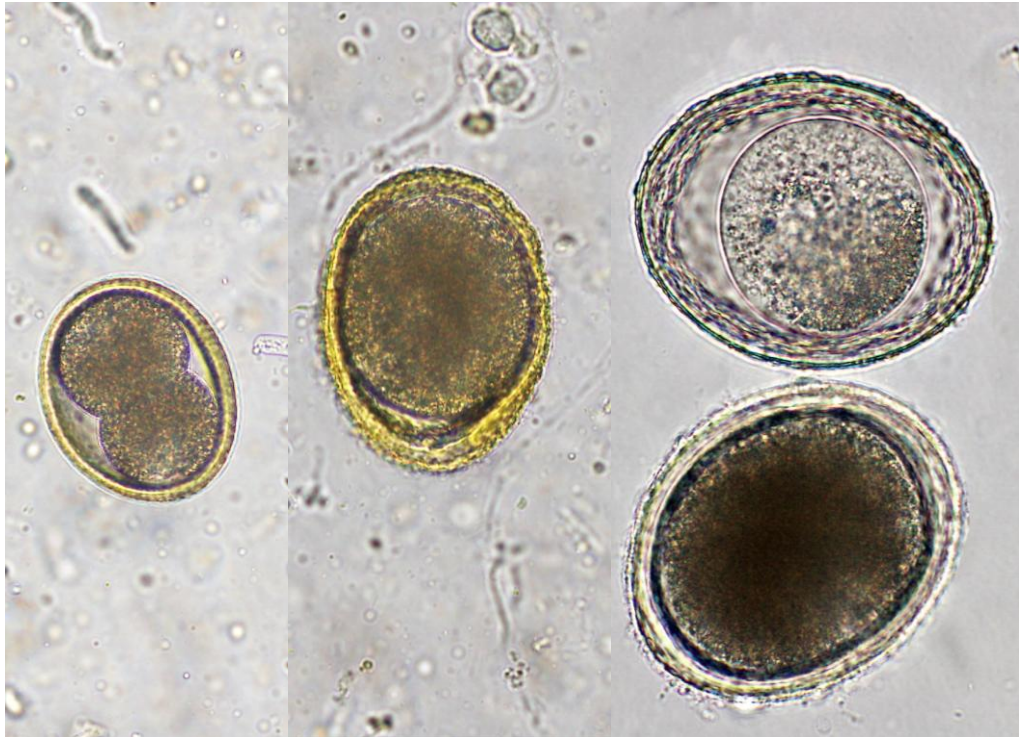


Toxocara canis uitscheiding bij de hond

Een blik op het huidige ontwormbeleid in Nederland



Drs. A.M.F.Poetoeheena
Studentnr: 0461784
Juni – September 2011

Begeleider:
E.R. Nijse
Departement Infectieziekten & Immunologie – Klinische Infectiologie
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht.

***Toxocara canis* uitscheiding bij de hond:** Een blik op het huidige ontwormbeleid in Nederland
Drs. A.M.F. Poetohena

Disclaimer

Dit is een goedgekeurd studentenverslag waar de daadwerkelijke becijfering van ontbreekt. Dit verslag kan echter niet als wetenschappelijk document gebruikt worden.

Gebruik van informatie uit dit verslag is op eigen risico.

Samenvatting

Toxocara canis is de meest voorkomende rondworm bij de hond in Nederland. Vanwege het zoönotische risico is er een ontwormingsbeleid voor alle honden opgesteld.

Het huidige ontwormingsbeleid in Nederland gaat uit van 4x per jaar blind ontwormen van de volwassen hond. Dit zou vooral bijdragen aan de vermindering van uitscheiding van eieren van *Toxocara canis*. Hiermee zou het risico op humane toxocariosis verlaagd moeten worden. Uit dit onderzoek komt naar voren dat 2.08% ($P >> 0.05$) van de deelnemende honden ($n=130$) uitscheider is van *Toxocara canis*. 79.23% van alle deelnemende honden was negatief op alle onderzochte parasieten, *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis*, *Cystoisospora* spp., *Capillaria* spp., en *Strongylus* type. Deze honden zouden met het huidige ontwormbeleid onnodig blind ontwormd worden.

De grootste groep eigenaren ontwormt 2x per jaar, maar we zien in dit onderzoek dat er ook een grote groep eigenaren hun hond 4 x per jaar ontwormt. Het ESCCAP advies wordt door steeds meer dierenartsen en farmaceuten overgedragen.

Verder komt naar voren dat er onduidelijkheid is over de reden van ontwormen. 68% van de deelnemende eigenaren geeft aan te ontwormen vanwege de gezondheid van de hond. 76% van de eigenaren haalt de ontwormmiddelen wel bij de eigen dierenarts. Er mist een stuk voorlichting, wat de taak van de dierenarts zou kunnen zijn.

De resultaten van dit onderzoek zijn vanwege het geringe aantal deelnemers niet significant en we spreken over de bevindingen uit dit onderzoek van een waargenomen trend. Verder onderzoek is nodig om een duidelijker zicht op het nut van het huidige ontworm beleid te krijgen.

Inhoud

Samenvatting	3
Inhoud	4
Inleiding	5
• <i>Toxocara canis</i> Levenscyclus	5
○ Orale infectie	5
○ Eerste migratie route	5
○ Lever-long-trachea-oesophagus route	5
○ Somatische migratie	5
○ Prenatale infectie	6
○ Lactogene infectie	7
• Leeftijdsresistentie	7
• Geslachtsafhankelijke patente infectie	7
• Patente infecties bij volwassen honden	7
• Humane toxocariose	8
• Behandeling en preventie	9
Doel van het onderzoek	10
Materiaal en methoden	10
• Deelnemers	10
• Feces inzamelen	10
• Feces onderzoek	11
• Enquête	11
• Verwerken resultaten	11
Resultaten	12
Discussie	17
Conclusie	22
Epiloog	22
Literatuurlijst	23
Bijlage 1: Folder	25
Bijlage 2: Poster	26
Bijlage 3: Brief aan eigenaar	27
Bijlage 4: Laboratorium protocollen	30
Bijlage 5: Statistiek	31

Inleiding

In Nederland is *Toxocara canis* (*T. canis*) de meest voorkomende gastro-intestinale nematode bij de hond. 4.4% van de honden blijkt tijdens een cross section fecale uitscheider van *T. canis* te zijn¹. Dit betekent dat 95.6% van alle honden op dat tijdstip geen aantoonbare patente infectie met *T. canis* doormaken.

Het huidige beleid is om alle honden 4x per jaar blind te ontwormen vanwege het zoonotische risico van deze parasiet²⁶. Dit zou betekenen dat we 95.6% van alle honden in Nederland onnodig met anthelmintica zouden behandelen.

In een tijd waarbij het blind ontwormen van paarden en landbouwhuisdieren streng gecontroleerd wordt in Nederland, zorgt deze benadering van ontwormen bij honden en katten voor de nodige vragen.

- *Toxocara canis* Levenscyclus

Om een duidelijk beeld van deze complexe nematode te krijgen is het noodzakelijk om de cyclus te begrijpen. Hieronder zal de cyclus van *T. canis* verder uitgewerkt worden. Hierbij wordt een onderscheid gemaakt tussen de worminfectie bij pups en volwassen dieren.

Orale infectie:

Eieren van *T. canis* zijn ongeëmbryoneerd wanneer ze uitgescheiden worden in de feces. Onder ideale omstandigheden ontwikkelt zich in de eieren binnen 9-15 dagen het infectieuze larvale stadium L3. Echter afhankelijk van o.a. klimaat grond en vochtigheid kan dit weken tot maanden duren. De L3 kan enkele jaren levensvatbaar blijven in het ei^{5,6,20}.

Eerste migratie route:

Na opname van infectieuze eieren komen deze in de darm terecht. Na 2-4 uur komen deze uit. De vrijgekomen L3 penetreren de darmmucosa en invaderen de lymfevaten om uiteindelijk de mesenteriale lymfeknopen te bereiken. Via de veneuze vaten en portale venen komen de L3 in de lever. Hier loopt een deel vast in de capillairen. Door inkapseling vertoont de lever een wit gespikkeld aspect bij sectie⁵.

