵ Som resultat kan *G. duodenalis* modulere kommensale bakterier til såkaldte ”pathobionts”, der kan fremme frigivelsen af pro-inflammatoriske stoffer, nedbryde tight-junctions og inducere epithelial apoptose.³⁷ Endvidere har et studie vist, at samvækst af *G. duodenalis* og *E. coli* kan have en synergistisk og pro-inflammatorisk effekt, der resulterer i udkonkurrering af andre organismer. Således kunne *E. coli* dyrket i en cellekultur med *G. duodenalis* dræbe nematoden *Caenorhabditis elegans*, mens hverken *E. coli* eller *G. duodenalis* havde samme effekt alene. Ligeledes fandt man, at virulensfaktorer hos *E. coli* blev opreguleret under påvirkningen af *G. duodenalis*.³⁸

Efter mikrobiomet møder parasitten mucuslaget, der både fungerer som en fysisk samt kemisk barriere, og som er en vigtig del af værtens forsvar, idet den hindrer patogene organismer i at nå enterocytterne.^{25,39} Ved at frigive cystein proteaser, kan trophozoiterne nedbryde mucin-2, der udgør hovedbestanddelen af mucuslaget.^{25,39} Ligeledes har cystein proteaser også en hypersekretorisk indvirkning på mucus-producerende bægerceller, der medvirker til en udtømming af depoter og manglende evne til produktion af mucus.^{39,40}

Den tredje og sidste barriere er epithellaget. Her benytter trophozoiterne deres ventrale sugeskåle og flageller samt en række proteiner til at adhærere til epitheloverfladen af mikrovilli. Udskillelse af cystein proteaser vil, ud over effekten på tarmens mucuslag, også kunne nedbryde tightjunctions og medføre en omstrukturering af den intercellulære barriere.⁴¹ Dette kombineret med trophozoiternes evne til at opregulere apoptose-gener i enterocytterne, vil inducere en øget tarmpermeabilitet.^{2,14,25,41}

En anden afgørende virulensfaktor for *G. duodenalis* er produktionen af ”variant surface proteins”, der har en grundlæggende rolle for parasittens evne til at undvige værtens immunrespons. ”Variant surface proteins” menes nemlig at tilpasse sig afhængig af de pågældende værts- og miljøforhold og kan således også være en mulig forklaring på, hvorfor *G. duodenalis* hos nogle individer kan inducere en længerevarende infektion.^{20,25,40}

Selvom infektion med *G. duodenalis* ikke afstedkommer et kraftigt inflammatorisk respons,³⁷ vil kombinationen af den øgede tarmpermeabilitet og trophozoiternes tilstedeværelse stimulere en række forsvarsmekanismer fra værten, herunder rekruttering af mastceller, B-celler, dendritceller og

T-celler, hvor sidstnævnte menes at have en særlig rolle i patogenesen.^{14,20} Derudover udskiller enterocytterne en række antiparasitære faktorer i form af defensiner, chemokiner, cytokiner, lyzosomer og nitrogenoxid, der alle har til formål at eliminere *G. duodenalis*.²⁵ Til trods for dette, vil parasittens virulensfaktorer i mange tilfælde medføre strukturelle ændringer og afkortning af mikrovilli, resulterende i en reduktion af slimhindens samlede overfladeareal og dermed evnen til at absorbere vand, mineraler, næringsstoffer og elektrolytter.²⁵ Derudover påvirker parasitten ligeledes en række ionkanaler, hvor blandt andet hypersekretion af chlorid er særlig kendt.²⁰ Kombinationen af inflammation, øget permeabilitet, ændret homeostase, nedsat absorptiv overflade og dysregulering af enterocytter, vil føre til væskeophobning i tarmen og derigennem diarré.^{2,14,25,41}

Kliniske tegn

Der er ingen patognomoniske tegn ved infektion med *G. duodenalis*, og hunde kan derfor præsentere med en række almindelige og uspecifikke gastrointestinale kliniske tegn, hvor listen af differentialdiagnoser kan være lang.⁵ Sygdomsbilledet kan blandt andet præsentere som diarré, abdominale smerter, hyporeksi, dehydrering eller nedstemthed.^{2,3} Afhængig af aldersgruppen, kan vægttab eller manglende tilvækst ligeledes observeres, særligt hvis infektionen har stået på i længere tid.^{3,13} Fæces vil typisk være karakteriseret ved en lys/gullig farve, samt en vandig til blød konsistens eventuelt med steatoré og/eller mucustilblanding.^{2,5,13,15,42} Ofte vil defækationerne udmøntes i tyndtarmsdiarré og dermed være af hyppig frekvens og i små portioner,^{15,42} men kan for nogle individer antage karakteristika af tyktarmsdiarré.⁴² Et forløb med diarré kan variere fra at være akut og selvlimiterende til at antage en intermitterende eller kronisk karakter.^{2,3,5,13}

Humant rapporterer flere artikler om en sammenhæng mellem infektion med *G. duodenalis* og en efterfølgende prædisponering for kroniske følgetilstande såsom kroniske enteropatii,^{14,15,43,44} foderallergier^{15,25,44} og ekstraintestinal sygdom. Eksempler på sidstnævnte er okulær patologi, arthritis, myopati og kognitiv dysfunktion.⁴⁵ Der er stadig uenighed om de præcise mekanismer bag denne kroniske udvikling, men mikrobiomændringer og øget tarmpermeabilitet er gennemgående teorier.^{25,37,39,40} Om de samme konsekvenser gør sig gældende for hunde, er endnu ikke klarlagt.

Til trods for, at nogle hunde får svære kliniske tegn, forbliver en stor andel af hundene af ukendte årsager asymptomatiske smittebærere af *G. duodenalis*.^{2,3,13,14} Udover mikrobiomets indflydelse på udvikling af postinfektive sequelae, forskes der også i mikrobiomets rolle i relation til et asymptomatisk eller symptomatisk forløb af infektionen.^{2,25,46,47} Resultater fra flere studier har vist,

at hunde med og uden infektion med *G. duodenalis*, besidder forskellige mikrobiomer.^{44,46–49} Således fandt Berry et al. (2020) en signifikant korrelation mellem *G. duodenalis*-infektion og mikrobiomet, og at ændringen i mikrobiomet kan forklare, hvorfor nogle hunde er asymptomatiske, mens andre ikke er.⁴⁷ Kuzi et al. (2024) fandt derimod ingen signifikant forskel i mikrobiomet hos *G. duodenalis* positive hunde, når man sammenlignede asymptomatiske og symptomatiske hunde.⁴⁴ Til trods for, at flere af studierne har fundet en sammenhæng, konkluderede Boucard et al. (2021) og Berry et al. (2020) dog, at det var usikkert, hvorvidt denne forskel udelukkende kunne tilskrives infektion med *G. duodenalis* eller om andre faktorer spillede ind.^{47,48} Der antages at være en dynamisk interaktion mellem vært, mikrobiom og parasit, som har afgørende betydning for infektionens forløb og sværhedsgrad.^{2,14,40} En teori hertil er, at der hos nogle individer indfindes en ligevægt mellem vært og parasit, mens der for andre persisterer en ubalance.⁴⁹ Denne ligevægt kan muligvis være bestemt af samspillet mellem alder, immunforsvar og parasittens genotype.⁴⁷

Diagnostik

Diagnosticering af *G. duodenalis* hos hunde udgør ofte en udfordring i klinisk veterinær praksis.^{16,17} Dette skyldes til dels, at udskillelsen af cyster i fæces er intermitterende,^{5,13,15–18} samt at antallet af cyster i fæcesprøver kan variere og således ligge under detektionsgrænsen for den valgte test.^{5,18} En enkelt negativ test kan således ikke udelukke en infektion med *G. duodenalis*. Derudover medfører det høje antal asymptomatiske smittebærere, at parasitten sandsynligvis er markant underdiagnosticeret, da disse hunde ikke testes rutinemæssigt i klinisk praksis.¹⁷ Der findes en række tests udviklet til detektion af *G. duodenalis*. De hyppigst anvendte i klinisk praksis inkluderer direkte fæces smear, flotation med zinksulfat, hurtigtests baseret på immunokromatografi eller ”Enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA), immunofluorescens antistof test og PCR.^{13,15–18}

Direkte fæces smear kan anvendes til at identificere trophozoiter i frisk diarré. Det er en test, som er nem og billig at udføre i klinisk praksis, hvor en lille mængde fæces opløses i en saltvandsopløsning og derefter påføres et objektglas med dækglas, som mikroskoperes straks efter.^{5,13} Her forsøger man at identificere motile organismer, som har en hurtig og uregelmæssig bevægelse. Trophozoiterne kan dog nemt forveksles med andre motile organismer.^{5,13,15} Derudover skal fæcesprøven være helt frisk, da trophozoiter er meget skrøbelige, og opbevaring i blot et par timer vil kunne resultere i, at prøven ikke længere indeholder levende organismer.^{13,15}

Flotation af fæces med zinksulfat beskrives i nogle studier som ”gold standard”, når det gælder in-house tests for *G. duodenalis*.^{15,18} Ved denne metode vil *G. duodenalis* cyster og helminthæg flyde op til toppen af zinksulfat-opløsningen som følge af høj densitet, hvorefter det øverste lag af opløsningen kan undersøges under mikroskop.¹⁷ Det er således en metode, som kan detektere flere forskellige parasit-infektioner, samtidig med at den er billig at udføre.^{13,18} Den største begrænsning ved denne test er, at de små cyster kan være svære at identificere korrekt for personale, som ikke er tilstrækkeligt øvet i metoden.¹⁵

I danske dyreklinikker anvendes forskellige kommercielt tilgængelige hurtigtests, som følge af høj brugervenlighed og hurtigt testsvar.⁵⁰ To eksempler på en sådan test er FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip og tamaVet® Multi 2TD Test. Begge tests er flow immunoassays, som benytter specifikke monoklonale antistoffer (mAbs) til kvalitativ detektion af *G. duodenalis* i fæces. Da antigen ofte er ujævnt fordelt i fæces, opslæmmes fæces først i en bufferopløsning. Når testen derefter udføres, vil testmaterialet passere gennem et konjugat område, som indeholder mobile mAbs bundet til farvede latexpartikler. Hvis fæces indeholder antigener for *G. duodenalis*, vil disse bindes til de specifikke mAbs. Det fortsatte flow vil herefter føre antigen-antistof komplekserne videre gennem en nitrocellulosemembran. I dette område findes fikserede mAbs, som udgør testens testlinjer. Antistof-antigen komplekserne vil binde sig til de fikserede mAbs og grundet de farvede latexpartikler give farve i testlinjen, som indikerer, at fæcesprøven er positiv for *G. duodenalis*. Der vil ligeledes opstå farve i kontrollinjen, som indikerer, at testen er forløbet korrekt.^{17,50–52}

Sensitivitet og specificitet for FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip er af producenten fastsat til henholdsvis 96,4% og 98,6%. Disse er beregnet på sammenligningsgrundlag med MegaELISA® GIARDIA.^{52,53} Andre studier har ligeledes vist, at FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip har en høj specificitet, men en lavere sensitivitet på ned til 72,7%, samt en manglende evne til at detektere antigen, når fæcesprøven indeholder et lavt antal cyster.^{17,50} Sensitivitet og specificitet for tamaVet® Multi 2TD Test er af producenten fastsat til henholdsvis 91,9% og 97,9%. Disse er beregnet på baggrund af en sammenligning med ELISA analyse.⁵¹

Antigen ELISA er ligeledes en anvendt metode til detektion af *G. duodenalis* hos hund. Ved denne metode fæstnes antistoffer, som er specifikke for et bestemt antigen, i bunden af en brønd. Efterfølgende tilsættes en opløsning, og hvis denne indeholder antigenerne, vil disse bindes til antistofferne. De ubundne antigener skylles væk, og der tilsættes dernæst et andet antistof tilkoblet et specifikt enzym, som ligeledes vil binde til antigenet. Ubundne antistoffer skylles igen væk, og der tilsættes et enzym substrat, som enzymerne kan omdanne til farvestof.⁵⁴ I dag er der udviklet

hurtigtests, som bygger på denne teknologi, herunder IDEXX SNAP Giardia Test. I denne test binder specifikke antistoffer til vægproteiner i cysterne, og via et lateralt flow opstår en blå farve, som visualiseres når bindingen finder sted.¹⁵ Denne test er hurtig og nem at bruge, og har i studier udvist en høj specificitet på op til 99,6%.^{13,55} Dog har et af studierne påvist en lavere sensitivitet ned til 71,9%.⁵⁵

Direkte immunofluorescens antistof test (IFAT) er en kvalitativ og kvantitativ test, som blandt andet bruges til detektion af *G. duodenalis*. I denne test benyttes fluorofoer-konjugerede monoklonale antistoffer, som binder specifikt til antigener på overfladen af cysterne.^{56,57} Når fluorofoer exciteres med lys ved en bestemt bølgelængde, udsender de farvet lys med en højere bølgelængde. Ved at anvende et fluorescerende mikroskop indstillet på den tilsvarende bølgelængde, kan cyster bundet til fluorofoer-konjugerede antistoffer dermed visualiseres, da disse vil fluorescere. Den anvendte bølgelængde afhænger af typen af fluorofoer.^{56,58} Der er i flere studier påvist en høj specificitet på 94-99,8%, samt en moderat til høj sensitivitet på 50-99,4%^{55,59-61}. Den lavere sensitivitet kan skyldes, at IFAT har en nedre detektionsgrænse, som i et studie er påvist til at være på 17,2 cyster per milliliter fæces.⁶² Som følge af den høje specificitet benyttes IFAT dog i mange studier som ”gold standard” til detektion af *G. duodenalis* i fæces hos hunde.^{50,59,63-65} Typisk kræver metoden analyse på et eksternt laboratorium, hvorfor diagnostikken er dyrere, og der går længere tid før man har et resultat. Dette skyldes, at IFAT kræver specialiseret udstyr såsom fluorescens mikroskop, samt at testen tager længere tid at udføre sammenlignet med de beskrevne in-house tests.^{13,15,18,50}

En anden test som udføres på eksterne laboratorier til detektion af *G. duodenalis* er PCR, hvor DNA opkopieres i fæces. Metoden kan også bruges til at identificere, hvilken assemblage af *G. duodenalis* hunden er inficeret med.^{13,15} Dog har studier vist, at PCR ikke detekterer ca. 20% af positive fæcesprøver, da fæces indeholder PCR inhibitorer, og at særligt milde infektioner hos asymptomatiske smittebærere hyppigt bliver overset ved denne metode.^{13,18} PCR anbefales derfor ikke til rutinemæssig detektion af *G. duodenalis*, men udelukkende til at vurdere hvilken assemblage hunden er inficeret med.¹³

Da alle de diagnostiske metoder til detektion af *G. duodenalis* hos hund både har fordele og ulemper, og cysterne samtidig er kendt for at blive udskilt intermitterende, vil det ofte være den generelle anbefaling at kombinere flere tests for at opnå den mest præcise diagnose. Som beskrevet kan negative tests i en enkelt fæcesprøve ikke udelukke infektion, og det anbefales derfor, at det

negative resultat bekræftes med testning af flere fæcesprøver. Ofte er anbefalingen at analysere tre fæcesprøver indsamlet på tre forskellige dage over en periode på én uge.^{5,13,15,17,18}

Behandling

I Danmark findes kun få lægemidler, som er registreret til behandling af infektion med *G. duodenalis* hos hund. Disse lægemidler indeholder enten fenbendazol eller metronidazol som det aktive stof.^{66,67} Behandling opstartes sædvanligvis, hvis hunden er positiv for *G. duodenalis* og samtidig udviser kliniske tegn. Asymptomatiske hunde behandles som udgangspunkt ikke, dels grundet den høje risiko for reinfektion,¹⁵ men vigtigst for at nedsætte risikoen for resistensudvikling.⁶⁸

Fenbendazol i en dosis på 50 mg/kg én gang dagligt i tre til fem dage er det hyppigst anvendte præparat til behandling i veterinær klinisk praksis.^{13,15,16} Dette stof virker ved at binde til α -tubulin i trophozoiternes cytoskelet, hvormed deres energimetabolisme inhiberes som følge af manglende glucoseoptag. Metronidazol virker ved at trænge ind i parasitten, hvor det binder til DNA-molekyler, hvilket afstedkommer en irreversibel skade af DNA'et, som medfører, at *G. duodenalis* dør.¹⁵ Sammenlignet med fenbendazol er der registreret flere bivirkninger ved anvendelse af metronidazol herunder CNS-toksicitet, hvorfor fenbendazol ofte er førstevalg til behandling.^{13,15}

Studier har undersøgt effekten af fenbendazol til behandling af *G. duodenalis*, men med blandede resultater. Barr et al. (1994) har vist, at fenbendazol var effektiv til eliminering af cyster i fæces hos hunde. Dog påpegede de en usikkerhed i resultatet, da hundenes fæces kun blev testet én gang efter endt behandling, hvormed det ikke vides om et negativt resultat skyldtes eliminering af infektionen eller cysternes intermitterende udskillelse.⁶⁹ Både Kaufmann et al. (2022) og Ciuca et al. (2021) har undersøgt hundenes fæces af flere omgange efter endt behandling med fenbendazol, og begge studier har vist, at der overordnet ikke ses en god terapeutisk effekt af behandlingen.^{16,70} Kaufmann et al. (2022) har desuden testet effekten af behandling med metronidazol med samme resultat.⁷⁰

En af grundene til den delvise effekt af den parasitære behandling menes at skyldes reinfektion med *G. duodenalis*. Da der ikke opnås permanent immunitet ved infektion med *G. duodenalis*, kan reinfektion forveksles med en persisterende infektion.¹³ Der er ikke kendskab til nogle studier, som har undersøgt immuniteten hos hunde mere detaljeret, og det vides således ikke hvorvidt der induceres en kortvarig immunitet efter infektion med *G. duodenalis*. For at reducere risikoen for

reinfektion via fæcesmateriale i pelsen, anbefales det at bade hunden i forbindelse med behandlingen. Tilsvarende anbefales desinfektion og grundig rengøring af hjemmet for at reducere risikoen for reinfektion via miljøet.^{13,15,16}

Da det ofte kan være svært at opnå komplet eliminering af infektionen med parasitær behandling og rengøring, er det primære formål med behandlingen oftest, at hunden bliver symptomfri. Der behandles derfor vanligt med supporterende behandling af diarréen, sideløbende med den parasitære behandling. Hos hunde med persisterende diarré og infektion med *G. duodenalis*, bør der altid foretages yderligere udredning for at udelukke anden underliggende årsag til de kliniske tegn, herunder kronisk enteropati eller foderallergi.¹³