De overige larven verlaten de lever via de vena cava caudalis en komen via het hart en de arterie pulmonalis in de longen terecht.

Deze route wordt bij zowel dieren <6 maanden leeftijd als bij volwassen dieren doorlopen.⁵

Lever-long-trachea-oesophagus route:

Deze route wordt voornamelijk bij dieren <6 maanden leeftijd gezien. De L3 penetreren de alveoli en bereiken via de bronchiën en trachea de farynx. Na doorslikken bereiken ze de darmen. Tijdens deze route ontwikkelt de L3 zich verder tot L4. Deze ontwikkeling gebeurt in de longen⁶ of in de migratie route tussen de bronchioli en de maag⁵. De L4 bereikt de darmen en ontwikkelt zich daar tot de pre-adulte L5. In het lumen van de darm matureert de worm en gaat de volwassen vrouwelijke worm eieren uitscheiden die via de feces in de omgeving als niet infectieuze ongeëmbryoneerde eieren komen.

Somatische migratie:

Bij dieren van >6 maanden wordt vooral de somatische migratie gezien. Hierbij migreren de L3 vanuit de long naar het capillaire systeem. Vanuit hier migreren ze naar overige weefsels zoals spieren, nieren, lever en het centrale zenuwstelsel. Uit onderzoek blijkt dat de L3 vooral naar de spieren trekken.⁵ In de hersenen zijn de larven in geringe aantallen aanwezig. Ander onderzoek wijst uit dat de larve van *T. canis* meer naar het centrale zenuwstelsel trekken, in tegen stelling

tot *T. cati* die meer naar de spieren trekt.²⁰ De L3 die somatische migratie ondergaan bij teven spelen een rol bij het later besmetten van de pups. Vanaf het laatste derde deel van de dracht migreren de larven vanuit het perifere weefsel naar de uterus. Hier besmetten ze via de placenta de pups door verticale infectie. Daarnaast verplaatsen de larven zich ook naar het lactogene weefsel waarbij ze via de melk de pups postnataal besmetten^{5,6,7}.

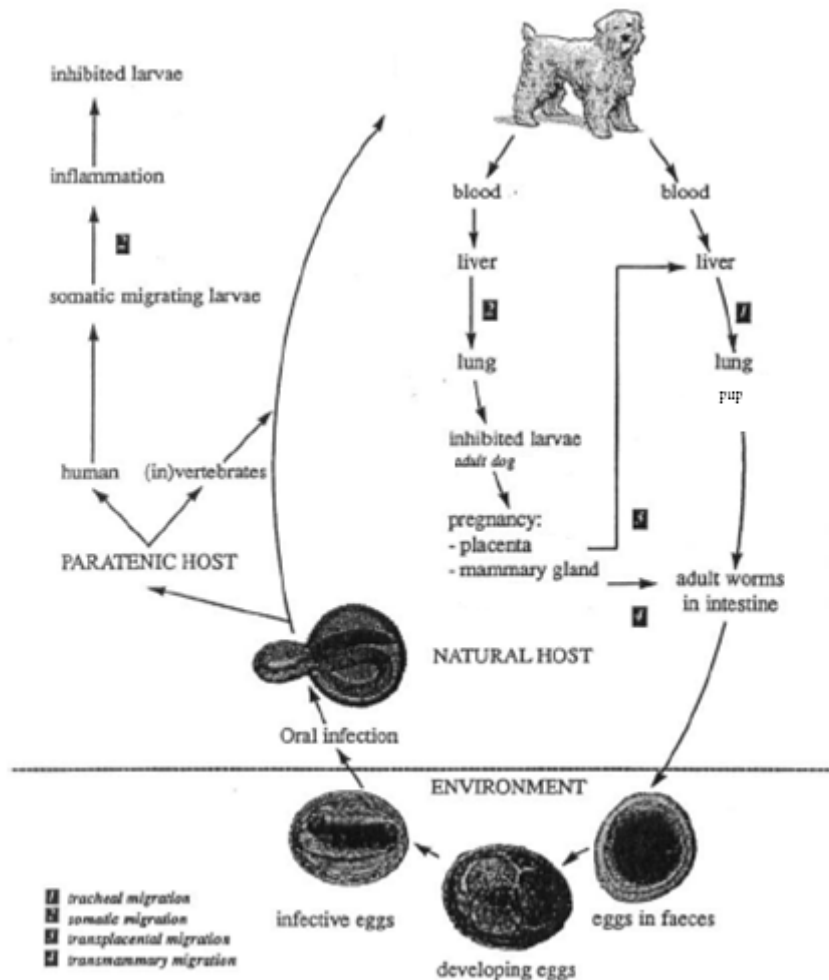


Fig.1: Levenscyclus van *Toxocara* spp. bij de hond
Bron: P.A.M.OVERGAAUW(1997), Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocarosis in dogs and cats, *Critical reviews in microbiology* **23-3**: 233-251

- Prenatale infectie

De belangrijkste manier van besmetting met *T. canis* verloopt via transplacentale of intra-uteriene transmissie. Bijna 100% van de pups wordt via deze route geïnfecteerd met *T. canis*²⁰. Deze besmetting kan ontstaan na herinfectie van de teef tijdens de dracht of door reactivatie van de somatische larven in de teef. Dit gebeurt vanaf dag 42 van de dracht. De teef moet wel minstens 2 weken voor de partus geïnfecteerd zijn met *T. canis*^{5,7,11,20}.

Na besmetting in de uterus is de prepatent periode ongeveer 16 dagen met een spreading van ongeveer 2,5 tot 3 weken.^{20,27}

De oorzaak van reactivatie van de larven bij de teef is nog onbekend. Mogelijk heeft het te maken met hormoonveranderingen tijdens de dracht. Onderzoek heeft aangetoond dat prolactine bij muizen ervoor zorgt dat de larven uit de

weefsels vrijkomen^{8,9}. Deze larven zorgen echter eerder voor een lactogene besmetting in plaats van een prenatale infectie bij de muis^{5,7}.

- Lactogene infectie

Deze route van infectie is bij pups relatief van minder belang dan de intra-uteriene infectieroute, echter bij de kat is dit de belangrijkste vorm van overdracht. Slechts 1,5% van de *T.canis* larve wordt via de lactogene route overgedragen. Deze groep pups zijn de pups die intra-uterien geen besmetting met *T.canis* hebben opgelopen. Via de lactogene route kan de moeder deze dieren alsnog infecteren. Na lactogene opname vindt er geen migratie door de weefsels plaats. De larven ontwikkelen zich direct tot de volwassen worm in het maag darm kanaal. De prepatent periode is hierdoor 19-35 dagen.²⁷ Teven kunnen tijdens de lactogene periode wel her besmet raken. Door besmetting van de omgeving door de pups en door directe ingestie van met larven besmette feces van de pup zal de teef een herinfectie doormaken. Hierna scheiden teven tot 38 dagen na de dracht larven uit via de melk^{5,7,11}.

- Leeftijdsresistentie

Vanaf >3 maanden leeftijd verloopt de migratie van de L3 steeds meer via de somatische route. In de long werkt deze immuniteit waarschijnlijk via vertraagde hypersensitiviteitsreactie na herinfectie met L3. Ook in de darm is er sprake van immuniteit. Bij herinfectie kan de infectieuze L3 minder goed de darm penetreren. Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door vrijkomen van vasoactieve amines door gesensibiliseerde mastocyten. Dit geeft een inflammatoire allergische reactie. Honden kunnen hierdoor diarree ontwikkelen⁶. De immuniteit is stadium afhankelijk. Er is geen verkregen immuniteit voor de L4 stadium, deze ontwikkelen zich tot volwassen wormen⁵.

- Geslachtsafhankelijke patente infectie

Bij volwassen mannelijke honden wordt er vaker een patente infectie met *T. canis* gezien. Mogelijk wordt dit veroorzaakt doordat er geen immuniteit tegen *T.canis* te zien is bij mannelijke honden in de leeftijd van 6 tot 36 maanden⁵. Een andere verklaring hiervoor is dat vrouwelijke dieren de infectie verder kunnen overdragen op hun nakomelingen. De mannelijke dieren kunnen alleen via uitscheiding van infectieuze eieren zorgen voor verdere verspreiding van *T.canis*⁷.

- Patente infecties bij volwassen honden

Bij pups <6 maanden is de prevalentie van *T.canis* het hoogst. Een deel van de volwassen honden populatie heeft echter ook een patente infectie met *T.canis*. Dit kan een gevolg zijn van immunosuppressie, ingestie van een lage hoeveelheid infectieuze eieren of ingestie van een paratenische gastheer^{5,7,10,11}.

Een lage hoeveelheid infectieuze eieren (100 eieren volgens Fahrion et al. 2008) zorgt voor onvoldoende stimulans van het afweersysteem. Hierdoor kunnen de uitgekomen L3 de lever-long-trachea-oesophagus route volgen en zich ontwikkelen tot het adulte stadium^{10,11,20}.

Paratenische gastheren, zoals muizen, vogels en konijnen, nemen *T.canis* eieren op via de omgeving. De larve ondergaan bij deze gastheren een somatische migratie en blijven in de weefsels aanwezig. Na ingestie van een paratenische gastheer ontwikkelt de larve zich direct in het darmlumen tot een adult stadium. De migratie route is eerder al in de paratenische gastheer doorlopen, dus deze is overbodig bij de hond^{5,7}.

- Humane toxocariose

In Nederland neemt het aantal huisdieren gestaag toe. In 2006 (Raad van diereenaangelegenheden) werd er een totaal aantal van 20,7 miljoen huisdieren gemeten. Hiervan waren 1.8 miljoen honden². Honden worden in Nederland steeds meer gezien als een gezinslid en hierdoor wordt het contact tussen mens en dier steeds intensiever¹.

T. canis is zoonotische parasiet. Honden en andere caniden zijn eindgastheer van deze parasiet. Mensen kunnen ook geïnfecteerd raken via geëmbryoneerde eieren uit de omgeving of (zoals door sommige auteurs wordt vermeld) door het opnemen van ingekapselde larven. Deze ingekapselde larven zitten onder andere in runder-, kippen- en schapenvlees van geïnfecteerde dieren.^{13,12}

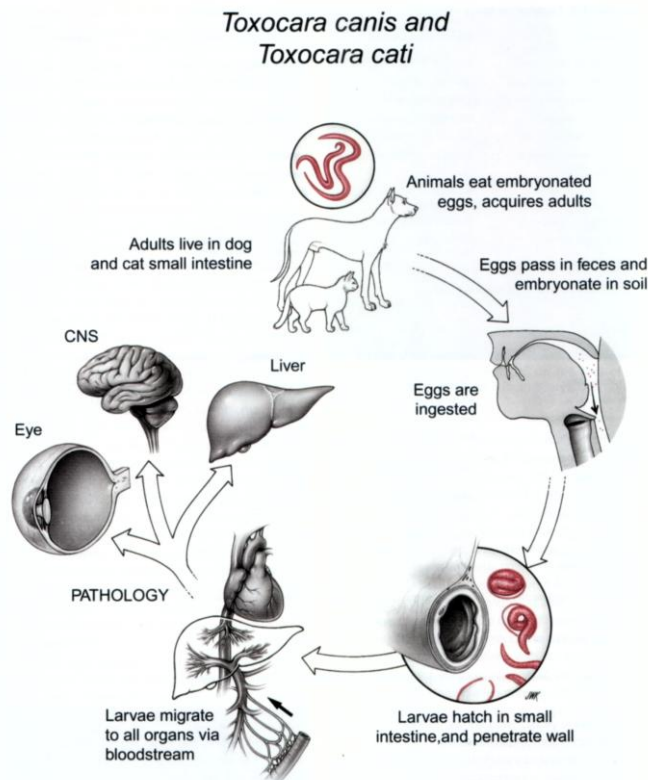


fig 2: Humane infectie *Toxocara canis*. Hier echter niet de optie weergegeven van besmetting via het opnemen van ingekapselde larve in paratenische gastheren.

Bron: www.microbeworld.org

Vooraf kinderen (leeftijd tussen 1-3 jaar) lopen een verhoogd risico op een infectie met *T. canis*.¹³ Door het spelen in besmette grond en geofagie is de kans groter dat zij geëmbryoneerde eieren opnemen.

Direct contact met besmette dieren zou volgens verscheidende artikelen geen risico zijn voor een besmetting met *T. canis*. De uitgescheiden eieren door de dieren zijn immers niet geëmbryoneerd. Uit onderzoek is gebleken dat er geëmbryoneerde eieren op de vacht van honden kunnen zitten. Deze zouden dan infectieus kunnen zijn voor mensen.³ Uit ander onderzoek is daarentegen gebleken dat er alleen ongeëmbryoneerde eieren gevonden waren.¹ Volgens dit onderzoek zou direct contact met deze eieren dus niet tot een infectie leiden bij mensen.

De mens is geen natuurlijke gastheer van *T. canis* en het opnemen van eieren of larven zal hierdoor niet leiden tot een infectie met volwassen wormen. De uitgekomen larven migreren maanden tot jaren door het lichaam en kunnen dan schade veroorzaken aan het weefsel waar ze doorheen trekken. De larven kunnen tot 7 jaar na infectie overleven in het menselijk lichaam.^{12,15,16}

Een infectie met *T.canis* verloopt vaak symptomeloos. In beperkt aantal gevallen kan het leiden tot viscerale larva migrans. Dit wordt gekenmerkt door koorts, pulmonaire infiltraties, hoesten, neurologische verschijnselen, hyperglobulinemie en hepatomegalie. In sommige gevallen leidt een infectie met *T.canis* tot oculaire larva migrans. In het oog leidt dit tot granulomateuze reacties in de retina wat uiteindelijk tot blindheid kan zorgen.¹²

Uit recent onderzoek is gebleken dat de seropositiviteit voor *T.canis* de afgelopen 12 jaar in Nederland afgenomen is. Dit kan onder andere verklaard worden door de grote aandacht voor het ontwormen van honden, de aandacht voor hygiëne en het bewust worden van hondeneigenaren om de feces op te ruimen.¹⁴

- Behandeling en preventie

Een adulte vrouwelijke worm kan wel tot 200.000 eieren per dag uitscheiden. Wanneer een hond een patente infectie doormaakt zal deze meerdere wormen in zijn darmen hebben. Het totaal aantal uitgescheiden eieren kan dan op een paar miljoen per dag uitkomen. Dit zorgt voor een hoge infectiedruk in de omgeving. Na enkele weken in de omgeving zijn deze eieren geembryoneerd en kunnen ze mensen en andere dieren infecteren.¹⁶

De grootste bron van infectie zijn lacterende teven en pups van de leeftijd tussen 16 dagen en 6 maanden. Echter zoals eerder vermeld kunnen ook naast lacterende teven andere volwassen honden een patente infectie doorlopen en bijdragen aan de ei uitscheiding.^{7,10}

Om de infectiedruk in de omgeving te verlagen is het noodzakelijk om pups en teven volgens een strak schema te ontwormen. Het advies van het ESCCAP²⁶ is om pups op 2 weken leeftijd de eerste keer te ontwormen en dit hierna op week 4,6 en 8 te herhalen. Hierna zouden de pups elke maand ontwormd moeten worden tot een leeftijd van 6 maanden. Hierna kunnen de pups in het ontwormschema van de volwassen hond meegenomen worden. De zogende teef moet tegelijk met de pups ontwormd worden. Het ontwormen vanaf 2 weken is noodzakelijk omdat de larven via de placenta de pups al voor de geboorte besmetten. Na 2 weken zijn deze wormen volwassen en begint de ei-uitscheiding. Daarnaast blijven de pups zich besmetten via lactogene uitscheiding van de larven. De lactogene besmetting blijft tot zeker 5 weken postpartum doorgaan, hierdoor is het noodzakelijk om de pups om de 2 weken te blijven ontwormen.⁷ Het ontwormen van de teef tijdens de dracht om zo de migrerende larven te doden wordt afgeraden. In bepaalde onderzoeken kwam naar voren dat het wel effectief is in het verlagen van het aantal besmette pups. Het risico op toxische effecten op de foetus is zeer groot.⁷