Hygiejnetiltag

Grundet den meget lave infektiøse dosis af *G. duodenalis*, er risikoen for reinfektion som følge af kontaminering af omgivelserne stor.²⁴ Samtidig med dette kan cysterne under de rette forhold dels være resistente mod naturlige miljøpåvirkninger,¹¹ men også mod flere af de desinfektionsmidler, man normalt benytter i en husstand.⁴² Rengøring og desinfektion af hundens omgivelser spiller således en afgørende rolle i behandlingen for at hindre reinfektion. UV-belysning⁷¹ og høje temperaturer fra vanddamp⁷² har vist sig som nogle af de mest virkningsfulde midler til destruktion af cyster, ligesom desinfektionsmidler indeholdende kvaternære ammoniumforbindelser (eks. Rodalon®)⁴² og klor-forbindelser (eks. klorin) har vist sig effektive.⁷² Selvom UV-belysning er en virksom metode, er det vanskeligt at gøre brug af i en husstand og der skal også tages in mente, at møbler og materialer i en husstand ikke nødvendigvis tåler skrappe rengøringsmidler og vanddamp. Et andet vigtigt aspekt er sundheden for både dyr og mennesker, da mange stærke kemikalier kan være sundhedsskadelige at indånde eller få på huden.⁷²

En anden komplicerende faktor kan være husstande med flere hunde. Den lave infektiøse dosis i sammenhold med hundenes indbyrdes interaktion, kan hurtigt medføre, at alle hunde i husstanden inficeres.^{6,73} ”Centers for Disease Control and Prevention” har lavet en hygiejneguide, som beskriver tiltag, der kan implementeres i en husstand, hvor *G. duodenalis* er blevet introduceret. Eksempler herpå er grundig håndhygiejne samt vask af legetøj, hundesenge, tæpper og andet, som hunden kommer i kontakt med, ved minimum 60 °C. Efterfølgende tørring i en tørretumbler ved højest mulige varmeindstilling er at foretrække. Gulve og overflader bør desuden vaskes jævnligt. For optimal effekt bør tidligere nævnte midler som Rodalon® eller Klorin benyttes. Derudover er

løbende rengøring af vand- og madskåle anbefales værdigt, ligesom det er afgørende, at man hurtigst muligt fjerner fækal materiale, når det er blevet afsat, hvad end det er indendørs eller udendørs.^{74,75} Lignende guidelines beskrives også i artikler med fokus på hygiejne i blandt andet klinikker og internater.^{72,76,77} I forlængelse af ovenstående forholdsregler bør det nævnes, at overlevelsesmulighederne for *G. duodenalis* forringes, hvis miljøet udtørres og temperaturen stiger.⁷²

Flere studier har i varierende grad undersøgt kombinationen af systemisk antiparasitær behandling og shampoo badning af hunden samt miljøsanering.^{78–80} Overordnet set, har flertallet af studierne vist en positiv sammenhæng i at kombinere de forskellige tiltag, og særligt miljøsaneringen har vist sig at være en afgørende metode til at mindske risikoen for reinfektion. I disse studier er hundene dog ofte isoleret i simple bure med let desinficerbare materialer på gulv- og vægflader. Tiltagene i studierne er derfor ikke direkte overførbare til en almindelig husstand, og tilsvarende resultater kan dermed være svære at opnå derhjemme.^{78–80}

Materialer og metoder

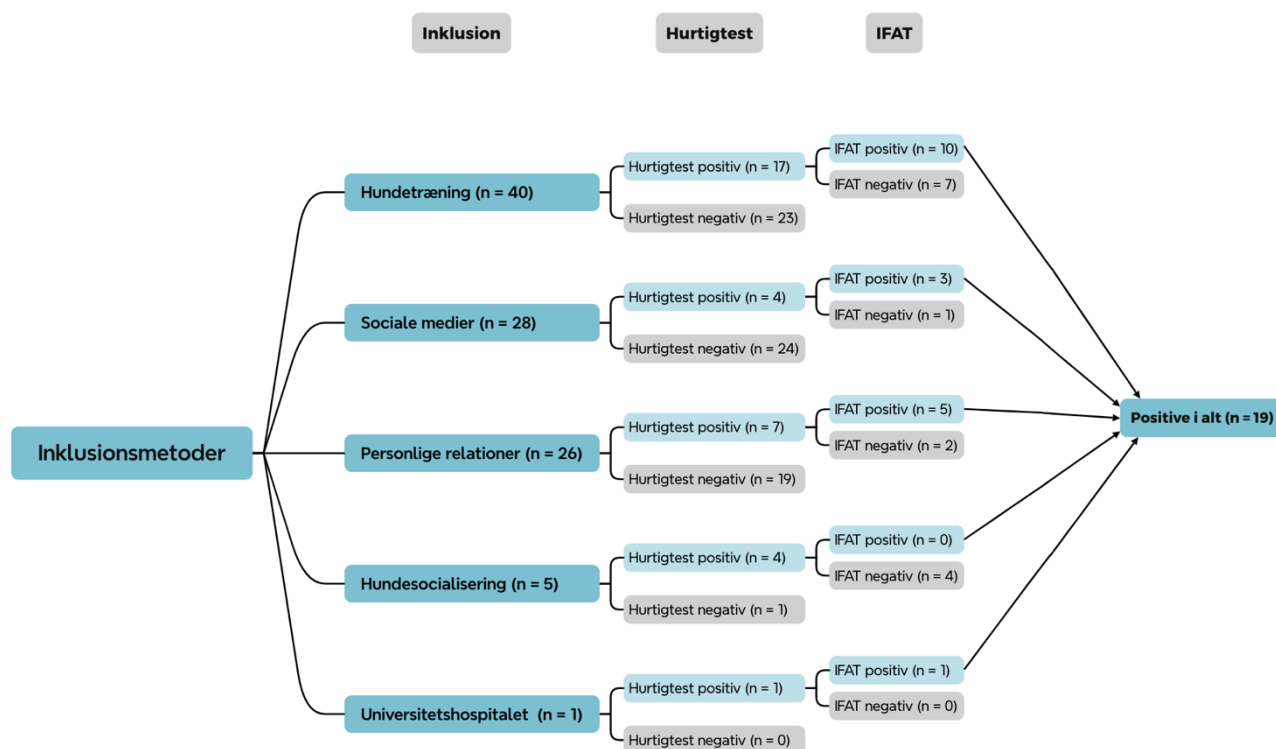
Studieopsætning og dataindsamling

Formålet med dataindsamlingen var at screene fæcesprøver fra et større antal hunde med henblik på at identificere hunde inficeret med *G. duodenalis* for derefter at undersøge disse hundes fækale udskilleelsesmønstre af cyster.

Fæcesprøver blev indsamlet fra i alt 100 danske hunde (figur 2). Det eneste inklusionskriterie udover dyreart var, at hundens ejer var villig til at underskrive en samtykkeerklæring om deltagelse i studiet (bilag 1). Da tidligere studier ikke har fundet tegn på forøget prævalens i særlige områder af Danmark,⁸¹ blev der ikke opsat nogle inklusionskriterier i forhold til geografisk bosættelse af hundene. Næsten alle hunde i studiet var dog af logistiske årsager bosat i Storkøbenhavn, Nordsjælland eller kommunerne langs Køge Bugt.

Ved deltagelse i studiet, udfyldte ejer et spørgeskema (bilag 2) indeholdende generelle spørgsmål omkring deres hund, herunder dens alder, race, køn og neutralisationsstatus. Derudover indgik spørgsmål omkring tidligere infektioner med *G. duodenalis*, nylige behandlinger med fenbendazol eller metronidazol, samt hyppigst observerede fæcescore efter ”Purina Fecal Score Chart” (bilag

3), hvor 1 beskriver hård og tør fæces, mens 7 er et udtryk for vandig fæces. Ved deltagelse i studiet blev hver hund tildelt et ID-nummer (bilag 4).



Figur 2. Flowchart til illustration af inklusionen af hunde i studiet. Hundene blev inkluderet gennem fem forskellige inklusionsmetoder, hvorefter tre fæcesprøver fra hver hund blev testet med FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip. En andel af hundene blev ligeledes testet med tamaVet® Multi 2TD Test. De hunde, som testede positiv på én eller begge hurtigtests, blev efterfølgende testet ved direkte immunofluorescens antistof test (IFAT). Hunde der var positive på IFAT blev inkluderet i det videre projektforsøg.

For at identificere eventuelt *G. duodenalis*-inficerede hunde, blev der først foretaget en screening med FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip af alle hunde, samt med tamaVet® Multi 2TD Test af 55 af hundene. Fæcesprøver fra de hunde, som testede positiv for *G. duodenalis* på én eller begge hurtigtests, blev testet ved IFAT for at bekræfte det positive resultat. Efter den indledende screening fik ejerne tilsendt dokumentation for, at testen enten var negativ (bilag 5) eller positiv (bilag 6) for *G. duodenalis*. For de hunde, hvor der kunne påvises cyster ved IFAT, medfulgte ligeledes information om diagnosen. Ejere valgte selv, hvorvidt de ville kontakte en dyrlæge med henblik på at opstarte behandling. For de 19 IFAT positive hunde, fortsatte hundenes ejere indsamlingen af tre fæcesprøver om ugen i yderligere fire uger. Disse fæcesprøver blev ugentligt testet ved IFAT med

henblik på at kvantificere hundenes udskillelse af cyster. Syv af hundeejerne havde uger, hvor det ikke var muligt at opsamle tre fæcesprøver. I disse uger blev én eller to fæcesprøver godtaget. For seks af disse hunde var der én til tre uger med indlevering af to fæcesprøver, mens der for én af hundene var to uger med indlevering af én fæcesprøve. For de øvrige 12 hunde blev der modtaget tre fæcesprøver ugentligt. Der var intet krav til ejer om at notere opsamlingsrækkefølgen på fæcesprøverne. Dog havde seks af hundene (#59, #61, #62, #63, #64 og #65) samme ejer, som havde noteret dato for hver af de opsamlede fæcesprøver.

Håndtering af prøvemateriale

Hundenes ejere fik inden deltagelse i studiet udleveret en folder med information om studiet samt instruktioner i opsamling og opbevaring af fæcesprøverne (bilag 7). De blev instrueret i at opsamle én fæcesprøve om dagen i tre på hinanden følgende dage, samt at opbevare dem køligt frem til aflevering på tredjedagen. Enkelte ejere opbevarede prøverne i køleskab, mens flertallet opbevarede prøverne udendørs. Der var i perioden for dataindsamlingen (februar og marts) en gennemsnitlig udendørstemperatur på 4,8°C.^{82,83} Udendørstemperaturerne steg dog sidst i perioden (april) til et gennemsnit på 7,6°C.⁸⁴ Efter afhentning af fæcesprøverne fra hundeejerne, blev disse opbevaret i køleskab frem til analyse. Screening med hurtigtest blev foretaget inden for ét til tre døgn efter modtagelse af fæcesprøverne, mens IFAT blev foretaget maksimalt 12 døgn efter modtagelse.

Udførelse af metoder til detektion af *G. duodenalis*

FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip

Anvisningen på den medfølgende indlægsseddel til *FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip* blev fulgt.⁵² Der blev udtaget fæces fra midten af hver af de tre fæcesprøver, svarende til i alt én til tre skefulde fra hver prøve med den medfølgende ske. Antallet af skefulde blev afgjort af konsistensen af fæces. Fæces blev blandet i bufferopløsningen til denne var så homogen som mulig. Testen blev derefter stillet til side i ca. fem minutter, for at sedimentation af grove fæcespartikler kunne finde sted. Herefter blev den medfølgende teststrip indsat vertikalt i opløsningen og først fjernet, når den grønne kontrollinje blev synlig. Striptesten blev derefter lagt på en horisontal flade og aflæst efter fem minutter. Testen blev kategoriseret som positiv for *G. duodenalis*, hvis der kunne ses en tydelig eller svag rød testlinje (figur 3). Hvis der ikke sås en grøn kontrollinje, blev testen udført på ny.



Figur 3. FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip positiv for *Giardia duodenalis* (rød linje).

TamaVet® Multi 2TD Test

Anvisningen på den medfølgende indlægsseddel til tamaVet® Multi 2TD Test blev fulgt.⁵¹ Den medfølgende vatpind blev brugt til at opsamle fæces fra midten af hver af de tre fæcesprøver, indtil den var dækket af fæcesmateriale i en passende mængde, så hele vatpindens ende var dækket af fæces i et tyndt lag. Vatpinden blev indført i tuben med reagens og blandet indtil alt fæcesmateriale var opløst i reagenset. Det medfølgende låg med pipettespids blev påført testtuben og der blev afsat tre dråber i testbrønden for *G. duodenalis*. Testen blev lagt på en horisontal overflade og aflæst efter ti minutter. Testen blev kategoriseret som positiv for *G. duodenalis*, hvis der kunne ses en tydelig eller svag blå testlinje (figur 4). Hvis der ikke sås en kontrollinje, blev testen udført på ny.



Figur 4. tamaVet® Multi 2TD Test positiv for *Giardia duodenalis* (T: blå linje).

Direkte immunofluorescens antistof test (IFAT)

IFAT blev udført efter vejledningen i bilag 8. Ét gram fæces fra hver af de tre fæcesprøver blev først afvejet og behandlet efter vejledningen. De tre prøver fra hvert individ blev herefter overført til tre separate brønde i et Teflon-slide, som efter inkubation blev påført acetone. Acetone hjælper med at

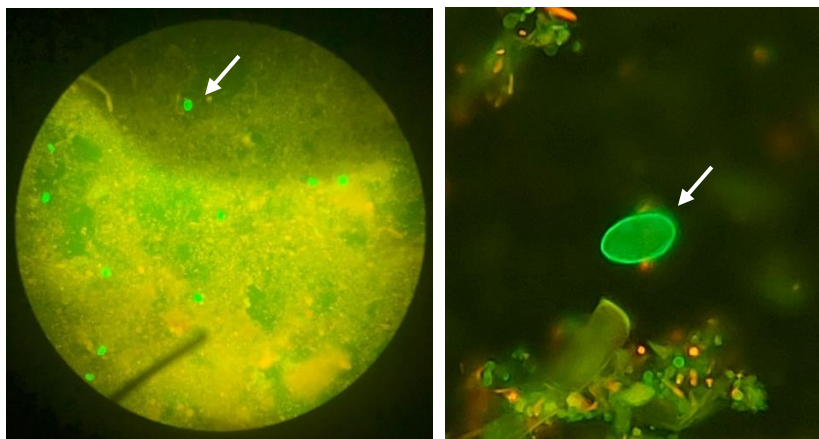
immobilisere cysterne uden at påvirke morfologien, så antistofferne har nemmere adgang til binding med antigen på overfladen af cysterne. Det medvirker desuden til at forhindre autolyse og mindske forrådnelse, så præparaterne efter dette stadie kan opbevares i tre til fire uger før immunofluorescensfarvning foretages.^{56,57} I dette studie blev præparaterne farvet inden for maksimalt to uger. Farvningen blev ligeledes udført efter vejledningen ved, at præparatet tilførtes 20 µL af et reagens indeholdende fluorofor-konjugerede monoklonale antistoffer, som er ekstraheret fra mus. Disse binder specifikt til cyster. Fluorescein isothiocyanat (FITC), som er det anvendte fluorofor i dette studie, vil fluorescere lysegrønt under et mikroskop med FITC-filter.^{56,85} Efterfulgt af farvning og inkubation blev alle ubundne antistoffer vasket væk med MiliQ vand, og proceduren blev afsluttet med påførelse af en mounting buffer. Fluoroforer kan være tilbøjelige til at undergå "photobleaching", som er en lys-induceret destruktion af fluoroforerne, hvormed de mister deres evne til at fluorescere. Denne proces kan forhindres ved at tilføje mounting buffer.^{56,86} Efter påførelse af et dækglas på præparatet og forsegling med neglelak, blev alle præparater mikroskoperet inden for maksimalt otte timer.

Mikroskopering blev foretaget med et Olympus BX41TF mikroskop med FITC-filter ved 40X forstørrelse og en bølgelængde på 490 nm. Antallet af cyster i hele brønden blev optalt og omregnet til antal cyster pr. gram fæces (CPG) efter formelen:

$$CPG = \text{Antal optalte cyster} * 200$$

Denne beregning kan foretages, da der i den anvendte protokol blev oprenset cyster fra ét gram fæces. Efter supernatanten blev suget fra i slutningen af processen, endte man med to milliliter væske indeholdende oprensede cyster fra ét gram fæces. Fra denne væske afpipetteredes ti µL til brønden, som blev mikroskoperet. Der blev således mikroskoperet ca. 1/200 af de tilstedeværende cyster i ét gram fæces.

Ved mikroskopering var cysterne ovale i formen med en diameter på ca. 11-14 µm og fluorescerede æblegrønt (figur 5). Ved observation af noget fluorescerende i præparatet, som havde større afvigelser fra disse kriterier om morfologi og størrelse, blev det ikke talt som værende cyster. Mikroskoperingen blev foretaget af to forskellige personer, hvilket udgjorde en vis usikkerhed. For at sikre så ensartet en optælling af cyster som muligt, var begge personer altid til stede under mikroskoperingen således, at der ved tvivl kunne nås frem til en fælles enighed.



Figur 5. *Giardia duodenalis* cyster (hvid pil) visualiseret ved direkte immunofluorescens antistof test (IFAT). Billedet til højre er udlånt af Julie Simone Svitzer.

Statistiske analyser

For at afgøre sammenhængen mellem infektion og risikofaktorer (alder, neutralisationsstatus, køn og fæcesscore) anvendtes χ^2 -test til statistisk analyse. Hunde, som blev testet negativ på hurtigtests, og dermed ikke blev testet med IFAT, blev i disse beregninger antaget at være fri for infektion med *G. duodenalis*, selvom det erkendes, at hurtigtestene af flere årsager kan have været falsk negative. Når stikprøvestørrelsen bestod af fem eller færre individer, anvendtes Fisher's exact test. Alle sammenligninger havde et signifikansniveau < 0.05 . Alt data blev analyseret i R-studio version 4.3.3.

Resultater

Evaluerings af hurtigtests i forhold til IFAT

Fæcesprøver fra alle 100 hunde i studiet blev testet med FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip. Heraf blev 55 af hundene også testet med tamaVet® Multi 2TD Test. Treogtredive hunde var positive for *G. duodenalis* på en eller begge hurtigtests, og ud af disse kunne der påvises cyster hos 57,6% ($n=19/33$) ved IFAT (bilag 9). Tabel 2 viser sammenligningen af resultatet på de to hurtigtests og IFAT.

Tabel 2. Sammenligning af resultaterne for de to anvendte hurtigtests (*FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip* og *tamaVet® Multi 2TD Test*) med resultaterne for direkte immunofluorescens antistof test (IFAT).

	IFAT positiv	IFAT negativ	IFAT inkonklusiv	I alt
Kun <i>FASTest®</i> positiv*	5	0	0	5
Kun <i>tamaVet®</i> positiv	1	13	1	15
Både <i>FASTest®</i> og <i>tamaVet®</i> positiv	13	0	0	13
I alt	19	13	1	33

*Kun én af disse hunde blev testet med begge hurtigtests.