Voor verdere verlaging van de infectiedruk in de omgeving adviseert het ESCCAP om volwassen honden 4x per jaar te ontwormen. Eigenaren die liever niet ontwormen kunnen als alternatief maandelijks of 4x per jaar de feces van de honden laten controleren op parasieten.²⁶

Uit onderzoek onder 379 honden blijkt dat er nauwelijks verschil zit tussen 1-2x per jaar ontwormen (82% negatief) en >2x per jaar ontwormen (83% negatief).¹⁷

Uit een ander onderzoek kwam naar voren dat er een positieve relatie was tussen het aantal keer ontwormen en het aanwezig zijn van *T.canis* bij de hond. Honden die vaker behandeld werden, bleken ook vaker *T.canis* eieren uit te scheiden.¹⁸

Tegen *T.canis* zijn verschillende anthelmintica te verkrijgen. Deze zijn veelal gebaseerd op een combinatie van de werkzame stoffen fenbendazol, flubendazol, mebendazol, nitroscanaat, oxfendazol, oxibendazol, piperazine, milbemycine, moxidectine, pyrantel, tetramisol en/of selamectine en emodepside. De middelen kunnen per os, per injectie of via spot on toegediend worden aan de hond.^{21,23}

De middelen werken vooral tegen de volwassen wormen. In de aanbevolen dosering zijn deze middelen niet effectief tegen geïnhibeerde larven. Door het toedienen van deze middelen wordt beoogd een verlaging van de ei-uitscheiding te krijgen en via deze weg een verlaging van de infectie druk.²³

Tot op dit moment is er nog geen resistentie waargenomen bij hond en kat. Er wordt hier echter ook geen onderzoek naar gedaan.

Naast ontworming van volwassen honden speelt hygiëne ook een grote rol om infectie van de mens te voorkomen. Handen goed wassen na buitenspelen of contact met dieren, zandbakken zouden met stoom gereinigd kunnen worden en kennels moeten goed schoongehouden worden. Eigenaren moeten ook de feces van hun honden opruimen om zo de infectiedruk in de omgeving te verlagen.^{13,23}

Doel van het onderzoek

Met dit onderzoek wordt de volgende hypothese getoetst: "Er is een verschil in het percentage uitscheiders van *Toxocara canis* bij honden vanaf 6 maanden uit de regio Den Haag en Utrecht tussen de groepen die <4x per jaar worden ontwormd, 4x per jaar worden ontwormd, >4 keer per jaar worden ontwormd en honden uit dezelfde leeftijdscategorie die niet ontwormd worden."

Met deze hypothese is er geprobeerd te kijken naar het huidige ontwormregime in Nederland en het effect van het regime op de wormeieren uitscheiding bij behandelde honden. Tevens is er gekeken naar het ontwormingsgedrag van de eigenaren en het beeld dat eigenaren bij het ontwormen hebben.

Materiaal en methode

Deelnemers:

Aan het onderzoek konden alleen honden deelnemen van een leeftijd van 6 maanden en ouder. In totaal hebben er 130 honden deelgenomen aan het onderzoek.

Via actieve werving hebben 74 eigenaren met in totaal 91 honden zich opgegeven. 18.9% van deze eigenaren is werkzaam op de faculteit diergeneeskunde te Utrecht. Daarnaast zijn er 16 honden uit Stichting Stichts Asyl in Utrecht en 23 fecesmonsters van honden uit de kennel van Jachtvereniging Soestdijk onderzocht.

De deelnemers zijn onderverdeeld in de groepen "regio Den Haag", "regio Utrecht" en "rest van Nederland". Tot de regio Den Haag werden Den Haag stad en omliggende gemeentes als Rijswijk, Voorburg en Leidschendam gerekend. Tot de regio Utrecht werden Utrecht stad en de omliggende gemeentes als De Bilt, Nieuwegein, Houten en Zeist gerekend. Rest van Nederland zijn steden en dorpen buiten deze regio's, waaronder Uitgeest, Weert en Amersfoort.

Voor de actieve werving is er gebruik gemaakt van een folder en posters (zie bijlage 1 en 2). De folders zijn uitgedeeld aan hondeneigenaren tijdens actieve wervingen bij hondenuitlaatplekken in Den Haag en Utrecht. Verder zijn er folders afgegeven aan dierspecialisten en dierenklinieken in de deelnemende regio's. Daarnaast zijn er verschillende oproepen gedaan op de website van de faculteit diergeneeskunde en verschillende hondenfora.

Feces inzamelen:

De te onderzoeken feces is door de hondeneigenaar zelf verzameld en opgestuurd naar de faculteit diergeneeskunde. Eigenaren kregen hiervoor plastic bakjes, plastic zakjes, seal Bags, tissues en noppenenveloppen voor opgestuurd. Met deze materialen konden zij de feces maandelijks naar de faculteit toesturen. Voor het protocol van het opsturen van de materialen wordt er verwezen naar bijlage 3.

In totaal zijn er 29 monsters bekeken uit de regio Den Haag, 21 monsters uit de regio Utrecht en 41 monsters uit de rest van Nederland. Hiernaast zijn er nog 16 monsters van het asiel uit Utrecht en 23 monsters uit de kennel van de jachtvereniging Soestdijk onderzocht.

Fecesonderzoek:

Voor het onderzoeken van de feces is er gebruik gemaakt van de gecombineerde centrifuge-sedimentatie-flotatie techniek zoals genoemd in het Diergeneeskundig memorandum (zie bijlage 4).²³ Als flotatiemedium werd er gebruik gemaakt van sucrose met een dichtheid tussen de 1.26 en 1.29 g/cm³. Dit flotatiemedium werd verkozen boven NaCl omdat er ook gekeken werd naar *Taenia* spp., *Trichuris vulpis* en *Capillaria* spp. met een dichtheid van ongeveer 1,20 g/cm³.^{23,24} ZnSO₄ werd vanwege de milieubelasting niet gebruikt.

Om onderscheid te maken tussen *T. canis* en *T. cati* werden per preparaat tussen de 50-100 eieren opgemeten via de microscoop. Wanneer alle getelde eieren tussen de 70-90µm waren werden ze weggezet als *T. canis*.^{22,23,24}

Om onderscheid te maken tussen de verschillende soorten *Cysto-isopspora* werden hiervan de oöcysten opgemeten en beoordeeld op de vorm. Ook werd er gekeken naar eventueel gesporuleerde oöcysten. Op deze manier kon er onderscheid gemaakt worden tussen *Isospora* spp. en *Eimeria* spp.

Enquête:

Naast het fecesonderzoek van de honden is er via een enquête gekeken naar de risicofactoren en het ontwormregime.

De hondeneigenaren is gevraagd een enquête in te vullen over hun hond. Hierbij werd gebruik gemaakt van 2 verschillende enquêtes. Een grote enquête voor de regio Utrecht en Den Haag en een korte enquête voor de deelnemers uit de rest van Nederland. In de enquête werd er gevraagd naar het uitlaten, gedrag, voeding, gezondheid en ontworming van de hond. Het verschil tussen de grote en de korte enquête is dat er in de korte enquête alleen gevraagd werd naar de voeding, gezondheid en ontworming van de hond.

Via SurveyMonkey® zijn de enquêtes aangemaakt. De vragen zijn hierin onderverdeeld in: Demografische gegevens, Gedrag van de hond, Voeding, Gezondheid, Uitlaten en Ontwormen.

De eigenaren kregen via de e-mail een link toegestuurd naar de enquête. Eigenaren die in de regio woonden kregen de link naar de grote enquête, eigenaren buiten de regio kregen een link naar de korte enquête.

Verwerken resultaten:

Om te bepalen of de gevonden resultaten significant zijn is er gebruik gemaakt van de Chi-kwadraat test. Om deze test te kunnen gebruiken is er eerst de Expected Value bepaald.

De Expected Value is volgens de volgende formule berekend:

(totaal aantal dieren uit een regio x totaal aantal dieren met een infectie) / Totaal aantal deelnemende dieren.

Met deze waarde is er verder gerekend volgens de Chi-kwadraat test:

$$\begin{aligned} \chi^2 &= \sum \frac{(\text{Observed frequencies} - \text{Expected frequencies})^2}{\text{Expected frequencies}} \\ &= \sum \frac{(F_o - F_e)^2}{F_e} \end{aligned}$$

De uitslag van de Chi-kwadraat test zijn vergeleken met de tabel in het boek "Statistics for veterinary and animal science".²⁵ Wanneer de P<0.05 was, werden de resultaten als significant aangemerkt.

Om te berekenen of er gebruik gemaakt mocht worden van de Chi-kwadraat test is er ook gekeken naar het betrouwbaarheidsinterval. De gebruikte formule hiervoor is:

$$p \pm 1.96 \times \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} \quad (1)$$

Daarnaast is er ook berekend hoe groot de populatie onderzochte dieren had moeten zijn. Via www.journalinks.be/steekproef/ is deze populatie grote berekend.

Resultaten

- Fecesonderzoek:

Uit het fecesonderzoek kwamen de volgende uitslagen naar voren.

	Negatief	<i>Toxocara canis</i>	<i>Trichuris vulpis</i>	<i>Capillaria</i> spp.	Strongylus type	<i>Cystoispora</i> spp.	Totaal
Utrecht	17	1	1	0	1	2	22
Asiel Utrecht	14	0	2	0	0	0	16
Den Haag	28	0	2	0	4	5	39
Overige regio's	34	2	0	3	1	4	44
Jachtvereniging Soesdijk	14	0	6	0	3	0	23
Totaal	107	3	11	3	9	11	144
Prevalentie	74.31%	2.08%	7.64%	2.08%	6.25%	7.64%	

Tabel 1: Uitslagen feces onderzoek. N=130 Hier alleen gekeken naar hoe vaak 1 wormsoort gezien werd. Er is geen rekening gehouden met meng infecties, vandaar dat het totaal hoger ligt dan de gegeven N-waarde.

Na berekening via de χ^2 test blijkt dat alle resultaten niet significant zijn. De $P >> 0.05$. We kijken hier dus naar een trend. (zie voor de berekeningen bijlage 5) Tijdens dit onderzoek is gebleken dat van alle onderzochte honden 2.08% (3 van de 130) uitscheider van *T.canis* is. Bij 2 van deze dieren werd een laag aantal eieren gevonden, 1 hond had echter zeer hoge aantallen eieren in de feces zitten. Deze eieren waren anders van vorm en waren iets groter dan de andere gevonden *T.canis* eieren. (zie figuur 3) Meerder pogingen om deze raar gevormde eieren te laten embryoneren waren niet succesvol.

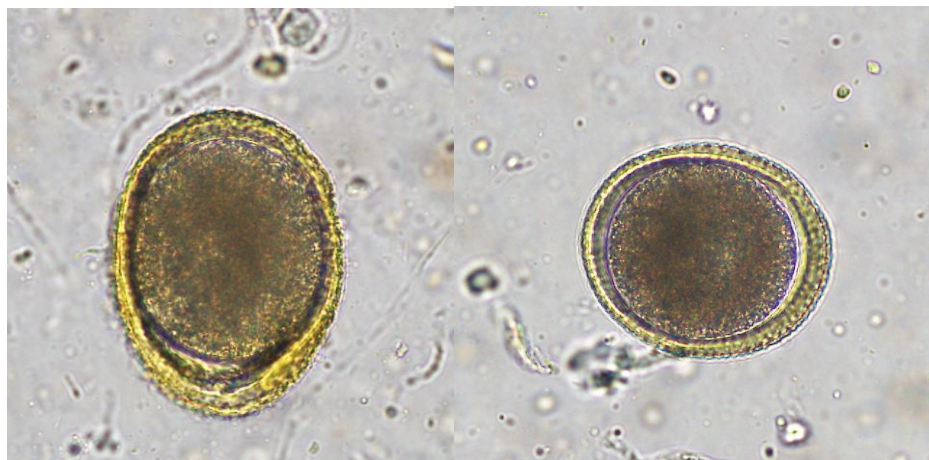


Fig.3: Links het grotere gevonden *Toxocara* ei (400x vergroot) uit het monster van deze hond. Rechts een foto van een normaal *T.canis* ei (400x vergroot) gevonden in de feces van een andere positieve hond uit dit onderzoek

De meest gevonden parasiet is *Trichuris vulpis*. Bij 8.46% van de honden zijn hiervan eieren aangetroffen. Met name bij de kennel van jachtvereniging Soestdijk is deze parasiet veel aanwezig. Bij 2 dieren ging het om 1 gevonden ei in het preparaat. Bij de overige 9 dieren waren er meerdere eieren te vinden. *Cysto-isospora* is bij 6.79% (n=9) van de dieren aangetroffen. De gevonden *Cysto-isospora* oöcysten waren verschillend van vorm en grootte. Variërend in lengte van 20µm tot 40 µm. De gevonden *Cystoisospora* zijn dus niet van 1 soort over meerdere dieren gezien. Enkele oöcysten waren al gesporuleerd en vertoonden 4 sporocysten. Dit wijst erop dat we hier te maken hadden met *Eimeria* spp. De overige waren niet gesporuleerd, waardoor verdere determinatie naast de lengte en breedte bepaling niet mogelijk was.

Bij de gevonden strongylus type eieren was in 2 gevallen een larve te zien. Dit betekent waarschijnlijk dat er sprake was van een passant of van niet verse feces. Verder was het totaal aantal Strongylus type eieren dat gevonden werd in de monsters erg laag. Alleen bij de honden van jachtvereniging Soestdijk was het aantal gevonden strongylus type eieren wel hoog.

Bij 8 honden was er sprake van een menginfectie. Bij 1 hond was er sprake van 3 verschillende eieren in de ontlasting. *Cystoisospora* spp. werd het meest terug gevonden in de menginfecties. Bij de meeste menginfecties was er sprake van de vondst van enkel 1 ei van een bepaald type en een overvloed aan andere eieren. Deze enkele eieren werden toch genoteerd in de resultaten.

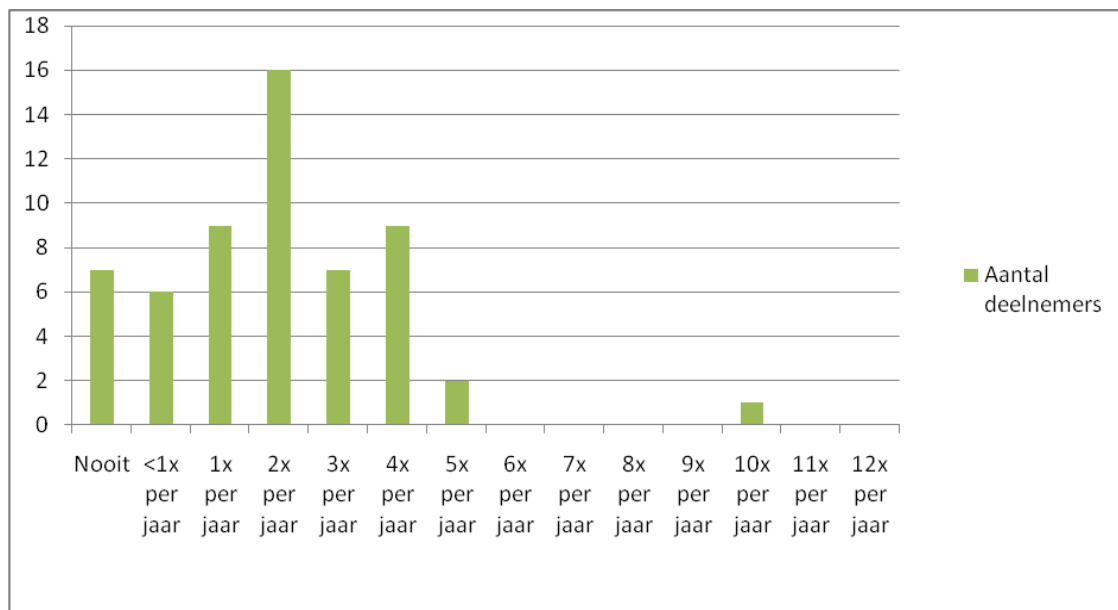
<i>Capillaria</i> spp. + <i>strongylus</i> type	1
<i>Capillaria</i> spp. + <i>Cystoisospora</i> spp.	1
<i>Toxocara</i> spp. + <i>Cystoisospora</i> spp.	1
<i>Trichuris vulpis</i> + strongylus type	1
strongylus type + <i>Cystoisospora</i> spp.	3
<i>Trichuris vulpis</i> + strongylus type + <i>Cystoisospora</i> spp.	1

Tabel 2: Menginfecties

Van alle dieren die deel hebben genomen aan het onderzoek waren de fecesmonsters van 103 dieren negatief. Dit komt neer op 79.23% van alle onderzochte dieren.