For alle 13 hunde, som var positive for *G. duodenalis* på begge hurtigtests, kunne der ligeledes påvises cyster i fæcesprøverne ved IFAT. Det samme gjorde sig gældende for de fem hunde, som kun var positiv på *FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip*. Det var dog kun én af disse fem hunde, som også blev testet med *tamaVet® Multi 2TD Test*, så resultatet af denne test for de resterende fire hunde kendes ikke. Femten hunde testede udelukkende positiv på *tamaVet® Multi 2TD Test*, og heraf bekræftede IFAT-analyse kun tilstedeværelsen af cyster hos én af hundene. For 13 af hundene kunne der ikke påvises cyster ved IFAT, mens resultatet var inkonklusivt for én hund (#74). For sidstnævnte blev der fundet tre cystelignende strukturer med en diameter på ca. 6-8 µm. Da størrelsen på disse lå under den normalt forekommende diameter for cyster på 11-14 µm, blev hund #74 censureret og ikke inkluderet i de efterfølgende undersøgelser.

Forekomst og risikofaktorer

Der indgik i alt 100 hunde i den indledende screening (bilag 4). Gennemsnitsalderen blandt disse hunde var 60,81 mdr. svarende til ca. fem år, hvor den yngste var fem måneder gammel og den ældste var 15 år gammel. Treogfyrre procent af hundene var af hankøn (n=43/100) og 57% af hundene var af hunkøn (n=57/100). Fireogtredive procent af hundene var neutraliserede (n=34/100). Som følge af de måder hundenes ejere blev opsøgt på, forekom der en overvægt af visse racer. Eksempelvis deltog flere hundeejere fra en socialiseringsgruppe for gravhunde, samt hundeejere som havde flere hunde af samme race.

På baggrund af IFAT-resultaterne, blev forekomsten af *G. duodenalis* i dette studie beregnet til 19% (n=19/100). De 19 hunde inficeret med *G. duodenalis* havde en gennemsnitsalder på 43 måneder svarende til tre år og syv måneder. Heraf var 42,1% af hundene af hankøn (n=8/19) og 57,9% af hundene var af hunkøn (n=11/19). Kun en enkelt af hundene var neutraliseret (n=1), mens de øvrige hunde var intakte (n=18). Hundene #59, #61, #62, #63, #64 og #65 var alle af racen Shetland Sheepdog og bosat i samme husstand.

Tabel 3. Sammenligning af værtsfaktorer og påvisning af *Giardia duodenalis* cyster i fæces ved direkte immunofluorescens antistof test (IFAT). Tabellen indeholder resultater for χ^2 -tests for hver værtsfaktors indflydelse på infektionsstatus.

	IFAT positiv	IFAT negativ + øvrige hunde*	χ^2	95% nedre konfidensinterval	95% øvre konfidensinterval	p-værdi
Alder						
< 2 år	10	14	10,542	0,088	0,508	0,0012
≥ 2 år	9	67				
Køn						
Hun	11	46	0,007	-0,148	0,162	0,9303
Han	8	35				
Neutralisationsstatus						
Intakt	18	45	9,21	0,131	0,381	0,0024
Neutraliseret	1	33				
Fæcescore**						
1-3	10	70	10,981	0,095	0,555	0,0009
4-7	9	11				

*Hunde som ikke blev testet med IFAT, men var negative på FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip.

**Fæcescore oplyst fra ejer, som den hyppigst forekommende i tiden op til deltagelse i studiet.

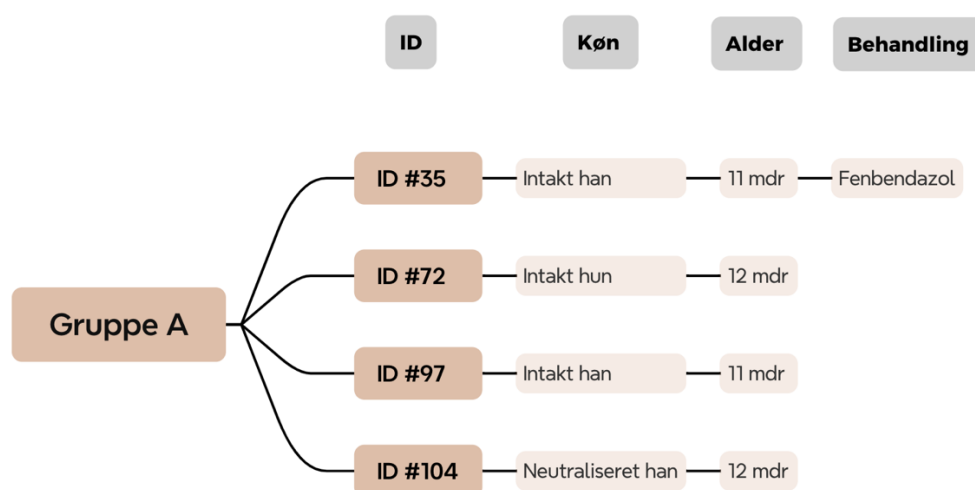
Til analyse af fire værtsfaktorerers indflydelse på forekomst af *G. duodenalis*, blev der opstillet en række forskningshypoteser med dertilhørende nulhypoteser. For alder blev der opstillet en nulhypotese om, at der ikke var en højere forekomst af *G. duodenalis* hos hunde yngre end to år. Denne blev forkastet, og der blev dermed fundet en signifikant sammenhæng mellem alder og infektionsstatus med *G. duodenalis*, hvor der på et 5% signifikansniveau var evidens for, at der var højere risiko for forekomst af *G. duodenalis* hos hunde yngre end to år sammenlignet med hunde på to år eller ældre (tabel 3). For neutralisationsstatus blev der opstillet en nulhypotese om, at der ikke var en højere forekomst af *G. duodenalis* hos intakte hunde. Denne nulhypotese blev ligeledes forkastet, og der blev fundet signifikant evidens på et 5% signifikansniveau for, at der var højere risiko for forekomst af *G. duodenalis* hos intakte hunde sammenlignet med neutraliserede hunde

(tabel 3). Yderligere blev der opstillet en nulhypotese om, at der for hunhunde ikke var en højere forekomst af *G. duodenalis* end hos hanhunde. Denne nulhypotese kunne ikke forkastes på et 5% signifikansniveau, og der blev således ikke fundet en signifikant sammenhæng mellem forekomst af *G. duodenalis* og hundenes køn (tabel 3). Sidst blev der opstillet en nulhypotese om, at hunde med en fæcescore på 4-7 ikke havde højere forekomst af *G. duodenalis* sammenlignet med hunde med en fæcescore på 1-3. Denne nulhypotese kunne forkastes, og der blev fundet en signifikant sammenhæng mellem ejernes beskrivelse af hundenes hyppigst forekommende fæcescore i tiden op til deltagelse i studiet og forekomst af *G. duodenalis*, da der blev påvist højere risiko for forekomst af *G. duodenalis* hos hunde med en fæcescore på 4-7 (tabel 3).

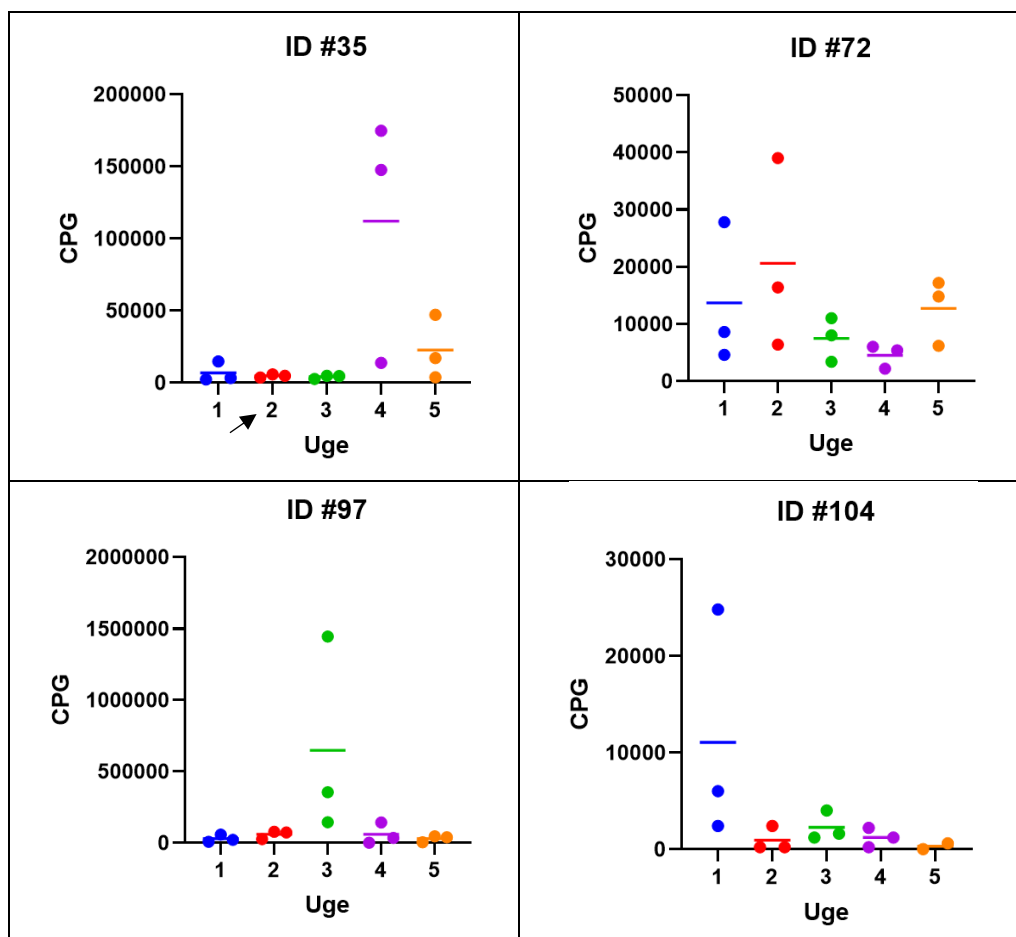
Fækalt udskillelsesmønster af cyster

Gennemsnittet af cyster i de *G. duodenalis* inficerede hundes fæcesprøver var på 18.313 CPG med et spænd fra nul CPG til 354.600 CPG (bilag 10). Baseret på hundenes udskillelsesmønster af cyster i fæces, kunne hundene inddeles i tre grupper: A, B og C.

Gruppe A bestod af fire hunde (#35, #72, #97 og #104) (figur 6), og inkluderede hunde, hvor der blev påvist udskillelse af cyster i alle studieperiodens fem uger (figur 7). Af hundene i gruppe A modtog kun én hund (#35) behandling for *G. duodenalis* med fenbendazol (Panacur® Vet.) (bilag 11).

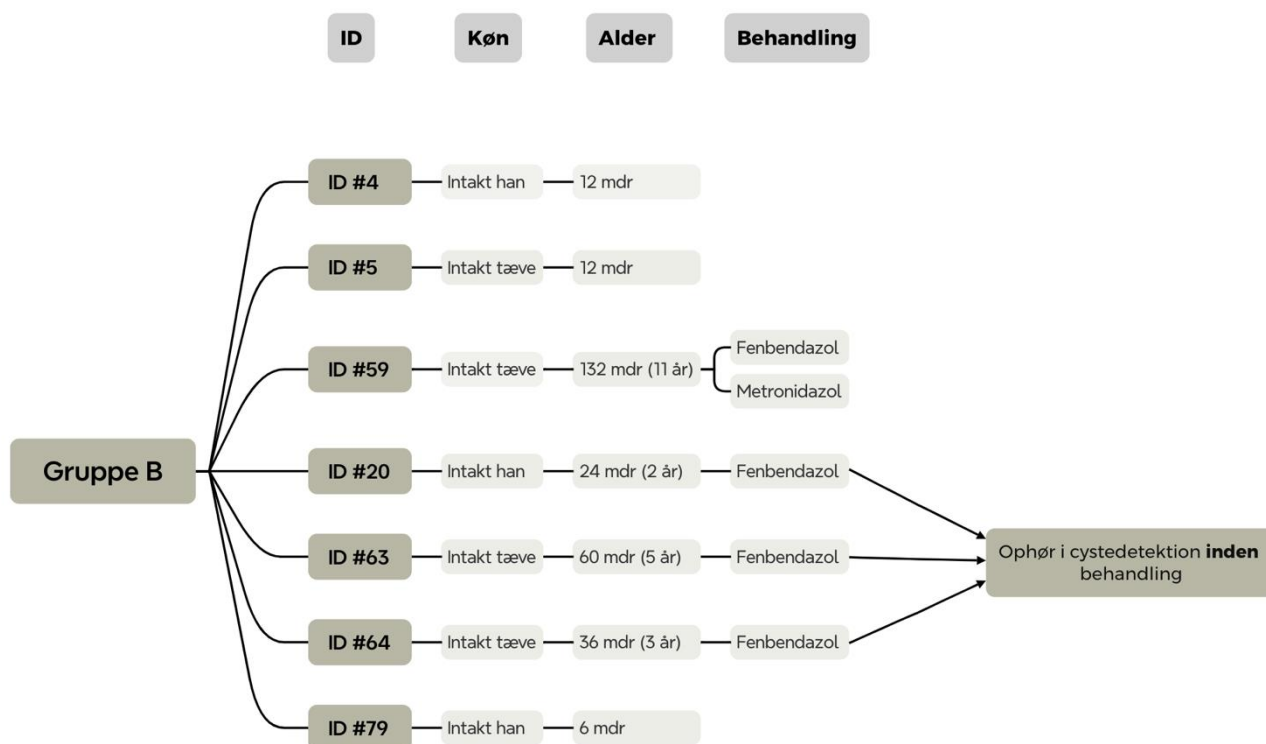


Figur 6. Oversigt over de fire hunde i gruppe A, som inkluderer hunde, hvor der blev påvist udskillelse af cyster i alle studieperiodens fem uger. Inkluderer oplysninger om hundenes ID-nummer, køn, neutralisationsstatus og alder, samt hvorvidt de har modtaget behandling under studieperioden.

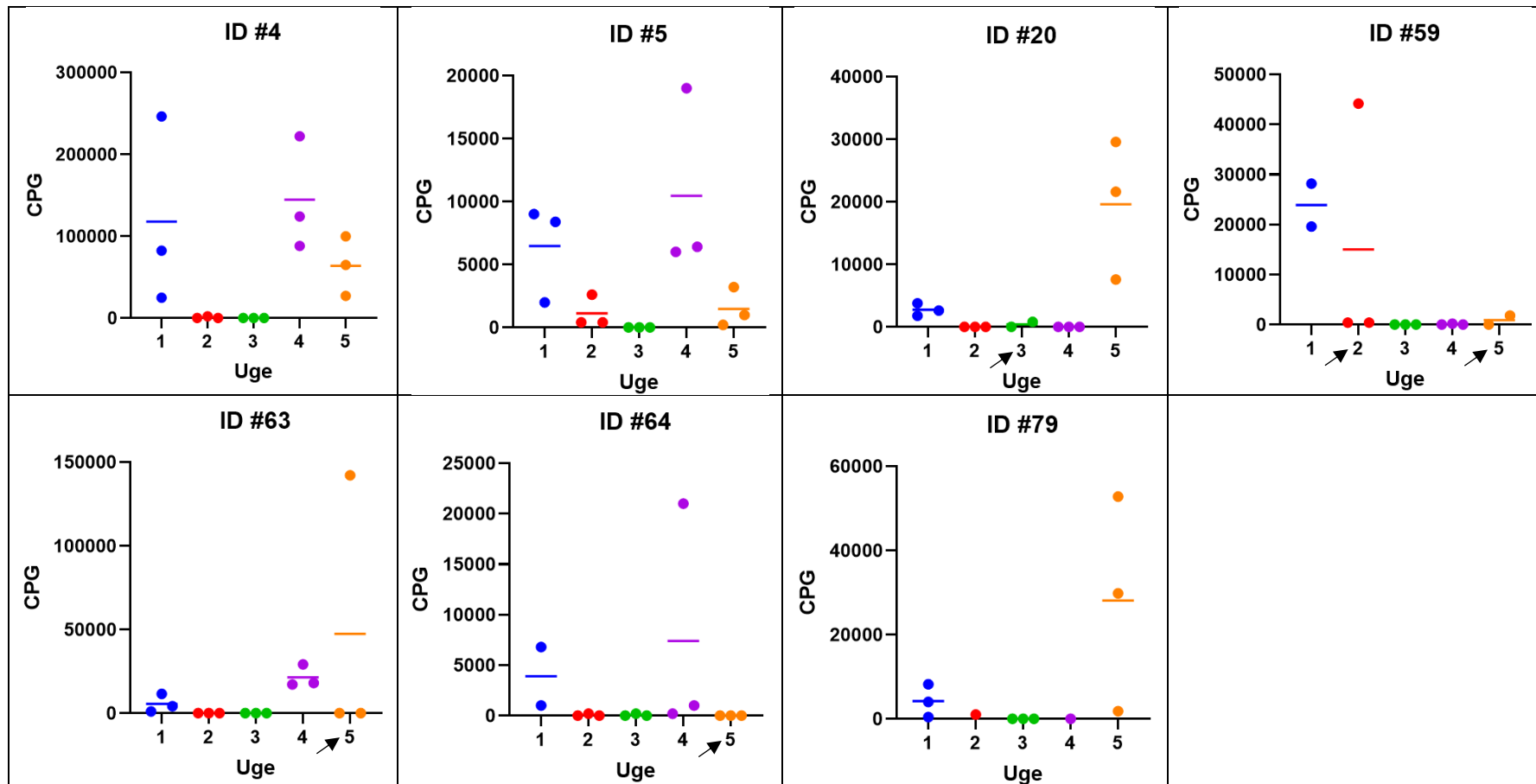


Figur 7. Scatterplots over den ugentlige cysteudskillelse for de fire hunde (#35, #72, #97 og #104) i gruppe A. Hvert plot afspejler en enkelt fæcesprøve. X-aksen beskriver ugenummer i studieperioden på fem uger. Y-aksen beskriver cyste per gram fæces (CPG) for den givne fæcesprøve. Stregen angiver gennemsnit af CPG for hver uges fæcesprøver. Pilen angiver hvilke(n) uge(r) hunden modtog behandling. For bagvedliggende data se bilag 10 og bilag 11.