- Enquête:

Van 87.4% van de deelnemende honden is een enquête ingevuld. Uit de enquête kwam naar voren dat het grootste deel van de deelnemers 2x per jaar ontwormt. Dit is lager dan de voorgeschreven 4x per jaar door het ESCCAP.



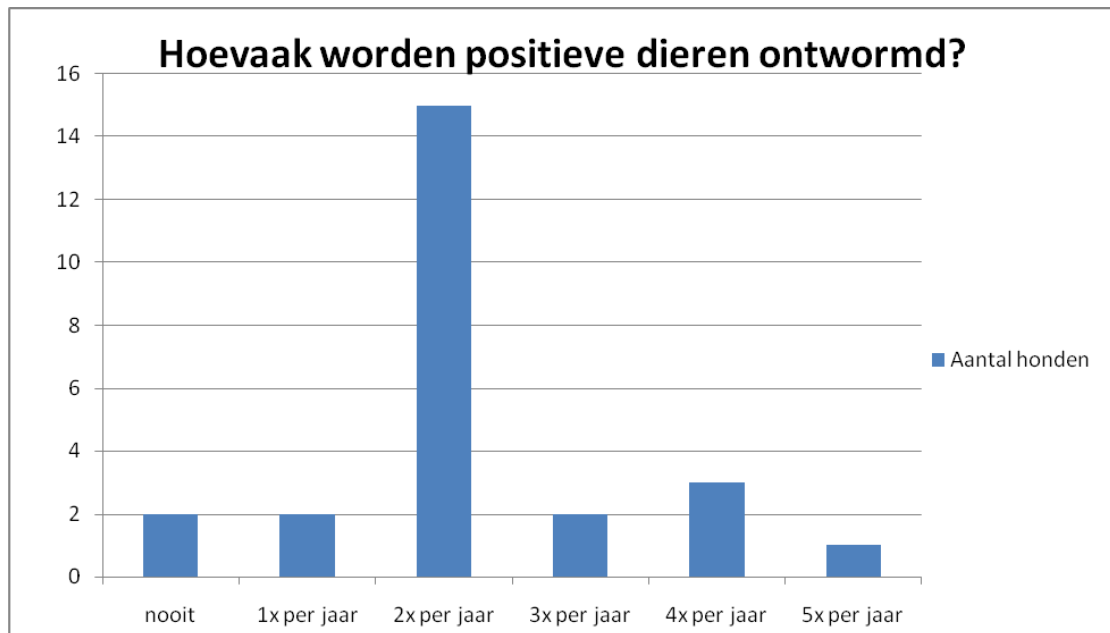
Grafiek 1: resultaat uit beide enquetes over het ontwormen van de hond per jaar.

Ook bij de positieve dieren zien we dat de ontwormpiek op 2x per jaar ligt. Van de 26 dieren die wormeieren of oöcysten uitscheiden worden 15 dieren 2x per jaar ontwormd. 2 van de positieve honden wordt nooit ontwormd. Deze 2 honden waren uitscheider van *Cystoisospora* spp en enkele strongylus type eieren. Van de *Toxocara* spp. positieve honden werden 2 honden 4x of vaker per jaar ontwormd. Bij 1 van de *Toxocara canis* positieve honden was het aantal keer ontwormen ook afhankelijk van het al dan niet positief testen door de dierenarts. Wanneer deze hond positief getest werd, was de behandeling 3 weken behandelen met anthelmintica. Het normale aangehouden ontwormregime voor deze hond stond op 4x per jaar.

De andere positieve *Toxocara canis* hond werd standaard elke 10 weken blind ontwormd. De reden voor dit regime was dat de hond anders jeukklachten kreeg en daarnaast veel in contact kwam met jonge kinderen.

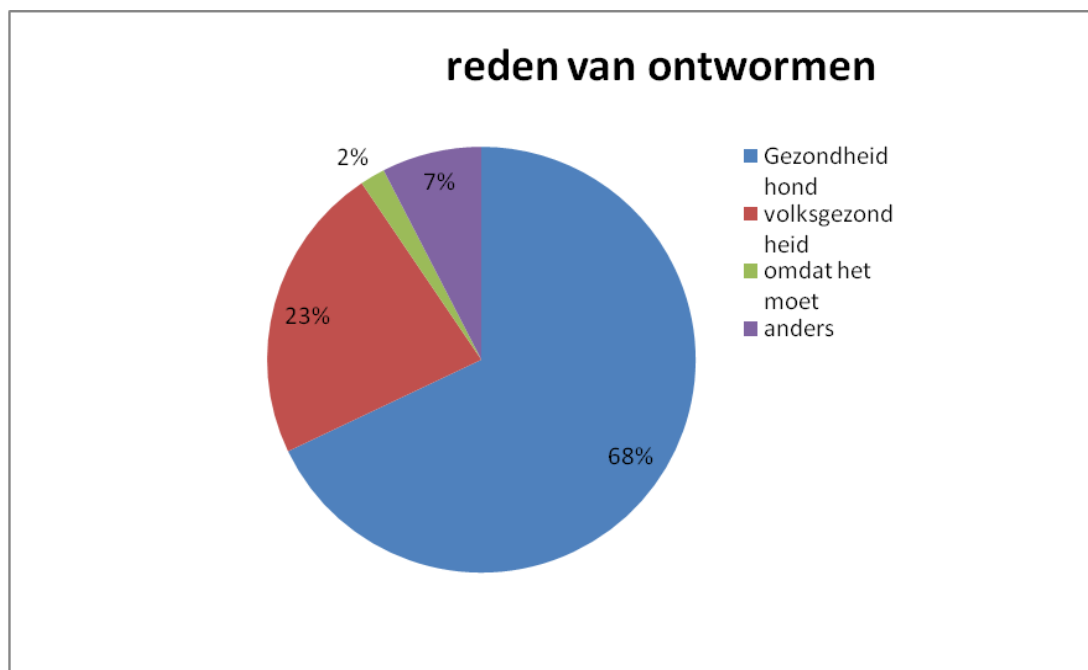
Het grootste aandeel van de honden in de 2x per jaar ontworm categorie wordt gevormd door de honden uit de kennel van de Jachtvereniging van Soestdijk. Het gaat hier om 11 honden. Wanneer we deze uit de groep halen zien we dat de piek alsnog op de 2x per jaar ontwormen ligt.

Van 1 positieve hond was onbekend hoe vaak er ontwormd werd.



Grafiek 2: resultaat uit de enquête waarbij aangegeven wordt hoe vaak de positieve honden ontwormd worden. Er is geen onderscheid gemaakt tussen de verschillende parasieten.