Gruppe B bestod af syv hunde (#4, #5, #20, #59, #63, #64 og #79) (figur 8), og inkluderede hunde, hvor der sås en pause i påvisningen af cyster i fæces. Det vil sige hunde, der havde en periode på én til tre uger, hvor det ikke var muligt at påvise cyster i fæcesprøverne. Der blev derefter igen påvist cyster i fæces i de sidste én til to uger for alle hundene i gruppen (figur 9). Tre hunde (#4, #5 og #79) modtog ikke behandling mod *G. duodenalis*. Tre hunde (#20, #63 og #64) modtog kun behandling med fenbendazol (Panacur® Vet.), mens en hund (#59) modtog behandling med både metronidazol (Metrobactin® Vet.) og fenbendazol (Panacur® Vet.) (bilag 11). Tre hunde (#20, #63 og #64) havde alle pause i påvisningen af cyster inden opstart af behandling. For én hund (#59) var der en pause i påvisningen af cyster ugen efter behandling med metronidazol, mens cyster fortsat kunne påvises i fæces efter behandling med fenbendazol.

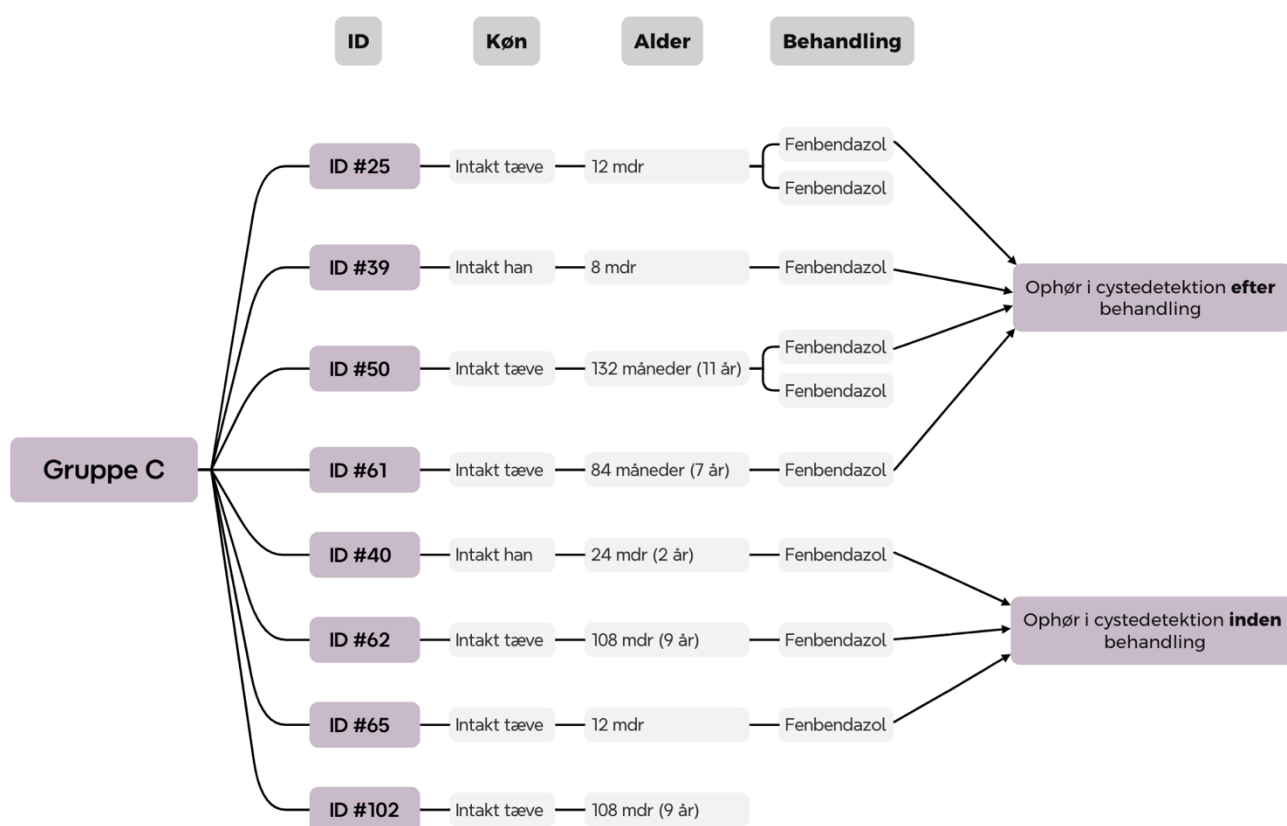


Figur 8. Oversigt over de syv hunde i gruppe B, som inkluderer hunde, hvor der sås en pause i påvisningen af cyster i fæces i løbet af studieperioden på fem uger. Inkluderer oplysninger om hundenes ID-nummer, køn, neutralisationsstatus og alder, samt hvorvidt de har modtaget behandling under studieperioden.

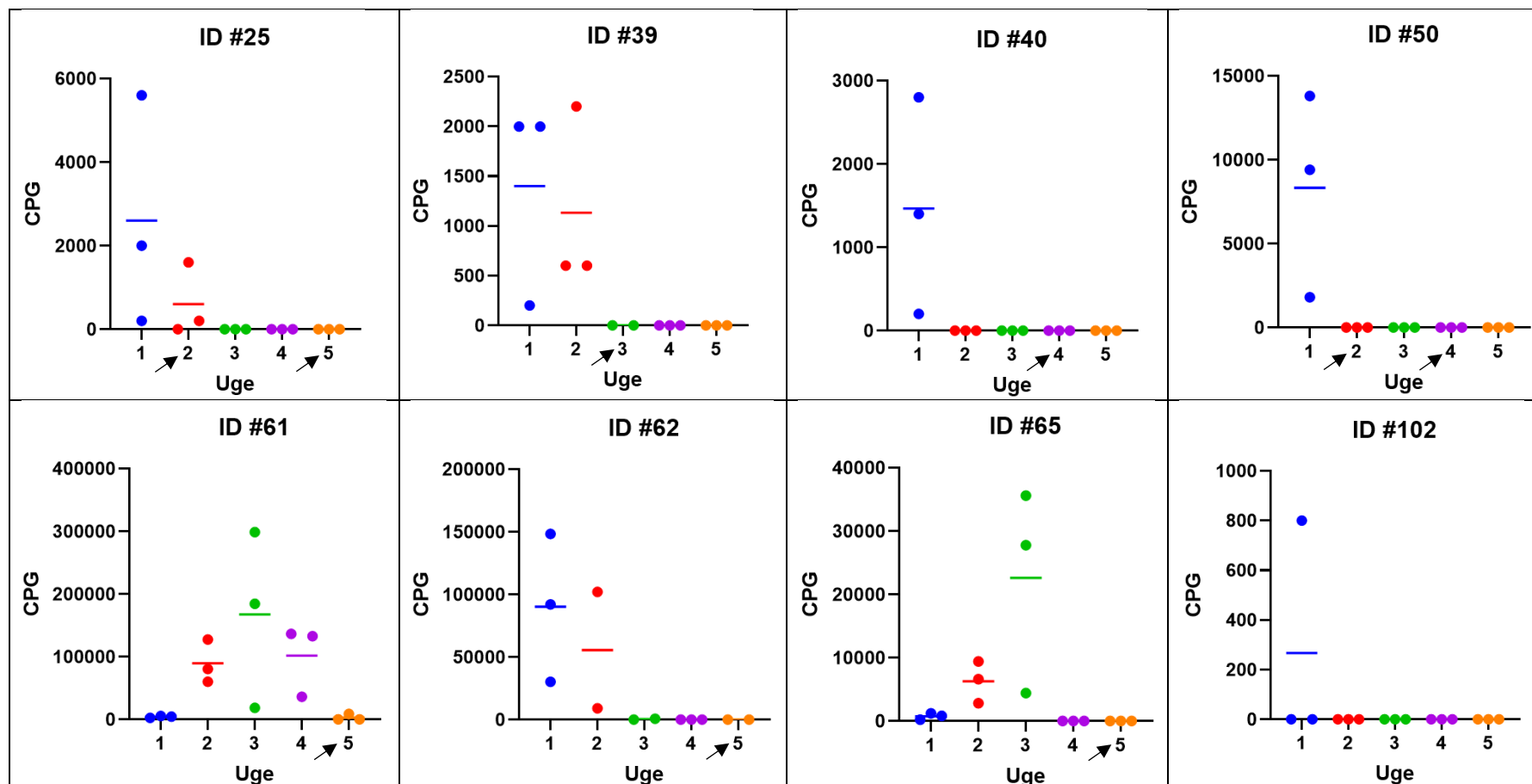


Figur 9. Scatterplots over den ugentlige cysteudskillelse for de syv hunde (#4, #5, #20, #59, #63, #64 og #79) i gruppe B. Hvert plot afspejler en enkelt fæcesprøve. X-aksen beskriver ugenummer i studieperioden på fem uger. Y-aksen beskriver cyster per gram fæces (CPG) for den givne fæcesprøve. Stregen angiver gennemsnit af CPG for hver uges fæcesprøver. Pilen angiver hvilke(n) uge(r) hunden modtog behandling. For bagvedliggende data se bilag 10 og bilag 11.

Gruppe C bestod af otte hunde (#25, #39, #40, #50, #61, #62, #65 og #102) (figur 10) og inkluderede hunde, hvor der blev påvist cyster i fæcesprøverne fra den første uge, men hvor det ikke var muligt at påvise cyster i de sidste én til fire uger (figur 11). Syv af hundene i denne gruppe modtog behandling med fenbendazol (Panacur® Vet.), mens kun én hund (#102) ikke modtog behandling (bilag 11). For tre hunde (#40, #62 og #65) blev der ikke påvist cyster forud for opstart af behandling. For fire hunde (#25, #39, #50 og #61) blev der ikke påvist cyster i fæces umiddelbart efter opstart af behandling.



Figur 10. Oversigt over de otte hunde i gruppe C, som inkluderer hunde, hvor der ikke blev påvist udskillelse af cyster i de sidste én til fire uger af studieperioden. Inkluderer oplysninger om hundenes ID-nummer, køn, neutralisationsstatus og alder, samt hvorvidt de har modtaget behandling under studieperioden.



Figur 11. Scatterplots over den ugentlige cysteudskillelse for de otte hunde (#25, #39, #40, #50, #61, #62, #65 og #102) i gruppe C. Hvert plot afspejler en enkelt fæcesprøve. X-aksen beskriver ugenummer i studieperioden på fem uger. Y-aksen beskriver cyster per gram fæces (CPG) for den givne fæcesprøve. Stregen angiver gennemsnit af CPG for hver uges fæcesprøver. Pilen angiver hvilke(n) uge(r) hunden modtog behandling. For bagvedliggende data se bilag 10 og bilag 11.

Sammenlignet med gruppe A var gennemsnitsalderen i gruppe B og C højere (tabel 4). Der kunne dog ikke påvises en signifikant større risiko for at hunde yngre end to år kontra hunde på to år eller ældre tilhørte en bestemt gruppe. Ligeledes kunne der ikke påvises en signifikant større risiko for at hundenes køn eller neutralisationsstatus havde betydning for placering i en bestemt gruppe (tabel 4).

Tabel 4. Fordeling af hunde i de tre grupper (A, B og C) baseret på alder, køn og neutralisationsstatus. Indeholder p-værdier for Fisher's exact test, som undersøger indflydelse af henholdsvis alder, køn og neutralisationsstatus på, hvilken gruppe en given hund tilhører.

	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	p-værdi
Antal hunde	4	7	8	
Gennemsnitsalder [mdr.]	11,5	40,3	61	
Alder				
< 2 år	4	3	3	0,1407
≥ 2 år	0	4	5	
Køn				
Han	3	3	2	0,2921
Hun	1	4	6	
Neutralisationsstatus				
Intakt	3	7	8	0,2105
Neutraliseret	1	0	0	

For hver uge blev der beregnet en gennemsnitligt fæcesscore baseret på de 3 fæcesprøver (bilag 10). Denne blev sammenholdt med den ugentlige påvisning af cyster. Der blev opstillet en nulhypotese om, at der ikke var større risiko for udskillelse af cyster i de uger, hvor hundene havde en fæcesscore på 4-7 sammenlignet med de uger, hvor de havde en fæcesscore på 1-3. Denne nulhypotese kunne forkastes, da der på et 5% signifikansniveau blev fundet en signifikant sammenhæng mellem hundenes fæcesscore og udskillelse af cyster i fæces ($\chi^2=8,483$, p-værdi=0,0036). *G. duodenalis*-inficerede hunde havde således større risiko for at udskille cyster i de uger, hvor de havde en fæcesscore på 4-7.

Diskussion

Baseret på resultaterne i dette studie blev der observeret en tendens til, at flertallet af hundene med *G. duodenalis* havde et intermitterende udskillelsesmønster af cyster i fæces. Dette stemmer overens med den nuværende tilgængelige litteratur om *G. duodenalis*, som ligeledes beskriver udskillelsen af cyster som intermitterende.^{5,13,15–18} Derudover udviste omtrent en fjerdedel af hundene et kontinuerligt udskillelsesmønster gennem hele studieperioden. Årsagen til variationen i den observerede cysteudskillelse kendes ikke, men data fra dette studie tyder på, at der ikke er en signifikant indflydelse af alder, køn eller neutralisationsstatus på typen af udskillelsesmønster. Der kan dog forelægges andre mulige hypoteser om bagvedliggende årsager til en intermitterende udskillelse.

Det er først og fremmest en mulighed, at der i perioder sker en reel pause i udskillelsen af cyster, hvormed en persisterende infektion med *G. duodenalis* ikke kan detekteres ved undersøgelse af fæces. Grundet livscyklussen for *G. duodenalis*, hvor der forekommer en cyklisk opformering af trophozoiter,^{10,12,15,24} kan der argumenteres for en sammenhæng mellem pausen i cysteudskillelsen og et ophør i trophozoiternes encystrering som følge af deres reproduktive fase. En anden forklaring bygger på, at der i litteraturen beskrives en mulig interaktion mellem vært og parasit, som potentielt kan have en indvirkning på infektionens forløb.^{2,14,40} Denne teori er dog endnu ikke veldokumenteret, ligesom vært-parasit interaktionens indflydelse på cysteudskillelsen heller ikke er belyst. Hvis der til trods for dette, alligevel tages udgangspunkt i teorien, er det muligt, at encystreringen af trophozoiter i perioder kan ophøre, fordi værtens immunforsvar kan danne et respons mod parasittens aktuelle kombination af ”variant surface proteins” og dermed holde den i ave. Omvendt kan en øget cysteudskillelse muligvis korreleres med større trivsel af trophozoiterne. Da trophozoiter kan påvirke værten gennem brug af flere virulensfaktorer,^{13,25,27} kan denne teori understøtte en sammenhæng mellem højere forekomst af parasitten og en øget grad af dysbalance i værtens tarmsystem. Dette stemmer overens med resultaterne i dette studie, hvor der blev påvist en signifikant større risiko for detektion af cyster i fæces i de uger, hvor hundene havde en fæcescore på 4-7 sammenlignet med de uger, hvor de havde en fæcescore på 1-3. Slutteligt kan en øget cysteudskillelse også være resultat af et for parasitten ugunstigt tarmmiljø, hvor encystreringen fremmes som en beskyttende instans.

En anden mulighed for manglende påvisning af cyster i fæces, kan være resultatet af en reel eliminering af *G. duodenalis* fra hundenes tarmsystem. I et sådant tilfælde må det antages, at

hundenes behandling har haft en komplet effekt eller at hundenes eget immunforsvar har været i stand til at bekæmpe infektionen. Da det i dette studie ikke har været muligt at påvise, hvorvidt der var tale om en komplet elimination, er det uvist om hundene i gruppe B havde en persisterende infektion gennem hele studieperioden, eller om der var tale om en reinfektion, når der igen ved studieperiodens afslutning kunne påvises cyster i fæces. For at der kan være tale om en reinfektion, kræves det dels, at infektion med *G. duodenalis* ikke inducerer permanent immunitet hos værten, men også at muligheden for gentagen eksponering for parasitten foreligger. Den tilgængelige litteratur på området understøtter, at begge dele gør sig gældende for *G. duodenalis*.¹³ Derudover kræves det, at helt basale forhold for parasittens biologi og livscyklus er opfyldt. I den veterinære litteratur rapporterer flere artikler om en præpatensperiode på tre til seksten dage.^{16,24,27} For hundene i gruppe B, er det således nødvendigt, at tidsintervallet fra den sidste cystedetektion inden pausen og frem til den efterfølgende cystedetektion tillader, at *G. duodenalis* kan nå at blive elimineret fra tarmen og senere genintroduceret og genetableret. Da der i dette studie kun blev testet tre fæcesprøver ugentligt, er det svært at sige, hvorvidt præpatensperioden blev overholdt. Hvis det til gengæld antages, at resultatet for hver fæcesprøve afspejlede resten af dagens cysteudskillelse, havde alle hunde i gruppe B på nær én hund en pause i cystedetektionen på minimum tre dage, hvormed præpatensperioden kan være overholdt.

For netop at forhindre muligheden for reinfektion, spiller hygiejne i hjemmet en afgørende rolle som led i behandlingen af *G. duodenalis*.^{16,78-80} Hundeejerne blev i dette studie opfordret til at kontakte egen dyrlæge ved ønske om behandling, og vi har derfor ikke instrueret i rengøring af hjemmet. Det er således uvist, hvor mange ejere der har erhvervet sig erfaring om effekten af rengøring som led i behandlingsprotokollen, og dermed også i hvilken grad husstandene med *G. duodenalis*-inficerede hunde er blevet rengjort. Det er ligeledes ukendt om hundene blev badet som led i behandlingen. For husstande med kun én hund, vil reinfektion sandsynligvis skyldes miljøkontaminering, mens reinfektion i husstande med flere samboende hunde dels kan opstå som følge af miljøkontaminering, men også grundet direkte smitte fra de øvrige hunde i husstanden.^{6,73} Sidstnævnte var sandsynligvis gældende for husstanden som bestod af seks af studiets hunde. Cysternes hårdførhed i sammenhold med den lave infektiøse dosis, kan skabe en situation, hvor der forekommer en konstant smittecyklus blandt hundene.

Det kan også diskuteres, om behandling af hundene i gruppe B og C reelt havde effekt, idet manglende cystedetektion allerede var tilfældet for flertallet af de behandlede hunde, inden

behandlingen blev opstartet. Da vurdering af behandlingseffekten ikke var hovedformålet i dette studie, er det vanskeligt at fastslå, om behandlingen med fenbendazol havde effekt mod *G. duodenalis* eller ej. Dette ville først og fremmest have krævet en mere ensartet behandlingsplan. Ligeledes skulle hundene være testet med et ensartet interval over en længere periode efter endt behandling for at udelukke intermitterende cysteudskillelse som årsag til manglende cystedetektion. Andre studier, der har undersøgt effekten af fenbendazol til behandling af *G. duodenalis* har vist, at der overordnet set ikke forekommer en god terapeutisk effekt af behandlingen.^{16,70}

Da det på baggrund af data fra dette studie ikke har været muligt at fastslå, hvorvidt der forekom reelle pauser i cysteudskillelsen, kan der ligeledes opstilles den mulighed, at hundene har haft en vedvarende cysteudskillelse, men at CPG i perioder har ligget under den nedre detektionsgrænse for IFAT. Denne teori understøttes ligeledes af studier, der beretter om, at antallet af cyster i fæces kan være fluktuerende.^{5,18} Der blev i dette studie ligeledes observeret en fluktuerende cysteudskillelse, som for flere af hundene havde en stor variation over tid. Gennemsnittet af cyster i fæcesprøverne fra de 19 positive hunde var på 18.313 CPG med et spænd fra nul CPG til 354.600 CPG. Øvrige studier, der har undersøgt CPG i fæces hos hunde, har fundet en gennemsnitlig CPG på henholdsvis 54,4⁸⁷ og 705,8.⁸⁸ Resultaterne i dette studie overstiger disse fund markant, men en årsag til denne forskel er ikke klarlagt. De to studier er dog baseret på henholdsvis PCR⁸⁷ og flotation med sucrose opløsning,⁸⁸ hvilket muligvis kan have en betydning for den detekterede CPG. En anden faktor, som kan have indflydelse for detektion af cyster, kan være disses udbredelse i en fæcesprøve. Da der ikke foreligger nogle studier, der har undersøgt denne faktor, vides det ikke, om der findes foci af cyster i bestemte dele af en fæcesprøve, og dermed hvorvidt CPG kan variere afhængigt af, hvor i fæces prøvematerialet udtages fra. Yderligere kan det ikke udelukkes, at der kan være fejlkilder forbundet med udførelsen af IFAT protokollen og, at cyster som følge heraf eksempelvis kan være blevet ødelagt eller gået tabt undervejs i fremstillingen af præparatet.

Selvom der var en overvægt af hunde med et intermitterende udskillelsesmønster, blev der for omtrent en fjerdedel af hundene observeret et mere kontinuerligt udskillelsesmønster, hvor det var muligt at detektere cyster i alle fæcesprøverne. Da der kun blev testet tre fæcesprøver ugentligt, er det dog muligt, at hundene reelt havde et intermitterende udskillelsesmønster, og at det blot var en tilfældighed, at alle analyserede fæcesprøver indeholdt cyster. Omvendt foreligger også den mulighed, at hundene faktisk havde en vedvarende cysteudskillelse gennem hele studieperioden. Da gennemsnitsalderen i gruppe A var den laveste for de tre grupper, kan en mulig forklaring være, at

immunforsvaret for nogle af hundene endnu ikke var fuldt udviklet, og at de som resultat heraf ikke kunne kontrollere infektionen.

Til detektion af *G. duodenalis* blev der i dette studie anvendt en række forskellige tests. Den indledende screening blev foretaget med *FASTest*® CRYPTO-GIARDIA Strip. Valget af denne test blev foretaget, da den er hurtig og nem at anvende til screening af en større population, samtidig med at der i flere studier er observeret en høj specificitet.^{17,50} Derudover blev 55 af hundene også testet med *tamaVet*® Multi 2TD Test. Denne blev anvendt som supplerende test, når den var tilgængelig i laboratoriet. Da der ikke er kendskab til andre studier, som har foretaget evaluering af *tamaVet*® Multi 2TD Test, er den medtaget i dette studie til sammenligning med *FASTest*® CRYPTO-GIARDIA Strip, som derimod er blevet evalueret i tidligere studier.^{17,50} Til at bekræfte et positivt resultat af en eller begge hurtigtests, blev IFAT anvendt. Testens kvantitative egenskaber sammenholdt med dens høje specificitet, gør den dels anvendelig som ”gold standard” til detektion af *G. duodenalis*,^{50,59,63–65} men også oplagt til at understøtte studiets hovedformål.

Da der i dette studie var et ønske om at inkludere flest mulige *G. duodenalis* positive hunde, har det som følge af en begrænset projektperiode, ikke været muligt også at verificere de negative resultater på hurtigtest med IFAT. Det vides derfor ikke, om de 67 hunde, som ikke blev testet med IFAT, reelt var negative for *G. duodenalis*. Af samme årsag har det ikke været muligt at foretage en egentlig evaluering af de to hurtigtests, da det ikke var muligt at beregne den diagnostiske sensitivitet og specificitet. Et studie som sammenlignede *FASTest*® CRYPTO-GIARDIA Strip med IFAT fandt, at 9,5% af de negative resultater ved *FASTest*® CRYPTO-GIARDIA Strip var falsk negative.⁵⁰ Der var kun en enkelt hund i dette studie, som blev bekræftet falsk negativ. Andre studier har påvist en lavere sensitivitet på 66,7%⁵⁰ og 66,2%¹⁷ for *FASTest*® CRYPTO-GIARDIA Strip, hvilket indikerer, at der sandsynligvis har været en højere andel af falsk negative i dette studies datasæt, end det har været muligt at påvise.

Ud af de 28 hunde som testede positiv med *tamaVet*® Multi 2TD Test, blev kun halvdelen af disse bekræftet positive på IFAT. Testen gav således anledning til en stor andel af falsk positive resultater, hvilket der kan være flere forklaringer på. Den manglende evaluering af testens diagnostiske performance gør det svært at dokumentere, hvorvidt den kan leve op til producentens oplyste sensitivitet og specificitet på henholdsvis 91,9% og 97,9%.⁵³ Der foreligger derfor den mulighed, at testen har en høj sensitivitet og en lav specificitet. En anden forklaring på den store andel af falsk positive hunde kan være, at *tamaVet*® Multi 2TD Test har en lavere detektionsgrænse end IFAT. Et

studie har vist, at IFAT har en nedre detektionsgrænse på 17,2 cyster pr mL fæces,⁶² mens den nedre detektionsgrænse for tamiVet® Multi 2TD Test ikke kendes.⁵¹ Slutteligt kan resultaterne også være påvirket af, at producentens egen testevaluering bygger på en sammenligning med ELISA,⁵¹ mens dette studie har anvendt IFAT som ”gold standard”. For at vurdere anvendeligheden af denne test til detektion af *G. duodenalis*, vil det kræve yderligere evaluering i fremtidige studier.

Baseret på IFAT resultaterne blev forekomsten af *G. duodenalis* hos hundene i dette studie beregnet til 19%. Grundet den manglende IFAT-verificering af negative testsvar på hurtigtests, vides det dog ikke, om dette er den reelle forekomst. Endvidere er denne forekomst ikke en afspejling af den sande prævalens for danske hunde, da studiepopulationen ikke var tilfældigt udvalgt. Der er eksempelvis flere hundeejere, der har valgt at deltage, fordi deres hunde tidligere blev testet positiv for *G. duodenalis*. Det gælder blandt andet for ejeren til seks af studiets positive hunde (#59, #61, #62, #63, #64 og #65), som havde et opdræt af Shetland Sheepdogs, hvor infektion med *G. duodenalis* blandt hundene på forhånd var et kendt problem. Ejerne til to af de øvrige positive hunde (#50 og #104) deltog ligeledes, da deres hunde tidligere var blevet testet positiv for *G. duodenalis* ved egen dyrlæge. Derudover er en enkelt hund (#35) medtaget på baggrund af en positiv FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip i forbindelse med udredning af gastrointestinale symptomer på Universitetshospitalet for Familiedyr på Københavns Universitet. Andre faktorer i studiet, der kan have påvirket forekomsten af *G. duodenalis* indebærer blandt andet geografien. Hundene i dette studie var alle bosat i Hovedstaden, Nordsjælland eller i kommunerne langs Køge Bugt. Nielsen (2005) har ikke kunnet påvise en øget forekomst af *G. duodenalis* i bestemte dele af Danmark,⁸¹ men da der ikke er kendskab til andre lignende studier i Danmark, vides det ikke med sikkerhed, om nogle områder har en øget prævalens af *G. duodenalis*-inficerede hunde. Ligeledes var en større andel af de positive hunde i dette studie en fast del af hundetræningsmiljøet, hvilket medførte, at de hyppigt færdedes sammen med andre hunde. Da flere studier har vist, at hunde der færdes i områder med en høj populationsdensitet af hunde, har højere risiko for at blive inficeret med *G. duodenalis*,^{29,89} kan dette også have haft betydning for forekomsten i dette studie.

Det er fra litteraturen kendt, at der eksisterer værtsfaktorer, som har indflydelse på forekomsten af *G. duodenalis*.^{31,33} Disse faktorer blev ligeledes undersøgt i dette studie. Dog bygger resultaterne på antagelsen om en sammenhæng mellem negativ hurtigtest og fravær af infektion. Af denne årsag vil der være en større usikkerhed forbundet med resultaterne, da det ikke vides, hvor stor en andel af hundene denne antagelse var korrekt for. Der blev påvist en signifikant sammenhæng mellem infektionsstatus med *G. duodenalis* og hundenes alder samt neutralisationsstatus. Hertil blev der

påvist en højere risiko for forekomst af *G. duodenalis* hos hunde yngre end to år sammenlignet med hunde på to år eller ældre, samt hos intakte hunde sammenlignet med neutraliserede hunde. Disse resultater stemmer overens med litteraturen. Både French et al. (2023), Mohamed et al. (2013) og Upjohn et al. (2010) har påvist signifikant større forekomst af *G. duodenalis* hos unge hunde, samt hos intakte hunde.^{31,33,34} Hundes naturlige adfærd synes at spille en rolle i den øgede forekomst af *G. duodenalis*, da både unge hunde såvel som intakte hunde i højere grad har en opsøgende adfærd over for andre artsfæller sammenlignet med ældre og neutraliserede hunde.³¹ Yderligere gennemgår hvalpe en oral fase tidligt i deres liv, som ligeledes kan prædisponere for infektion. Der blev derudover påvist en signifikant sammenhæng mellem hundenes fæcescore i perioden op til deltagelse i studiet og forekomst af infektion med *G. duodenalis*. Et af de hyppigst beskrevne kliniske tegn hos *G. duodenalis* inficerede hunde er, at fæces antager en blød til vandig konsistens.^{2,5,13,15} Dette blev bekræftet af resultaterne i dette studie, da der sås højere risiko for forekomst af *G. duodenalis* hos hunde med en fæcescore på 4-7 sammenlignet med hunde med en fæcescore på 1-3. Resultatet stemmer ligeledes overens med fund gjort af Kurnosova et al. (2024) og Sui et al. (2022), som begge har påvist en sammenhæng mellem høj fæcescore og infektion med *G. duodenalis*.^{32,46} Upjohn et al. (2010) har dog ikke kunnet påvise denne sammenhæng.³³ Afslutningsvis blev der også regnet på indflydelsen af hundenes køn på forekomsten af *G. duodenalis*. Hertil var det dog ikke muligt at påvise en sammenhæng, hvilket også blev bekræftet af fund fra andre studier. Hverken Zhao et al. (2022), Upjohn et al. (2010) eller Uiterwijk et al. (2019) har været i stand til at påvise en signifikant sammenhæng mellem infektion med *G. duodenalis* og hundens køn.^{7,30,33}

Begrænsninger

Flere faktorer begrænser, at resultaterne fra dette studie kan generaliseres til en større population af danske hunde. For det første er hundene fra dette studie ikke tilfældigt udvalgt. For det andet er stikprøvestørrelsen relativt lille, da en begrænset studieperiode har medført, at der kun kunne inkluderes 19 *G. duodenalis*-inficerede hunde i studiet.

I udformningen af projektets rammer blev der desuden taget nogle beslutninger, som potentielt kan have påvirket testresultaterne. Uagtet at det i litteraturen er velbeskrevet, at hunde med *G. duodenalis* har et intermitterende udskillelsesmønster, er det blevet besluttet at indsamle fæcesprøver fra tre på hinanden følgende dage med det formål at holde arbejdsbyrden for de

deltagende hundeejere på et minimum. Af samme årsag er ejerne heller ikke blevet instrueret i at nummerere fæcesprøverne. Dette har bevirket, at en eksakt fluktuation i cysteudskillelsen over de tre dage ikke har kunnet bestemmes. Det kan heller ikke udelukkes, at et andet udskillelsesmønster var blevet identificeret, og at forekomsten af *G. duodenalis* i studiet havde været anderledes, hvis prøverne var blevet indsamlet med en større ugentlig spredning. Deltagerne fik ved projektets start udleveret en folder med beskrivende retningslinjer for opsamling og opbevaring af fæcesprøverne. Da indsamlingen af prøvematerialet foregik i private hjem, har det ikke været muligt at kontrollere overholdelsen af de udstukne retningslinjer. Det er således uvist, hvorvidt det foreskrevne temperaturinterval for opbevaring af prøverne er blevet overholdt, og om cyster potentielt kan være gået tabt som følge heraf. Der foreligger endvidere en usikkerhed i ejernes overholdelse af opsamlingsprotokollen og det kan dels være muligt, at der i nogle tilfælde er blevet opsamlet flere prøver fra samme dag, ligesom prøveopsamling med flere dages mellemrum også kan have været på tale. For ejere med flere hunde i husstanden er det ydermere uvist, hvorvidt der er blevet byttet rundt på prøver for de individuelle hunde.

Konklusion

Hovedformålet med dette studie var at undersøge frekvens og kvantitet af cyster i fæces hos en gruppe af danske hunde naturligt inficeret med *G. duodenalis* samt potentielt at identificere mønstre i udskillelsen. Resultaterne fra dette studie viste tre overordnede mønstre for cysteudskillelsen blandt hundene. To af mønstrene bar præg af en dynamisk cysteudskillelse, mens en kontinuerlig udskillelse udgjorde det tredje mønster. Det har på baggrund af data fra dette studie ikke været muligt at definere en årsag til variationen i cysteudskillelsen, men flere potentielle teorier er blevet belyst. Den store variation i cysteudskillelsen blandt hundene og de mange mulige teorier bag, fremhæver kompleksiteten af infektion med *G. duodenalis*. Det understreger ligeledes, at yderligere forskning er indiceret for at konkludere yderligere på udskillelsesmønsteret.

Endvidere var et underformål at foretage en risikoanalyse af forskellige værtsfaktorerers indflydelse på forekomsten af *G. duodenalis*. Der blev på baggrund af data fra dette studie påvist en signifikant indflydelse af hundenes alder, neutralisationsstatus og fæcescore på forekomsten af *G. duodenalis*, mens det ikke var muligt at påvise en signifikant indflydelse af hundenes køn. Dog var der visse usikkerheder forbundet med disse resultater, hvormed yderligere prævalensstudier er nødvendige til at støtte op om resultaterne.

Perspektivering

Resultaterne i dette studie kan bruges som et supplement til at optimere diagnosticeringen af *G. duodenalis* på danske dyreklinikker. Da flere af de *G. duodenalis* inficerede hunde i dette studie havde fæcesprøver, hvor det ikke var muligt at påvise cyster, er et negativt testresultat ikke altid ensbetydende med, at hunden er fri for infektion. Har man en mistanke om *G. duodenalis* infektion hos en hund, hvor den indledende test har vist et negativt udslag, kan det være fordelagtigt at foretage gentagne tests, at kombinere forskellige testmetoder og at teste afføring spredt henover en uge. Dette for at minimere risikoen for et falsk negativt resultat. For at få et mere indgående indblik i udskillelsesmønsteret er der en række faktorer med indflydelse på diagnosticeringen, hvor det i fremtiden vil være relevant at opstille studier og forske yderligere.

For at kortlægge udskillelsesmønsteret mere præcist, vil det kræve et studie med større stikprøvestørrelse, og at hundene følges over en længere periode. Derudover vil det være relevant at undersøge udbredelsen af cyster i en fæcesprøve for at udelukke, at falsk negative resultater skyldes udtagelse af testmateriale fra en del af fæces, som ikke indeholder cyster. Da det ikke vides, hvorvidt der eksisterer en daglig fluktuation i cysteudskillelsen hos inficerede hunde, vil det ydermere være relevant at opstille et studie, hvor alt fækalt materiale som hundene afsætter, analyseres for cyster. Da der også foreligger den mulighed, at infektionens sværhedsgrad er dynamisk over tid, vil det ligeledes være relevant at foretage et kontrolleret studie, hvor hunde inficeres med *G. duodenalis* og følges igennem en længere periode.

Hundene i dette studie modtog ikke ensartet behandling mod infektionen, og resultaterne kan derfor ikke anvendes til at vurdere behandlingseffekten. Yderligere studier om behandlingseffekt er derfor relevant for at kortlægge den mest optimale behandlingsprotokol, da denne ikke er beskrevet i litteraturen. Hertil vil det kræve, at behandlingen såvel som hygiejnetiltag i hjemmet ensartes for alle hunde.