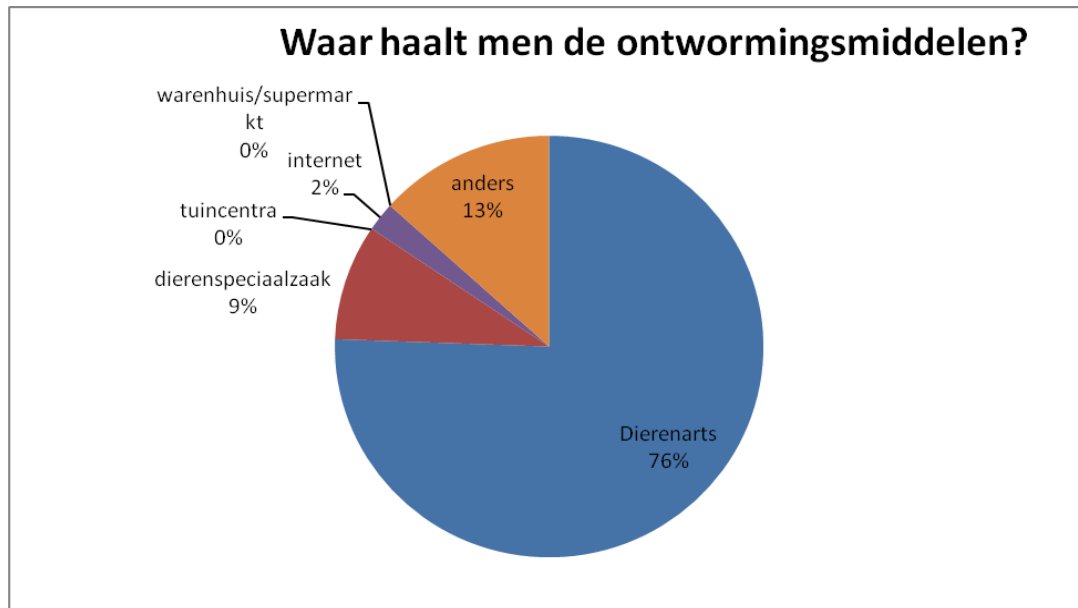
Op de vraag waarom mensen hun hond ontwormen kwam naar voren dat 70% van de ondervraagden dit deed omwille van de gezondheid van hun hond. Slechts 19% van de ondervraagde ontwormt zijn hond omwille van de volksgezondheid. 1 persoon gaf aan te ontwormen omwille van de commercie. 2 personen gaven aan dat ze zowel voor de gezondheid van de hond als voor de gezondheid van het gezin ontwormde. 1 persoon antwoordde dat de ontworming een bij-effect was van het ontvlooiingsmiddel wat men gebruikt.



Grafiek 3: resultaat uit beide enquêtes waarbij aangegeven wordt waarom de eigenaren hun honden ontwormen.

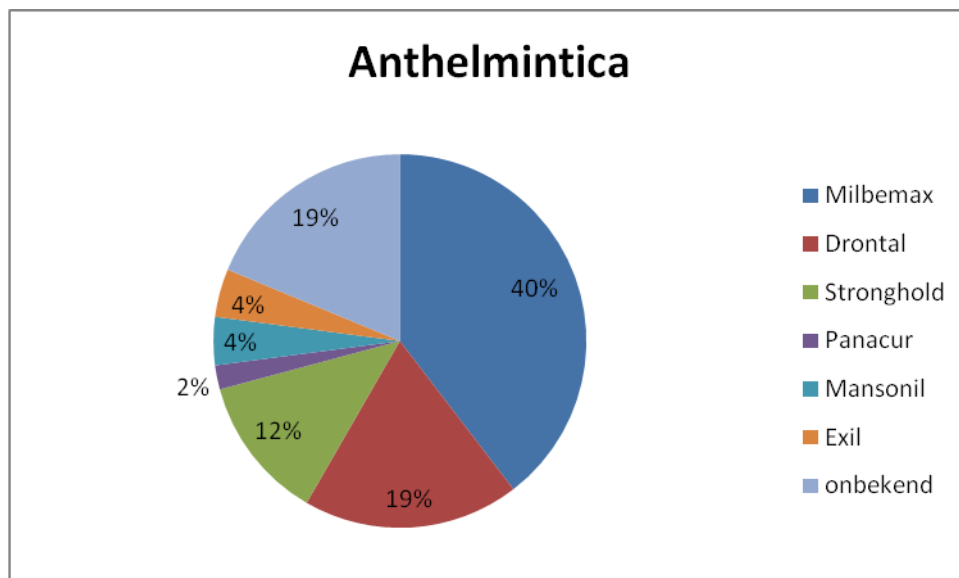
Mensen kochten de ontwormingsmiddelen vooral bij de dierenarts. 34 van de ondervraagde mensen die hun hond ontwormen haalt hier hun ontwormmiddelen. 9% van de deelnemers haalt de ontwormingsmiddelen bij de dienspecialisten. Slechts 2% van de ondervraagden geeft aan de ontwormingsmiddelen via het

internet aan te schaffen. Eigenaren die aangeven het middel ergens anders aan te schaffen zijn medewerkers van de faculteit diergeneeskunde die het middel bij de apotheek van de faculteit halen. Geen van de ondervraagden kocht het middel bij de tuincentra of supermarkt.



Grafiek 4: resultaat uit beide enquêtes waarbij aangegeven wordt waar men de ontwormingsmiddelen haalt.

Uit de enquête kwam verder naar voren dat de meeste mensen gebruik maken van Milbemax[®] (40% van de ondervraagden). 19% van de mensen weet niet waar ze mee ontwormen. 12% van de ondervraagden ontwormt met Stronghold[®] (selamectine). Dit is een ontvlooiingsmiddel wat tevens ook tegen enkele endoparasieten werkzaam is en geregistreerd is voor gebruik tegen spoolwormen bij de hond.



Grafiek 5: resultaten uit beide enquêtes waarbij aangegeven wordt welk anthelminticum gebruikt wordt.

Discussie

Deelnemers en fecesmonsters:

Eerdere onderzoeken hadden ruim voldoende deelnemers om aan significante uitslagen te komen. In dit onderzoek was er een te gering aantal aanmeldingen. Dit had mogelijk te maken met de zomervakantie. In de parken en hondengebieden was het hierdoor veel rustiger dan normaal en kon er niet voldoende geworven worden. Ook op de universiteit was het zeer rustig, waardoor er te weinig studenten aanwezig waren voor deelname aan het onderzoek. In overige onderzoeken werd er nauw samengewerkt met dierenklinieken en asielen. Tijdens dit onderzoek verliep deze samenwerking met dierenklinieken erg slecht. Dierenklinieken werden afhoudend toen bekend werd dat het onderzoek de eigenaren indien nodig van een wormenkuur zouden voorzien. Slechts 1 asiel in Utrecht heeft deelgenomen aan dit onderzoek. In Den Haag was er geen asiel die deel wou nemen aan dit onderzoek.

De nauwe samenwerking met klinieken in andere onderzoeken geeft daar een zekere bias in de deelnemende groepen. Dit zijn veelal deelnemers die erg betrokken zijn bij de gezondheid van hun hond en vwb de preventieve gezondheidszorg veel voor hun huisdier over hebben. Deze groep mensen is vaak ook meer gemotiveerd om te ontwormen. In dit onderzoek is geprobeerd ook de groepen mensen te betrekken die kritischer of nonchalanter ten opzichte van het ontwormen staat. Door studenten en medewerkers van de faculteit diergeneeskunde deel te laten nemen aan het onderzoek is er wel een zekere bias gecreëerd tijdens dit onderzoek. Wat toch enigszins verbazend is dat in deze groep mensen (medewerkers en studenten van de faculteit diergeneeskunde) het advies van de ESCCAP vaak zonder kritiek gevolgd werd. Ook deze groep eigenaren ontwormt hun honden blind. Juist nu er kritisch gekeken wordt naar het medicijngebruik van de beroepsgroep zou men eigenlijk verwachten dat deze groep kritischer zou staan ten opzichte van het blind ontwormen van hun honden. Door de trage fecesstroom was het voor dit onderzoek noodzakelijk om ook de gebieden buiten Den Haag en Utrecht te gebruiken. Hierdoor is er tijdens dit onderzoek sprake van een slecht gedefinieerd onderzoeksgebied en hierdoor mogelijke risicofactoren. Dit had echter weinig effect op de onderzoeksvraag die hier beantwoord wordt. Er wordt hier alleen gekeken naar het effect van de ontworming en dit is niet regio gebonden. De regio zou mogelijk wel effect hebben op de aantal gevonden positieve dieren.