Referencer

1. Robertson ID, Irwin PJ, Lymbery AJ, Thompson RCA. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *Int J Parasitol.* 2000;30(12-13):1369-1377. doi:10.1016/S0020-7519(00)00134-X
2. Tysnes KR, Skancke E, Robertson LJ. Subclinical Giardia in dogs: a veterinary conundrum relevant to human infection. *Trends Parasitol.* 2014;30(11):520-527. doi:10.1016/j.pt.2014.08.007
3. Šmit I, Potočnjak D, Matijatko V, et al. The Influence of Giardia duodenalis on the Occurrence of Clinical Signs in Dogs. *Vet Sci.* 2023;10(12):694. doi:10.3390/vetsci10120694
4. Scorza A V., Buch J, Franco P, McDonald C, Chandrashekar R, Lappin MR. Evaluation for associations amongst Giardia duodenalis assemblages and diarrhea in dogs. *Vet Parasitol.* 2021;300:109581. doi:10.1016/j.vetpar.2021.109581
5. Kirkpatrick CE. Giardiasis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 1987;17(6):1377-1387. doi:10.1016/S0195-5616(87)50007-9
6. Bugg RJ, Robertson ID, Elliot AD, Thompson RCA. Gastrointestinal Parasites of Urban Dogs in Perth, Western Australia. *The Veterinary Journal.* 1999;157(3):295-301. doi:10.1053/tvjl.1998.0327
7. Uiterwijk M, Nijse R, Kooyman FNJ, Wagenaar JA, Mughini-Gras L, Ploeger HW. Host factors associated with Giardia duodenalis infection in dogs across multiple diagnostic tests. *Parasit Vectors.* 2019;12(1). doi:10.1186/s13071-019-3810-3
8. Feng Y, Xiao L. Zoonotic Potential and Molecular Epidemiology of Giardia Species and Giardiasis. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(1):110-140. doi:10.1128/CMR.00033-10
9. Ryan UM, Feng Y, Fayer R, Xiao L. Taxonomy and molecular epidemiology of Cryptosporidium and Giardia – a 50 year perspective (1971–2021). *Int J Parasitol.* 2021;51(13-14):1099-1119. doi:10.1016/j.ijpara.2021.08.007
10. Thompson RCA. The zoonotic significance and molecular epidemiology of Giardia and giardiasis. *Vet Parasitol.* 2004;126(1-2):15-35. doi:10.1016/j.vetpar.2004.09.008
11. Cacciò SM, Thompson RCA, McLauchlin J, Smith H V. Unravelling Cryptosporidium and Giardia epidemiology. *Trends Parasitol.* 2005;21(9):430-437. doi:10.1016/j.pt.2005.06.013
12. Thamsborg SM, Monrad J. *Veterinær Parasitologi: Protozoloogi for Veterinærstuderende.* 6th ed. Academic books; 2015.
13. Tangtrongsup S, Scorza V. Update on the Diagnosis and Management of Giardia spp Infections in Dogs and Cats. *Top Companion Anim Med.* 2010;25(3):155-162. doi:10.1053/j.tcam.2010.07.003
14. Buret AG. Pathophysiology of enteric infections with Giardia duodenalis. *Parasite.* 2008;15(3):261-265. doi:10.1051/parasite/2008153261

15. Payne PA, Artzer M. The Biology and Control of *Giardia* spp and *Tritrichomonas foetus*. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2009;39(6):993-1007. doi:10.1016/j.cvsm.2009.06.007
16. Ciuca L, Pepe P, Bosco A, et al. Effectiveness of Fenbendazole and Metronidazole Against *Giardia* Infection in Dogs Monitored for 50-Days in Home-Conditions. *Front Vet Sci*. 2021;8. doi:10.3389/fvets.2021.626424
17. Salih B. *A Comparative Study of Immunofluorescence, Zinc Sulphate Centrifugal Flotation and FASTest®GIARDIA Strip for Detection of Giardia in Dogs and Cats*. The National Veterinary Institute, Uppsala University; 2018. Accessed June 12, 2024. <http://www.diva-portal.se/smash/get/diva2:1239899/FULLTEXT01.pdf>
18. Uchôa FF de M, Sudré AP, Campos SDE, Almosny NRP. Assessment of the diagnostic performance of four methods for the detection of *Giardia duodenalis* in fecal samples from human, canine and feline carriers. *J Microbiol Methods*. 2018;145:73-78. doi:10.1016/j.mimet.2018.01.001
19. Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL. Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infection, Genetics and Evolution*. 2003;3(1):29-38. doi:10.1016/S1567-1348(02)00149-1
20. Ankarklev J, Jerlström-Hultqvist J, Ringqvist E, Troell K, Svärd SG. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(6):413-422. doi:10.1038/nrmicro2317
21. Siniscalchi M, d'Ingeo S, Minunno M, Quaranta A. Communication in Dogs. *Animals*. 2018;8(8):131. doi:10.3390/ani8080131
22. Simpson BS. Canine Communication. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1997;27(3):445-464. doi:10.1016/S0195-5616(97)50048-9
23. Hart BL, Hart LA, Thigpen AP, Tran A, Bain MJ. The paradox of canine conspecific coprophagy. *Vet Med Sci*. 2018;4(2):106-114. doi:10.1002/vms3.92
24. Ballweber LR, Xiao L, Bowman DD, Kahn G, Cama VA. Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. *Trends Parasitol*. 2010;26(4):180-189. doi:10.1016/j.pt.2010.02.005
25. Allain T, Amat CB, Motta JP, Manko A, Buret AG. Interactions of *Giardia* sp. with the intestinal barrier: Epithelium, mucus, and microbiota. *Tissue Barriers*. 2017;5(1):e1274354. doi:10.1080/21688370.2016.1274354
26. Midlej V, Benchimol M. *Giardia lamblia* behavior during encystment: How morphological changes in shape occur. *Parasitol Int*. 2009;58(1):72-80. doi:10.1016/j.parint.2008.11.002
27. Thompson RCA, Palmer CS, O'Handley R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *The Veterinary Journal*. 2008;177(1):18-25. doi:10.1016/j.tvjl.2007.09.022

28. Bouzid M, Halai K, Jeffreys D, Hunter PR. The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. *Vet Parasitol.* 2015;207(3-4):181-202. doi:10.1016/j.vetpar.2014.12.011
29. Smith AF, Rock M, Neumann N, Massolo A. Urban park-related risks for *Giardia* spp. infection in dogs. *Epidemiol Infect.* 2015;143(15):3277-3291. doi:10.1017/S0950268815000400
30. Zhao ZY, Li MH, Lyu C, et al. Prevalence of *Giardia duodenalis* Among Dogs in China from 2001 to 2021: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Foodborne Pathog Dis.* 2022;19(3):179-191. doi:10.1089/fpd.2021.0073
31. French SK, Kotwa JD, Singh B, et al. Factors associated with *Giardia* infection in dogs in southern Ontario, Canada. *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* 2023;41:100870. doi:10.1016/j.vprsr.2023.100870
32. Kurnosova OP, Panova OA, Arisov M V. Prevalence of *Giardia duodenalis* in dogs and cats: Age-related predisposition, symptomatic, and asymptomatic cyst shedding. *Vet World.* Published online February 15, 2024:379-383. doi:10.14202/vetworld.2024.379-383
33. Upjohn M, Cobb C, Monger J, Geurden T, Claerebout E, Fox M. Prevalence, molecular typing and risk factor analysis for *Giardia duodenalis* infections in dogs in a central London rescue shelter. *Vet Parasitol.* 2010;172(3-4):341-346. doi:10.1016/j.vetpar.2010.05.010
34. Mohamed AS, Glickman LT, Camp JW, Lund E, Moore GE. Prevalence and risk factors for *Giardia* spp. infection in a large national sample of pet dogs visiting veterinary hospitals in the United States (2003-2009). *Vet Parasitol.* 2013;195(1-2):35-41. doi:10.1016/j.vetpar.2012.12.049
35. Lindsay DS, Wright J. *Prevalence of Canine Parasites Based on Fecal Flotation.*; 1996. <https://www.researchgate.net/publication/279867899>
36. Bianciardi P, Papini R, Giuliani G, G. C. Prevalence of *Giardia* antigen in stool samples from dogs and cats". *Rev Med Vet (Toulouse).* 2004;155:417-421.
37. Fekete E, Allain T, Siddiq A, Sosnowski O, Buret AG. *Giardia* spp. and the Gut Microbiota: Dangerous Liaisons. *Front Microbiol.* 2021;11. doi:10.3389/fmicb.2020.618106
38. Gerbaba TK, Gupta P, Rioux K, Hansen D, Buret AG. *Giardia duodenalis* -induced alterations of commensal bacteria kill *Caenorhabditis elegans* : a new model to study microbial-microbial interactions in the gut. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2015;308(6):G550-G561. doi:10.1152/ajpgi.00335.2014
39. Allain T, Fekete E, Buret AG. *Giardia* Cysteine Proteases: The Teeth behind the Smile. *Trends Parasitol.* 2019;35(8):636-648. doi:10.1016/j.pt.2019.06.003
40. Allain T, Buret AG. Pathogenesis and post-infectious complications in giardiasis. In ; 2020:173-199. doi:10.1016/bs.apar.2019.12.001

41. Ortega-Pierres MG, Argüello-García R. Giardia duodenalis: Role of secreted molecules as virulent factors in the cytotoxic effect on epithelial cells. In: ; 2019:129-169. doi:10.1016/bs.apar.2019.07.003
42. W. Nelson R, Couto CG. *Small Animal Internal Medicine*. 6th ed. Elsevier; 2020.
43. Kuzi S, Eshcol Argentaro S, Baneth G. Prevalence of Giardia duodenalis infection, co-morbidities and associated risk factors in dogs admitted to a veterinary teaching hospital in Israel. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2020;68:101401. doi:10.1016/j.cimid.2019.101401
44. Kuzi S, Zgairy S, Byrne BA, et al. Giardiasis and diarrhea in dogs: Does the microbiome matter? *J Vet Intern Med*. 2024;38(1):152-160. doi:10.1111/jvim.16894
45. Halliez MC. Extra-intestinal and long term consequences of Giardia duodenalis infections. *World J Gastroenterol*. 2013;19(47):8974. doi:10.3748/wjg.v19.i47.8974
46. Sui Y, Zhang X, Wang H, et al. Prevalence and genetic diversity of Giardia duodenalis in pet dogs from Zhengzhou, central China and the association between gut microbiota and fecal characteristics during infection. *One Health*. 2022;14:100401. doi:10.1016/j.onehlt.2022.100401
47. Berry ASF, Johnson K, Martins R, et al. Natural Infection with *Giardia* Is Associated with Altered Community Structure of the Human and Canine Gut Microbiome. *mSphere*. 2020;5(4). doi:10.1128/mSphere.00670-20
48. Boucard AS, Thomas M, Lebon W, et al. Age and Giardia intestinalis Infection Impact Canine Gut Microbiota. *Microorganisms*. 2021;9(9):1862. doi:10.3390/microorganisms9091862
49. Peruzzo A, Vascellari M, Massaro A, et al. Giardia duodenalis Colonization Slightly Affects Gut Microbiota and Hematological Parameters in Clinically Healthy Dogs. *Animals*. 2023;13(6):958. doi:10.3390/ani13060958
50. Brodersen AL, Hagemann A, Mejer H, et al. Giardia duodenalis: Et komparativt studie mellem en in-house hurtigtest til brug i klinisk praksis og en reference laboratorietest. *Dansk Veterinærtidsskrift*. Published 2022. Accessed June 11, 2024. <https://dvt.ddd.dk/artikler/artikler/giardia-duodenalis-et-komparativt-studie-mellem-en-in-house-hurtigtest-til-brug-i-klinisk-praksis-og-en-reference-laboratorietest/>
51. tamaVet(R) Multi 2TD Test (Giardia, Cryptosporidium parvum) - Instructions for use. *tamaVet*. Published online 2019. Accessed June 12, 2024. https://www.simoco.dk/files/pdf/multi_2td_giardia_cryptosporidium_parvum.pdf
52. FASTest(R) Crypto-Giardia Strip - Instructions For Use. MEGACOR Diagnostik . Published 2023. Accessed June 12, 2024. <https://vetlabsupplies.co.uk/assets/FASTest-Crypto-Giardia-Instructions-For-Use.pdf>

53. Internal Comparison Study: FASTest(R) CRYPTO-GIARDIA Strip. MEGACOR Diagnostik. Published 2012. Accessed June 12, 2024.
<https://www.megacor.at/useruploads/files/fastestcryptogiardiastripcomparisonstudy.pdf>
54. Alhajj M, Zubair M, Farhana A. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *StatPearls [Internet] Treasure Island (FL): StatPeals Publishing Available from:*
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>. Published online April 23, 2023.
55. Uiterwijk M, Nijse R, Kooyman FNJ, et al. Comparing four diagnostic tests for *Giardia duodenalis* in dogs using latent class analysis. *Parasit Vectors*. 2018;11(1):439.
doi:10.1186/s13071-018-3014-2
56. Im K, Mareninov S, Diaz MFP, Yong WH. An Introduction to Performing Immunofluorescence Staining. In: *Methods in Molecular Biology*. Vol 1897. Humana Press Inc.; 2019:299-311. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_26
57. Donaldson JG. Immunofluorescence Staining. *Curr Protoc Cell Biol*. 1998;00(1).
doi:10.1002/0471143030.cb0403s00
58. Joshi S, Yu D. Immunofluorescence. In: *Basic Science Methods for Clinical Researchers*. Elsevier; 2017:135-150. doi:10.1016/B978-0-12-803077-6.00008-4
59. Saleh MN, Heptinstall JR, Johnson EM, et al. Comparison of diagnostic techniques for detection of *Giardia duodenalis* in dogs and cats. *J Vet Intern Med*. 2019;33(3):1272-1277.
doi:10.1111/jvim.15491
60. Geurden T, Berkvens D, Casaert S, Vercruysse J, Claerebout E. A Bayesian evaluation of three diagnostic assays for the detection of *Giardia duodenalis* in symptomatic and asymptomatic dogs. *Vet Parasitol*. 2008;157(1-2):14-20. doi:10.1016/j.vetpar.2008.07.002
61. Gotfred-Rasmussen H, Lund M, Enemark HL, Erlandsen M, Petersen E. Comparison of sensitivity and specificity of 4 methods for detection of *Giardia duodenalis* in feces: immunofluorescence and PCR are superior to microscopy of concentrated iodine-stained samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016;84(3):187-190.
doi:10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.005
62. Manser M, Granlund M, Edwards H, et al. Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in clinical laboratories in Europe-a comparative study. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20(1). doi:10.1111/1469-0691.12297
63. Rishniw M, Liotta J, Bellosa M, Bowman D, Simpson KW. Comparison of 4 *Giardia* Diagnostic Tests in Diagnosis of Naturally Acquired Canine Chronic Subclinical Giardiasis. *J Vet Intern Med*. 2010;24(2):293-297. doi:10.1111/j.1939-1676.2010.0475.x
64. Johnston SP, Ballard MM, Beach MJ, Causer L, Wilkins PP. Evaluation of Three Commercial Assays for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* Organisms in Fecal Specimens. *J Clin Microbiol*. 2003;41(2):623-626. doi:10.1128/JCM.41.2.623-626.2003
65. Rimhanen-Finne R, Enemark HL, Kolehmainen J, Toropainen P, Hänninen ML. Evaluation of immunofluorescence microscopy and enzyme-linked immunosorbent assay in detection of

Cryptosporidium and Giardia infections in asymptomatic dogs. *Vet Parasitol.* 2007;145(3-4):345-348. doi:10.1016/j.vetpar.2007.01.008

66. Giardia spp. *MedicinTilDyr*. Accessed June 11, 2024.
https://medicintildyr.dk/?category_ids=3887e74e-b017-4c4b-95b7-dbdabd166a75
67. Indikationer: Giardia spp. VETiSearch. Accessed June 11, 2024.
<https://vetisearch.dk/indications/461>
68. Picot S, Beugnet F, Leboucher G, Bienvenu AL. Drug resistant parasites and fungi from a one-health perspective: A global concern that needs transdisciplinary stewardship programs. *One Health.* 2022;14:100368. doi:10.1016/j.onehlt.2021.100368
69. Barr SC, Bowman DD, Heller RL. Efficacy of fenbendazole against giardiasis in dogs. *Am J Vet Res.* 1994;55(7):988-990. doi:10.2460/ajvr.1994.55.07.988
70. Kaufmann H, Zenner L, Benabed S, Poirel MT, Bourgoin G. Lack of efficacy of fenbendazole against Giardia duodenalis in a naturally infected population of dogs in France. *Parasite.* 2022;29. doi:10.1051/parasite/2022048
71. Wang X, Wang X, Cao J. Environmental Factors Associated with Cryptosporidium and Giardia. *Pathogens.* 2023;12(3):420. doi:10.3390/pathogens12030420
72. Addie DD, Boucraut-Baralon C, Egberink H, et al. Disinfectant choices in veterinary practices, shelters and households. *J Feline Med Surg.* 2015;17(7):594-605. doi:10.1177/1098612X15588450
73. Bajer A, Bednarska M, Rodo A. Risk factors and control of intestinal parasite infections in sled dogs in Poland. *Vet Parasitol.* 2011;175(3-4):343-350. doi:10.1016/j.vetpar.2010.10.029
74. Giardia Infection Prevention and Control. Centers for Disease Control and Prevention. Published 2024. Accessed June 11, 2024.
https://www.dmi.dk/fileadmin/user_upload/Afrapportering/Maanedssammendrag/Sammendrag_2024_april.pdf
75. About Giardia and Pets. Centers for Disease Control and Prevention. Published 2024. Accessed June 11, 2024. <https://www.cdc.gov/giardia/about/about-giardia-and-pets.html>
76. Raza A, Rand J, Qamar A, Jabbar A, Kopp S. Gastrointestinal Parasites in Shelter Dogs: Occurrence, Pathology, Treatment and Risk to Shelter Workers. *Animals.* 2018;8(7):108. doi:10.3390/ani8070108
77. Dixon BR. Giardia duodenalis in humans and animals – Transmission and disease. *Res Vet Sci.* 2021;135:283-289. doi:10.1016/j.rvsc.2020.09.034
78. Fiechter R, Deplazes P, Schnyder M. Control of Giardia infections with ronidazole and intensive hygiene management in a dog kennel. *Vet Parasitol.* 2012;187(1-2):93-98. doi:10.1016/j.vetpar.2011.12.023
79. Payne PA, Ridley RK, Dryden MW, Bathgate C, Milliken GA, Stewart PW. Efficacy of a combination febantel-praziquantel-pyrantel product, with or without vaccination with a

commercial Giardia vaccine, for treatment of dogs with naturally occurring giardiasis. *J Am Vet Med Assoc.* 2002;220(3):330-333. doi:10.2460/javma.2002.220.330

80. Saleh MN, Gilley AD, Byrnes MK, Zajac AM. Development and evaluation of a protocol for control of Giardia duodenalis in a colony of group-housed dogs at a veterinary medical college. *J Am Vet Med Assoc.* 2016;249(6):644-649. doi:10.2460/javma.249.6.644
81. Nielsen HK. *Forekomst Og Udbredelse Af Giardia Med Afsaet i Sammenligning Af to Forskellige Testmetoder.*; 2005.
82. Rubek F. Sammendrag af marts 2024. Danmarks Meteriologiske Institut. Published 2024. Accessed June 11, 2024.
https://www.dmi.dk/fileadmin/user_upload/Afrapportering/Maanedssammendrag/Sammendrag_2024_marts.pdf
83. Rubek F. Sammendrag af februar 2024. Danmarks Meterologiske Institut. Published 2024. Accessed June 11, 2024.
https://www.dmi.dk/fileadmin/user_upload/Afrapportering/Maanedssammendrag/Sammendrag_2024_februar.pdf
84. Rubek F. Sammendrag af april 2024. Danmarks Meterologiske Institut. Published 2024. Accessed June 11, 2024.
https://www.dmi.dk/fileadmin/user_upload/Afrapportering/Maanedssammendrag/Sammendrag_2024_april.pdf
85. Cellabs Product Profile: CRYPTO/GIARDIA CEL. Cellabs. Published 2016. Accessed June 12, 2024. <https://www.cellabs.com.au/files/PP-R2v7%20CryptoGiardia%20CEL.pdf>
86. Thorley JA, Pike J, Rappoport JZ. Super-resolution Microscopy. In: *Fluorescence Microscopy*. Elsevier; 2014:199-212. doi:10.1016/B978-0-12-409513-7.00014-2
87. Papini R, Marangi M, Mancianti F, Giangaspero A. Occurrence and cyst burden of Giardia duodenalis in dog faecal deposits from urban green areas: Implications for environmental contamination and related risks. *Prev Vet Med.* 2009;92(1-2):158-162. doi:10.1016/j.prevetmed.2009.07.003
88. Sykes TJ, Fox MT. Patterns of infection with Giardia in dogs in London. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1989;83(2):239-240. doi:10.1016/0035-9203(89)90660-3
89. Wang A, Ruch-Gallie R, Scorza V, Lin P, Lappin MR. Prevalence of Giardia and Cryptosporidium species in dog park attending dogs compared to non-dog park attending dogs in one region of Colorado. *Vet Parasitol.* 2012;184(2-4):335-340. doi:10.1016/j.vetpar.2011.08.019

Bilag 1

Samtykkeerklæring

Samtykke til deltagelse i specialeprojekt omhandlede Giardia hos hunde.

Jeg giver hermed samtykke til min deltagelse i specialeprojektet omhandlende Giardia. Projektet har til formål at undersøge udskillelsen af Giardia over tid hos hunde, der er testet positiv for parasitten. Ved at underskrive dette dokument, gives der samtykke til, at vi må opbevare persondata (navn og e-mail), og at vi senere må tage kontakt, hvis din hund tester positiv med henblik på videre deltagelse i projektet. Alle informationer vil blive behandlet og opbevaret fortroligt. Resultaterne er anonymiseret, så de ikke kan spores tilbage til dig som ejer.

Samtykke kan til enhver tid trækkes tilbage.

Navn

Dato og underskrift

Sarah Kildegaard og Anne-Sofie Sindesen

Studerende på Veterinærmedicin, Københavns Universitet

Bilag 2

Tilmelding til deltagelse i specialeprojekt om Giardia

Kontaktinformation

Når vi har lavet første test for Giardia af din hund, vil du blive kontaktet med resultatet på email. Hvis din hund tester positiv for Giardia, vil der medfølge information om, hvad det betyder for din hund, samt en vejledning i eventuel behandling og videre deltagelse i studiet.

Navn: _____

Mailadresse: _____

Telefonnummer: _____

Information om din hund

Navn: _____

Alder: _____

Race: _____

Køn (intakt/neutraliseret): _____

1. Er din hund tidligere diagnosticeret med Giardia? (sæt kryds)

- ☐ Ja
- ☐ Nej

Hvis ja, hvornår? _____

2. Har din hund modtaget behandling for parasitter indenfor de sidste 3 måneder? (sæt kryds)

- ☐ Ja
 - ☐ Mod flåter, lus og lopper
 - ☐ Ormekur i forbindelse med infektion med orm
 - ☐ Ormekur i forbindelse med anden anledning
 - ☐ Andet: _____
- ☐ Nej
- ☐ Ved ikke

3. Hvordan vil du beskrive udseendet af din hunds afføring? Brug skemaet (bilag 3) og sæt kryds ud for den mest korrekte type.

Type	1	2	3	4	5	6	7
Sæt kryds							

Bilag 3

 **Nestlé 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.		

Purina Fecal Score Chart. Scoringssystem til vurdering af fæceskonsistens. Indeholder scorerer fra 1 til 7, hvor 1 er meget hård og tør fæces, mens 7 er vandig diarré. Normal fæcesscore for en hund beskrives normalvis med score 2.

Bilag 4

Tabel over hundeejernes besvarelse af spørgeskemaet i bilag 2. Hver hund er blevet tildelt et unikt ID-nummer ved indlevering af fæcesprøver. Tabellen indeholder informationer om hver hunds alder, race, køn og neutralisationsstatus. Tre hundeejere har ikke oplyst neutralisationsstatus for deres hunde (#3, #53 og #71), hvorfor disse ikke fremgår af tabellen. Der indgår ligeledes oplysninger om tidligere infektion med *Giardia duodenalis* bekræftet hos egen dyrlæge, og dertil hundens alder ved bekræftet infektion. To af hundene (#77 og #98) er blevet diagnosticeret af to omgange, hvorfor to aldre er oplyst. Hundeejerne har yderligere svaret på, hvorvidt hundene har været behandlet med fenbendazol eller metronidazol indenfor de sidste 3 måneder inden deltagelse i studiet, samt hvilken fæcescore de hyppigst har observeret hos deres hund i perioden op til deltagelse i studiet.

ID #	Alder [mdr.]	Race	Køn [Han/Hun]	Neutraliseret [Ja/Nej]	Tidligere <i>G. duodenalis</i> Infektion [Ja/Nej]	Alder Ved Tidligere Infektion(er) [mdr.]	Behandling Med Fenbendazol Eller Metronidazol Indenfor De Sidste 3 mdr. [Ja/Nej/Ved ikke]	Hyppigste Fæcescore I Perioden Op Til Deltagelse I Projektet [1-7]
1	150	Gravhund (Ruhåret)	Han	Ja	Nej		Nej	2
2	78	Gravhund (Ruhåret)	Hun	Ja	Nej		Nej	2
3	144	Labrador Retriever	Hun		Nej		Nej	2
4	12	Blanding (Cocker Spaniel x Puddel)	Han	Nej	Nej		Nej	2
5	12	Blanding (Cocker Spaniel x Puddel)	Hun	Nej	Nej		Nej	3
6	15	Blanding (Labrador x Hønsehund)	Hun	Nej	Ja	3	Nej	2
7	120	Basset Hound	Hun	Ja	Nej		Nej	2
8	24	Labrador Retriever	Hun	Ja	Nej		Nej	3
9	115	Gravhund (Ruhåret)	Hun	Nej	Nej		Nej	2
10	78	Blanding	Han	Ja	Nej		Nej	2
11	27	Shih Tzu	Hun	Nej	Nej		Nej	2
12	92	Pomeranian	Han	Ja	Nej		Nej	2-3
13	132	Dvärgschnauzer	Han	Nej	Nej		Nej	2-3
14	42	Blanding (Malteser x Puddel)	Hun	Ja	Nej		Nej	2
15	36	Samojedhund	Han	Ja	Nej		Ved ikke	3
16	36	Bichon Havanais	Hun	Ja	Nej		Nej	2
17	108	Blanding (Labrador x Puddel)	Hun	Nej	Nej		Nej	2
18	42	Golden Retriever	Han	Nej	Ja	6	Nej	2
19	72	Blanding (Labrador)	Han	Ja	Nej		Nej	2
20	24	Golden Retriever	Han	Nej	Nej		Nej	3
21	18	Bearded Collie	Hun	Nej	Nej		Nej	3
22	54	Yorkshire Terrier	Hun	Ja	Ja	12	Nej	4
23	84	Yorkshire Terrier	Han	Ja	Ja	48	Nej	2
24	156	Yorkshire Terrier	Hun	Ja	Ja	120	Nej	1
25	12	Chihuahua	Hun	Nej	Nej		Nej	2

26	12	Storpuddel	Hun	Nej	Nej	Nej	2
27	24	Welsh Corgi Pembroke	Han	Nej	Nej	Nej	3
28	48	Blanding (Labrador)	Hun	Nej	Nej	Nej	2
29	144	Blanding (Pekingeser)	Han	Ja	Nej	Nej	3
30	48	Shih Tzu	Han	Ja	Nej	Nej	1
31	18	Bichon Havanais	Hun	Nej	Nej	Nej	2
32	108	Australian Shepard	Han	Ja	Nej	Nej	2
33	84	Australian Shepard	Hun	Nej	Nej	Nej	2
34	66	Blanding (Ruhåret Høsehund x Labrador)	Han	Ja	Nej	Nej	4
35	11	Whippet	Han	Nej	Ja	7	6
36	18	Blanding (Shiba Inu)	Hun	Nej	Nej	Nej	3
37	102	Golden Retriever	Hun	Nej	Nej	Nej	3
38	84	Schæfer	Hun	Ja	Nej	Nej	2
39	8	Cairn Terrier	Han	Nej	Nej	Nej	4-5
40	24	Australian Shepard	Han	Nej	Nej	Nej	2
41	96	Golden Retriever	Hun	Nej	Nej	Nej	2
42	120	Golden Retriever	Hun	Nej	Nej	Nej	2
43	24	Dværgpuddel	Hun	Nej	Nej	Nej	2
45	24	Storpuddel	Han	Nej	Ja	12	4
46	96	Blanding (Japansk Spids x Puddel)	Han	Nej	Nej	Nej	3
47	5	Hvid Schweizisk Hyrdehund	Han	Nej	Nej	Nej	4
48	24	Blanding (Cavalier x Puddel)	Hun	Nej	Nej	Nej	3
49	180	Australian Shepard	Hun	Nej	Ja	3	2
50	132	Australian Shepard	Hun	Nej	Ja	72	2
51	12	Labrador Retriever	Hun	Nej	Nej	Nej	2
52	84	Australian Shepard	Hun	Nej	Ja	36	3
53	96	Gravhund (Ruhåret)	Han		Nej	Nej	4
54	12	Gravhund (Ruhåret)	Hun	Nej	Nej	Nej	2
55	156	Gravhund (Ruhåret)	Hun	Ja	Nej	Nej	2
56	42	Gravhund (Ruhåret)	Hun	Ja	Nej	Nej	2
57	24	Gravhund (Ruhåret)	Hun	Nej	Nej	Nej	2
58	9	Dværgpuddel	Hun	Nej	Nej	Nej	2
59	132	Shetland Sheepdog	Hun	Nej	Nej*	Nej	4
60	84	Shetland Sheepdog	Han	Nej	Nej*	Nej	4
61	84	Shetland Sheepdog	Hun	Nej	Nej*	Nej	4
62	108	Shetland Sheepdog	Hun	Nej	Nej*	Nej	2
63	60	Shetland Sheepdog	Hun	Nej	Nej*	Nej	4
64	36	Shetland Sheepdog	Hun	Nej	Nej*	Nej	2
65	12	Shetland Sheepdog	Hun	Nej	Nej*	Nej	4
66	30	Dværgpuddel	Hun	Nej	Nej	Nej	2
67	48	Border Collie	Han	Nej	Nej	Nej	3
68	24	Border Collie	Han	Nej	Nej	Nej	3
69	96	Border Collie	Han	Nej	Nej	Nej	3
70	132	Papillon	Hun	Ja	Nej	Nej	2

71	12	FT Cocker Spaniel	Hun		Nej		Nej	5
72	12	Blanding (Retriever x Puddel)	Hun	Nej	Nej		Nej	3
73	24	Bichon Havanais	Hun	Ja	Nej		Nej	2
74	18	Fransk Bulldog	Hun	Nej	Nej		Nej	3
75	34	Dansk Spids	Han	Nej	Nej		Nej	2
76	61	Australian Shepherd	Hun	Nej	Ja	12	Nej	2
77	137	Australian Shepherd	Hun	Ja	Ja	12 + 96	Nej	2
79	6	Shiba Inu	Han	Nej	Nej		Nej	5
80	30	Blanding (Golden Retriever x Puddel)	Han	Nej	Nej		Nej	2
81	29	Blanding	Han	Ja	Nej		Nej	3
82	106	Border Collie	Han	Nej	Ja	72	Nej	2
83	28	Labrador Retriever	Han	Nej	Nej		Nej	4
84	22	Engelsk Cocker Spaniel	Hun	Ja	Nej		Nej	2
85	10	FT Cocker Spaniel	Han	Nej	Nej		Nej	5
86	36	FT Springer Spaniel	Hun	Ja	Nej		Nej	3
87	96	Labrador Retriever	Han	Ja	Nej		Nej	2-3
88	60	Shih Tzu	Han	Nej	Ja	12	Nej	5
89	36	Puddel	Han	Nej	Nej		Nej	3
91	60	Alaskan Malamute	Hun	Ja	Nej		Nej	2
93	72	Alaskan Husky	Hun	Ja	Nej		Nej	2
94	137	Australian Shepherd	Han	Ja	Nej		Nej	3
95	44	Australian Shepherd	Hun	Ja	Nej		Nej	2
97	11	Blanding	Han	Nej	Nej		Nej	4
98	8	Engelsk Cocker Spaniel	Han	Nej	Ja	3 + 6	Nej	2
99	48	Blanding (Labrador x Cocker Spaniel)	Han	Ja	Nej		Nej	3
100	120	Blanding	Han	Ja	Nej		Nej	2
101	72	Australian Shepherd	Han	Nej	Ja	12	Nej	3
102	108	Boston Terrier	Hun	Nej	Nej		Nej	4
103	36	FT Cocker Spaniel	Hun	Nej	Nej		Nej	5
104	12	Golden Retriever	Han	Ja	Ja	5	Nej	2
105	132	Boston Terrier	Hun	Nej	Nej		Nej	3

**Hunde fra samme husstand, hvor der blev bekræftet G. duodenalis hos en anden hund i husstanden i marts 2023. De seks hunde, der deltog i studiet, blev behandlet for infektion i marts 2023, men ikke diagnosticeret af egen dyrlæge.*

Bilag 5

Kære [Ejers navn].

Vi kontakter dig som led i din deltagelse i vores forskningsprojekt omhandlende Giardia hos hunde. Vi har nu analyseret [Hundens navn]s afføring og kan glædeligvis informere dig om, at der ikke er fundet tegn på infektion med Giardia. Du behøver derfor ikke foretage dig yderligere. Har du spørgsmål, er du meget velkommen til at kontakte os på følgende e-mails:

[Redacted email address]

[Redacted email address]

Vi er meget taknemmelige for din deltagelse i studiet.

Mange hilsner

Anne-Sofie og Sarah,

Studerende på Veterinærmedicin, Københavns Universitet.

Projektet er udført i samarbejde med følgende vejleder

Helena Mejer

(seniorrådgiver ved sektion for parasitologi og akvatisk patobiologi ved Københavns Universitet)



Bilag 6

Kære [Ejers navn].

Vi har nu undersøgt afføringsprøven fra din hund [Hundens navn] og vi har fundet, at den er positiv for Giardia.

Hvad har dette af betydning for din hund?

Tilstedeværelse af Giardia i tarmen behøver ikke have konsekvenser for din hunds sundhed og livskvalitet. Rigtig mange hunde er såkaldte ”raske smittebærere”, som har Giardia i tarmsystemet uden at vise symptomer på sygdom. Hvis din hund har symptomer som diarré, mistriksel eller vægttab, eller du blot ønsker en snak om Giardia-infektion hos hunde, anbefaler vi dog, at du tager kontakt til din egen dyrlæge. Der findes flere undertyper af Giardia, og én undertype kan smitte mellem mennesker og hunde. Langt de fleste hunde har dog normalt den undertype, som kun smitter imellem hunde.

Videre deltagelse i projektet

Da formålet med vores projekt er at undersøge udskillelsen af Giardia over tid, håber vi meget, at du vil fortsætte din deltagelse i projektet. Din deltagelse vil bidrage til, at man i fremtiden bedre kan rådgive omkring forebyggelse og behandling af parasitten.

Fortsat deltagelse i projektet vil indebære, at du indsamler:

- 1 afføringsprøve om dagen i 3 på hinanden følgende dage. Dette gøres 1 gang om ugen i 4-6 uger.
- 3 afføringsprøver om ugen giver det mest præcise resultat, men, hvis du ikke har mulighed for at opsamle og opbevare 3 afføringsprøver ugentligt, kan du nøjes med at opsamle en enkelt afføringsprøve om ugen.

Hvis du fortsat ønsker at deltage i projektet, må du meget gerne kontakte én af os på mail (angivet i slutningen af dokumentet), så vi kan lave en aftale omkring afhentning af afføringsprøverne.

Ønske om behandling

Hvis du ønsker en dialog omkring behandling, kan du medbringe dette dokument til din dyrlæge som dokumentation for vores analyse af afføringsprøverne og fund af Giardia.

Diagnosen er baseret på:

- 3 afføringsprøver opsamlet på 3 på hinanden følgende dage er indledningsvist testet med FASTest (striptest for Giardia og Cryptosporidium) med positivt udslag.
- Afføringen er efterfølgende mikroskoperet efter farvning med fluorescerende antistoffer, der specifikt binder sig til Giardia cyster.

I tilfælde af, at du ønsker at indlede en behandling af din hund, vil dette ikke have nogen betydning for din deltagelse i projektet. Vi ønsker derfor fortsat afføring fra din hund. Det vil give os muligheden for at følge op på, om behandlingen er effektiv. Det er nemlig meget almindeligt, at det er nødvendigt med flere behandlinger for at få infektionen under kontrol.

Kontakt

Skulle du eller din dyrlæge have spørgsmål omkring projektet og vores fund, kan vi kontaktes på følgende e-mails:

[Redacted]
[Redacted]

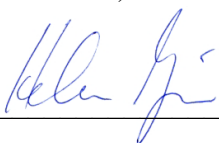
Mange hilsner

Anne-Sofie og Sarah,

Studerende på Veterinærmedicin, Københavns Universitet.

Projektet er udført i samarbejde med følgende vejleder

Helena Mejer (*seniorrådgiver ved sektion for parasitologi og akvatisk patobiologi ved Københavns Universitet*)



Bilag 7

Hunde søges til specialeprojekt om Giardia

Hvem er vi?

Vi er to dyrlægestuderende, Sarah og Anne-Sofie, fra Københavns Universitet. Vi er i øjeblikket i gang med vores afsluttende specialeprojekt, som omhandler tarmparasitten Giardia hos hunde. I den forbindelse har vi brug for din (og din hunds) hjælp 😊

Hvad er Giardia?

Giardia er en almindeligt forekommende tarmparasit hos danske hunde og studier viser, at ca. 15-20% af danske hunde er inficerede. Særligt unge hunde og hunde med svækket immunsystem kan blive ramt med symptomer som diarré, mistriksel, manglende tilvækst og vægttab. Det er dog ikke alle inficerede hunde, der udvikler symptomer. Disse hunde kaldes "raske smittebærere", og de kan bringe smitten videre til andre hunde uden selv at være syge.

Hvad går projektet ud på?

Projektets formål er at undersøge Giardia-inficerede hundes udskillelse af Giardia i afføringen. Vi håber at dette projekt kan bidrage til forståelsen af parasittens smitemønster således, at man i fremtiden bedre kan rådgive om forebyggelse og behandling. Da Giardia også kan smitte mennesker, vil vores viden desuden bidrage til en kortlægning af smitterisikoen mellem mennesker og hunde.

Hvad kræver det af dig?

Projektet er inddelt i to dele. I den første del foretager vi en test af din hunds afføring, for at se om den er smittebærer af Giardia. Her har vi brug for 1 afføringsprøve om dagen i 3 på hinanden følgende dage. Prøverne må gerne opsamles med ca. 24 timers mellemrum. For at holde styr på prøverne, må de 3 hundeposer gerne afleveres samlet i én fælles hundepose.

Derfra er der to muligheder:

- Din hund tester negativ: Du vil få besked om dette, og projektet vil være afsluttet for dig.
- Din hund tester positiv: Du vil få besked om dette samt information om, hvordan du skal forholde dig. Herefter skal du aflevere 1-3 afføringsprøve(r) 1 gang om ugen i 4-6 uger.

Prøverne skal opbevares køligt (eksempelvis udendørs eller i køleskab), men må ikke få frost.

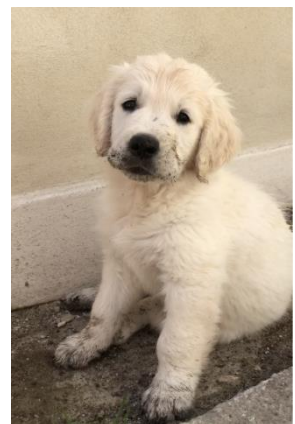
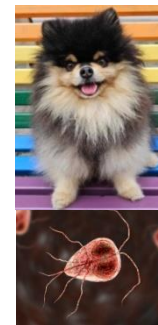
I forbindelse med tilmelding til projektet, laver vi en indbyrdes aftale om afhentning af afføringsprøverne, som både passer dig og os. Du vil i forbindelse med tilmelding til projektet ligeledes skulle udfylde et kort spørgeskema omkring din hund. Deltagelse i projektet er anonymt.

Vi håber meget, at du har lyst til at hjælpe os med at hjælpe hundene! 😊

De bedste hilsener,

Sarah Kildegaard og Anne-Sofie Sindesen
Studerende på Veterinærmedicin, Københavns Universitet

Kontakt:



Bilag 8

Method for isolation and staining of *Giardia* and *Cryptosporidium* in faecal samples

Materials:

15 ml centrifuge tubes (two per sample)

50 ml centrifuge tubes (one per sample)

Milli Q water

0.01 % Tween 20 (10 µl Tween 20 and 99.9 ml MQ water)

Course gauze (17x17 thread/inch, approx. 9 x 9 cm, but precise size not important)

Flotation fluid (saturated NaCl with glucose, density 1.27) mixed with Milli Q water 1:1

3 ml disposable pipette

Long Pasteur pipette

Wooden spatula

Teflon printed slides, 3 wells

Acetone (pure)

Preparation of slides:

1. 1 g faeces is weighed in a 15 ml centrifuge tube (tube 1).
2. 3.5 ml 0,01% Tween 20 is added.
3. Vortex tube 1 until the sample is dissolved.
4. Pour the sample in tube 1 into a 50 ml centrifuge tube (tube 2) through a single layer of gauze.
5. Add 3.5 ml 0.01% Tween 20 to tube 1 and vortex until the tubes is 'clean'.
6. Pour the contents from tube 1 to tube 2 through the gauze, squeeze the gauze gently, to release remaining liquid if needed while trying to not also release to many faecal particles.
7. Shake tube 2 to mix the contents.
8. A long Pasteur pipette is placed in tube 2 so that the tip rests at the bottom of the tube. Carefully release 3.5 ml flotation fluid into the top opening of the Pasteur pipette using a Finn pipette. This should settle the flotation fluid in a distinct layer underneath the faecal sample. It may be necessary to lift the Pasteur pipette slightly to allow the flotation fluid to flow out of the Pasteur pipette.
9. Centrifuge the tube at 53 x g for 3 min (acceleration 4; deceleration 1 (slow brake)).

10. There should now be 3 layers in the tube, though they may be difficult to see. The top layer is transferred to a new 15 ml tube (tube 3) using a 3 ml disposable pipette.
11. Add Milli Q water up to 15 ml.
12. Centrifuge 1540 x g for 10 min (acceleration 4; deceleration 4).
13. Remove the supernatant gently until 2 ml is left in the tube.
14. Vortex thoroughly.
15. Add Milli Q water up to 15 ml and shake the tube.
16. Centrifuge 1540 x g for 10 min (acceleration 4; deceleration 4).
17. Remove the supernatant gently until 2 ml is left in the tube.
18. The remaining pellet is mixed well with a 3 ml disposable pipette.
19. Add 50 µl Milli Q water to a well on a Teflon printed slide (one per well per sample).
20. Transfer 10 µl of the sample in tube 3 to the well, mix the sample lightly with the Milli Q water.
21. Place the slide in a dark and dry place (eg. cupboard) until the next day (it can also be placed in an incubator at 37° C for approx. one hour or until completely dry).

The rest of the sample is stored in fridge until the slides had been read. Positive samples can be frozen at -20° C in 2 ml cryotubes for PCR at a later stage.

Staining and counting:

22. Stabilize the sample by adding 1-2 drops acetone to the well.
23. Let the slides dry at room temperature (when it is completely dry it can be stored for max 3-4 weeks before staining).
24. Stain the sample with FITC according to the kit instructions (FITC stain and mounting buffer needs to have room temperature before use) by adding 20 µl FITC stain so that the entire well is covered. A positive control sample from the kit can also be included for reference.
25. The slide is placed on two wooden sticks that is resting on a damp paper towel in a petri dish. The lid is placed on the dish which is incubated at 37°C for 45 min.
26. Tilt the slide slightly and gently remove excess stain from the edge of the well using a Finn pipette. Add a couple of drops of Milli Q water to cover the entire well and remove the liquid as before. Add Milli Q water once more and remove as before.
27. Quickly add 10 µl mounting buffer before the well dries.
28. Add a cover slip while trying to avoid trapping air bubbles beneath it.
29. Examine the slide. If this is not done within 30 min seal the cover slip with nail varnish and store for up to 24 h in the dark at 2-8°C.
30. Select the FITC filter (filter 3) at the top of the microscope.
31. Turn on the lamp (box to the left of the microscope) and ensure that the 'shutter' (to the right of the filter selection panel) is set to 'O' (and not '●'). Do not turn on the microscope! This should now emit a blue light.
32. Place the slide in the microscope. Giardia and Cryptosporidium will appear bright green. It is preferable to sit in a darkened or only semi lit laboratory.

Bilag 9

Oversigt over udførte tests og resultater. Hver hund blev tildelt et unikt ID-nummer ved indlevering af fæcesprøver. Indledningsvist er der udført test for Giardia duodenalis med FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip og i nogle tilfælde tamaVet® Multi 2TD Test. Hunde, som var positive på én eller begge hurtigtests, blev testet med direkte immunofluorescens antistof test (IFAT). Tomme felter indikerer, at testen ikke er udført på den pågældende hunds fæcesprøver. Datoerne er henholdsvis dato for indlevering af fæcesprøver og dato for den sidst udførte test.

ID #	Fæcesprøver Modtaget [dd-mm-åååå]	Fæcesprøver Aflæst [dd-mm-åååå]	FASTest® CRYPTO-GIARDIA Strip	tamaVet® Multi 2TD Test	Direkte Immunofluorescens Antistof Test (IFAT)
1	21-02-2024	22-02-2024	Negativ		
2	21-02-2024	22-02-2024	Negativ		
3	21-02-2024	22-02-2024	Negativ		
4	21-02-2024	29-02-2024	Positiv	Positiv	Positiv
5	21-02-2024	27-02-2024	Positiv		Positiv
6	05-03-2024	06-03-2024	Negativ		
7	03-03-2024	06-03-2024	Negativ		
8	03-03-2024	06-03-2024	Negativ		
9	05-03-2024	06-03-2024	Negativ		
10	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Negativ	
11	17-02-2024	19-02-2024	Negativ		
12	17-02-2024	19-02-2024	Negativ		
13	19-02-2024	19-02-2024	Negativ		
14	17-02-2024	19-02-2024	Negativ		
15	19-02-2024	21-02-2024	Negativ	Negativ	
16	20-02-2024	20-02-2024	Negativ	Negativ	
17	18-02-2024	19-02-2024	Negativ		
18	18-02-2024	19-02-2024	Negativ	Negativ	

19	18-02-2024	19-02-2024	Negativ		
20	19-02-2024	21-02-2024	Positiv	Positiv	Positiv
21	22-02-2024	22-02-2024	Negativ	Negativ	
22	22-02-2024	27-02-2024	Negativ	Positiv	Negativ
23	22-02-2024	22-02-2024	Negativ	Negativ	
24	22-02-2024	22-02-2024	Negativ	Negativ	
25	22-02-2024	27-02-2024	Negativ	Positiv	Positiv
26	23-02-2024	23-02-2024	Negativ		
27	23-02-2024	23-02-2024	Negativ		
28	21-02-2024	22-02-2024	Negativ		
29	21-02-2024	22-02-2024	Negativ		
30	21-02-2024	22-02-2024	Negativ		
31	21-02-2024	22-02-2024	Negativ	Negativ	
32	21-02-2024	23-02-2024	Negativ		
33	22-02-2024	23-02-2024	Negativ		
34	20-02-2024	20-02-2024	Negativ	Negativ	
35	06-02-2024	07-02-2024	Positiv		Positiv
36	23-02-2024	23-02-2024	Negativ		
37	23-02-2024	26-02-2024	Negativ		
38	24-02-2024	26-02-2024	Negativ		
39	26-02-2024	29-02-2024	Positiv	Negativ	Positiv
40	22-02-2024	27-02-2024	Positiv		Positiv
41	24-02-2024	27-02-2024	Negativ		
42	27-02-2024	27-02-2024	Negativ		
43	27-02-2024	27-02-2024	Negativ		
45	27-02-2024	27-02-2024	Negativ		
46	27-02-2024	27-02-2024	Negativ		
47	07-03-2024	07-03-2024	Negativ		
48	08-03-2024	08-03-2024	Negativ		
49	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ

50	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
51	26-02-2024	26-02-2024	Negativ		
52	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Negativ	
53	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Negativ	
54	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
55	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
56	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
57	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
58	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
59	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
60	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Negativ	
61	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
62	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
63	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
64	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
65	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
66	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Negativ	
67	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
68	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
69	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
70	10-03-2024	11-03-2024	Negativ		
71	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Negativ	
72	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
73	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Negativ	
74	17-03-2024	18-03-2024	Negativ	Positiv	Inkonklusiv
75	17-03-2024	18-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
76	17-03-2024	18-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
77	17-03-2024	18-03-2024	Negativ	Positiv	Negativ
79	08-03-2024	12-03-2024	Positiv		Positiv
80	08-03-2024	08-03-2024	Negativ		

81	08-03-2024	08-03-2024	Negativ		
82	08-03-2024	08-03-2024	Negativ		
83	09-03-2024	09-03-2024	Negativ		
84	08-03-2024	08-03-2024	Negativ		
85	08-03-2024	08-03-2024	Negativ		
86	08-03-2024	08-03-2024	Negativ		
87	10-03-2024	11-03-2024	Negativ	Negativ	
88	11-03-2024	12-02-2024	Negativ		
89	11-03-2024	12-02-2024	Negativ	Negativ	
91	16-03-2024	18-03-2024	Negativ	Negativ	
93	16-03-2024	18-03-2024	Negativ	Negativ	
94	16-03-2024	18-03-2024	Negativ	Negativ	
95	16-03-2024	18-03-2024	Negativ	Negativ	
97	12-03-2024	12-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
98	11-03-2024	12-03-2024	Negativ	Negativ	
99	11-03-2024	12-03-2024	Negativ	Negativ	
100	11-03-2024	12-03-2024	Negativ	Negativ	
101	11-03-2024	12-03-2024	Negativ	Negativ	
102	10-03-2024	11-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
103	10-03-2024	11-03-2024	Negativ		
104	14-03-2024	14-03-2024	Positiv	Positiv	Positiv
105	17-03-2024	18-03-2024	Negativ	Negativ	

Bilag 10

Oversigt over antal cyster per gram fæces (CPG) for hver indleveret fæcesprøve for studiets 19 Giardia duodenalis inficerede hunde.

Rækkefølgen af de tre fæcesprøver er tilfældig for alle på nær seks hunde (#59, #61, #62, #63, #64 og #65), hvor de optræder i rækkefølge efter opsamlingsdag. Tomme felter indikerer, at der er indleveret færre end tre fæcesprøver den pågældende uge. Tabellen indeholder yderligere en gennemsnitlig fæcescore for ugens fæcesprøver, vurderet af projektets forfattere efter "Purina Fecal Score Chart" (bilag 3).

Datoerne er henholdsvis dato for indlevering af ugens fæcesprøver, samt dato for fremstilling af præparatet til direkte immunofluorescens antistof test (IFAT) inden mikroskopering.

ID #	Uge	Fæcesprøver Modtaget [dd-mm-åååå]	Fæcesprøver Aflæst [dd-mm-åååå]	Fæcesprøve 1 [CPG]	Fæcesprøve 2 [CPG]	Fæcesprøve 3 [CPG]	Gennemsnitlig Fæcescore For Ugens Fæcesprøver [1-7]
4							
	1	21-02-2024	29-02-2024	82400	246400	24800	2
	2	01-03-2024	06-03-2024	0	0	2200	2
	3	05-03-2024	06-03-2024	0	0	0	1
	4	12-03-2024	15-03-2024	124000	222000	88000	3
	5	20-03-2024	21-03-2024	27000	99800	64800	2
5							
	1	21-02-2024	27-02-2024	2000	9000	8400	3
	2	28-02-2024	29-02-2024	2600	400	400	3
	3	05-03-2024	06-03-2024	0	0	0	3
	4	12-03-2024	15-03-2024	6400	6000	19000	4
	5	20-03-2024	21-03-2024	1000	3200	200	2

20						
	1	19-02-2024	21-02-2024	2600	1800	3800
	2	28-02-2024	29-02-2024	0	0	0
	3	06-03-2024	06-03-2024	800	0	
	4	13-03-2024	15-03-2024	0	0	0
	5	22-03-2024	02-04-2024	29600	21600	7600
25						
	1	22-02-2024	27-02-2024	2000	200	5600
	2	01-03-2024	06-03-2024	0	200	1600
	3	08-03-2024	12-03-2024	0	0	0
	4	15-03-2024	15-03-2024	0	0	0
	5	21-03-2024	02-04-2024	0	0	0
35						
	1	06-02-2024	07-02-2024	2200	3200	14800
	2	13-02-2024	15-02-2024	3600	4800	5800
	3	20-02-2024	21-02-2024	2600	4600	4800
	4	12-03-2024	15-03-2024	174800	13800	147600
	5	12-03-2024	15-03-2024	47000	3800	17000
39						
	1	26-02-2024	29-02-2024	200	2000	2000
	2	04-03-2024	06-03-2024	2200	600	600
	3	11-03-2024	15-03-2024	0	0	
	4	19-03-2024	21-03-2024	0	0	0
	5	22-03-2024	02-04-2024	0	0	0

40							
	1	22-02-2024	27-02-2024	1400	2800	200	2
	2	28-02-2024	29-02-2024	0	0	0	2
	3	05-03-2024	06-03-2024	0	0	0	3
	4	18-03-2024	21-03-2024	0	0	0	2
	5	22-03-2024	02-04-2024	0	0	0	3
50							
	1	10-03-2024	12-03-2024	13800	1800	9400	3
	2	17-03-2024	21-03-2024	0	0	0	3
	3	24-03-2024	02-04-2024	0	0	0	3
	4	01-04-2024	04-04-2024	0	0	0	3
	5	07-04-2024	17-04-2024	0	0	0	2
59							
	1	10-03-2024	12-03-2024	28200	19600		4
	2	16-03-2024	19-03-2024	400	44200	400	5
	3	22-03-2024	02-04-2024	0	0	0	4
	4	31-03-2024	04-04-2024	0	0	200	4
	5	07-04-2024	17-04-2024	0	1800		4
61							
	1	10-03-2024	12-03-2024	2400	4400	5400	4
	2	16-03-2024	19-03-2024	127600	80600	60000	3
	3	22-03-2024	02-04-2024	184600	298800	18600	2
	4	31-03-2024	04-04-2024	36000	132800	136400	3
	5	07-04-2024	17-04-2024	8800	0	0	3

62						
1	10-03-2024	12-03-2024	92000	30200	148400	2
2	16-03-2024	19-03-2024	9000	102000		3
3	22-03-2024	02-04-2024	800	0		2
4	31-03-2024	04-04-2024	0	0	0	2
5	07-04-2024	17-04-2024	0	0		2
63						
1	10-03-2024	12-03-2024	11600	4200	1000	4
2	16-03-2024	19-03-2024	0	0	0	2
3	22-03-2024	02-04-2024	0	0	0	3
4	31-03-2024	04-04-2024	29200	18000	17200	2
5	07-04-2024	17-04-2024	142200	0	0	3
64						
1	10-03-2024	12-03-2024	1000	6800		2
2	16-03-2024	19-03-2024	0	200	0	3
3	22-03-2024	02-04-2024	200	0	0	2
4	31-03-2024	04-04-2024	21000	1000	200	2
5	07-04-2024	17-04-2024	0	0	0	3
65						
1	10-03-2024	12-03-2024	1200	200	800	4
2	16-03-2024	19-03-2024	2800	9400	6600	2
3	22-03-2024	02-04-2024	35600	27800	4400	2
4	31-03-2024	04-04-2024	0	0	0	2
5	07-04-2024	17-04-2024	0	0	0	2

72						
1	10-03-2024	12-03-2024	8600	4600	27800	3
2	17-03-2024	19-03-2024	16400	39000	6400	3
3	24-03-2024	02-04-2024	8000	11000	3400	2
4	01-04-2024	04-04-2024	6000	2200	5400	2
5	07-04-2024	17-04-2024	17200	14800	6200	4
79						
1	08-03-2024	12-03-2024	8200	400	4000	5
2	17-03-2024	19-03-2024	1000			2
3	22-03-2024	04-04-2024	0	0	0	2
4	06-04-2024	17-04-2024	0			3
5	06-04-2024	17-04-2024	52800	1800	29800	3
97						
1	11-03-2024	15-03-2024	21600	7600	58000	5
2	18-03-2024	21-03-2024	77000	73000	26200	2
3	22-03-2024	02-04-2024	354600	144600	143800	3
4	02-04-2024	04-04-2024	34600	142800	1600	4
5	09-04-2024	17-04-2024	39800	3400	46200	4
102						
1	10-03-2024	12-03-2024	800	0	0	4
2	17-03-2024	19-03-2024	0	0	0	4
3	24-03-2024	02-04-2024	0	0	0	2
4	01-04-2024	04-04-2024	0	0	0	2
5	07-04-2024	17-04-2024	0	0	0	2

104						
1	14-03-2024	15-03-2024	6000	2400	24800	4
2	22-03-2024	02-04-2024	400	400	2400	3
3	04-04-2024	04-04-2024	1200	4000	1600	3
4	09-04-2024	17-04-2024	2200	400	1200	3
5	17-04-2024	17-04-2024	200	600		2

Bilag 11

Oversigt over behandlinger af 12 af studiets *Giardia duodenalis* inficerede hunde, som blev opstartet i løbet af studieperioden på fem uger. De øvrige syv hunde i studiet modtog ikke behandling. Indeholder informationer om dato for opstart af behandling, præparatnavn inkl. aktivt stof, samt varighed af behandlingen. Tre hunde (#25, #50 og #59) modtog behandling af to omgange.

ID #	Dato For Opstart Af Behandling [dd-mm-åååå]	Præparatnavn (Aktivt Stof)	Varighed Af Behandling [dage]
20	03-03-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3
25	28-02-2024	Panacur® PetPaste (Fenbendazol)	7
	20-03-2024	Panacur® PetPaste (Fenbendazol)	7
35	06-02-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3
39	07-03-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	5
40	17-03-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3
50	14-03-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	5
	29-03-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	5
59	15-02-2024	Metrobactin® Vet. (Metronidazol)	7
	02-04-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3
61	02-04-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3
62	02-04-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3
63	04-04-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3
64	02-04-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3
65	02-04-2024	Panacur® Vet. (Fenbendazol)	3