Om de hoeveelheid monsters te vergroten heeft de Jachtvereniging van Soestdijk ook meegewerkt aan het onderzoek. Bij het verzamelen van monsters was het niet mogelijk om de dieren individueel te bemonsteren. De uitslag van het fecesonderzoek van de jachtvereniging zegt hierdoor alleen iets over de roedel in zijn algemeen. De positief gevonden uitslagen kunnen ook van de enige positieve dieren in de roedel zijn. Daarnaast was de feces 1 dag oud en had het buiten op de betonnen vloer gelegen. Ook had het die avond ook geregend. Dit heeft allemaal van invloed kunnen zijn op de kwaliteit van de te onderzoeken feces en de mogelijkheid voor een goede beoordeling. Het heeft echter geen invloed gehad op de gevonden eieren.

Statistiek:

Tijdens dit onderzoek is er gebruik gemaakt van de Chi-kwadraat test. Echter na berekening van de betrouwbaarheidsinterval blijkt dat deze test in zijn geheel niet gebruikt had mogen worden. De betrouwbaarheidsinterval van het voorkomen van *T.canis* op landelijk niveau ligt tussen de -0.37 en 4.53. De gevonden prevalentie valt hier weliswaar tussen. In dit onderzoek wordt er echter gekeken naar kleinere groepen binnen deze gevonden prevalentie.

Daarnaast komt uit de berekening van www.journalinks.be/steekproef/ naar voren dat de totale steekproefgrootte rond de 300 dieren had moeten zijn. Hierbij is er vanuit gegaan dat er zowel in Utrecht als Den Haag +/- 1500 honden aanwezig zijn. Wanneer men rekent met een foutenmarge van 5% en een betrouwbaarheidsinterval van 95% komt men uit op een steekproefgrootte van 306 dieren per regio. In dit onderzoek zijn er in totaal 130 dieren onderzocht.

Resultaten feces onderzoek:

Uit de resultaten komt naar voren dat 2.31% van de deelnemende honden positief zijn voor *T. canis*. Uit eerdere onderzoeken in Nederland en België^{1,19} kwam naar voren dat *T. canis* bij 4,4% van de dieren voorkwam. Wij hebben in ons onderzoek echter te weinig monsters om een significante uitslag te krijgen. Daarnaast zijn er tijdens de eerdere onderzoeken ook resultaten van honden < 6 maanden oud gebruikt. Hierdoor is het niet mogelijk deze uitslagen met elkaar te vergelijken. In dit onderzoek is de 4.4% wel als richtlijn gebruikt en werd er verwacht rond dit percentage uit te komen.

Uit de enquête kwam ook naar voren dat veel honden recentelijk ontwormd waren. De grootste groep deelnemers was binnen 3 maanden voor het insturen van het monster al ontwormd. Dit kan geleid hebben tot de lager uitgevallen prevalentie van *T. canis* tijdens dit onderzoek. Uit onderzoek¹⁸ blijkt dat 2 x per jaar ontwormen voldoende zou kunnen zijn om een infectie met *T. canis* te voorkomen. De meeste honden vielen binnen deze grens van het ontwormregime. Echter tijdens dit onderzoek is er ook alleen door middel van een cross sectional study gekeken naar de uitscheiding van *T. canis* en de relatie van het ontwormen. Met dit onderzoek is er ook niet gekeken naar het eventueel positief worden van de dieren. Echter is de prepatent periode van *T. canis* 35-42 dagen. De 3 maanden ontworming voor het onderzoek zou dan geen effect hoeven te hebben op het vinden van *T. canis*.

Ons onderzoek was een cross sectional study. Hierdoor is het voor ons onduidelijk of de dieren die nu negatief zijn getest op *T. canis* ook daadwerkelijk negatief zullen blijven ondanks het stoppen van de ontworming. Ook bestaat er de kans dat we dieren negatief hebben gevonden die in de prepatent periode zaten. Hiervoor is longitudinaal onderzoek van de deelnemers noodzakelijk.

Er zijn in totaal 6 dieren over een periode van 2 maanden gevolgd. In deze periode is 1 hond positief geworden voor *T. canis*. De overige honden kunnen in de loop van het onderzoek alsnog positief worden. De periode van 2 maanden is te kort om hier een uitspraak over te kunnen doen.

De feces van de honden van de jachtvereniging waren allemaal negatief op *T. canis*. Dit was voor ons onderzoek enigszins een verrassende uitkomst. Aangezien de vossenpopulatie gezien wordt als een mogelijke infectiebron van *T. canis* en deze honden veel in contact komen met vossen en/of vossenontlasting, lag de verwachting op een hoge infectie met *T. canis*.²¹ Verder had verschillend onderzoek aangetoond dat er bij jachthonden vaker een infectie met *T. canis* gevonden kon worden. Echter, het jachtseizoen was op het moment van onderzoek nog niet begonnen en de honden hadden 3 maanden geleden voor het laatst gejaagd. Dit kan verklaren dat er geen *T. canis* gevonden is bij deze honden. Onderzoek tijdens het jachtseizoen zou een ander beeld kunnen geven. Van de deelnemende asielhonden is niks van de historie bekend. Het is hierdoor onduidelijk of ze voor opname al ontwormd waren. Tevens is er niks bekend over het eventuele ontwormingsregime van deze honden in het verleden. Hierdoor zijn de uitslagen die wij nu gevonden hebben niet bruikbaar voor dit onderzoek en kunnen ze alleen gebruikt worden voor het groot lopend onderzoek. Wel is er bekend dat de dieren bij binnenkomst standaard ontwormd worden volgens het huidige beleid van de ESCCAP.

De asielhonden zijn in dit onderzoek allemaal negatief gevonden op *T. canis*. Uit ander onderzoek van P. Overgaauw (1997) kwam juist naar voren dat de

prevalentie bij kennels/asielen in Nederland op 21% lag. Tijdens dat onderzoek is echter naar meerdere asielen en kennels gekeken van verschillende kwaliteiten. Er waren bij dit onderzoek ook enkele die een grote bijdrage leverden aan het totaal van de positieve uitscheiders. Het asiel wat mee heeft gedaan aan dit onderzoek bestond sinds korte tijd en was erg modern. Daarnaast werd er in dit asiel gewerkt met strenge hygiëne protocollen.

De 3 positief gevonden dieren vormen ook een punt van discussie. Bij 1 geval hadden de eieren een zeer afwijkende vorm. Hierdoor kregen we gedurende het onderzoek het idee dat we hier te maken hadden met een mogelijke passanteneieren. De hond in deze casus was een notoire kattenfeces eter. Maar voor een passantenbeeld waren er toch teveel eieren te zien dan verwacht werd en het formaat kwam niet overeen met eventuele *T.cati* eieren. Dit zou dan toch eerder lijken op een patente infectie. Om dit verder uit te sluiten hebben we nog enkele malen om feces monsters gevraagd en geprobeerd deze zonder invloed van eventuele kattenfeces te beoordelen. De hond werd tussen door ook enkele malen behandeld met Stronghold® (selamectine). Uit embryonatie kwam geen uitslag. Na de laatste ontworming met Stronghold® is er een worm in de feces gevonden. Uit determinatie bleek het om een volwassen *T.canis* te gaan. Mogelijk heeft de ontworming met Stronghold® ervoor gezorgd dat deze worm de misvormde eitjes ging produceren. Uit onderzoek²² blijkt dat selamectine slechts voor 91-97% effectief is tegen *T.canis*. Andere middelen zijn vaak tussen de 99.7- en 99.9% effectief.

De overige 2 positieve dieren zijn honden met bijna gelijke gezondheidsklachten. Beide honden waren bekend met huid en jeukklachten. Mogelijk speelt een immuniteitsprobleem bij deze honden een rol bij de ontstane patente infecties met *T.canis*. De ontworming blijkt bij deze dieren voor korte duur wel werkzaam te zijn. Bij 1 hond bleek na ontworming de jeukklachten te verminderen. Deze hond werd om deze reden ontwormd, zodra de jeukklachten optraden werd de ontworming gestart. Bij deze 2 patiënten zou verder onderzoek naar onderliggende gezondheidsproblemen gewenst zijn. Dit valt echter buiten het lopende onderzoek.

Van de 3 positieve *T. canis* honden hadden 2 geen maag-darmklachten. De hond met maag-darmklachten had deze klachten regelmatig en werd tijdens verschillende onderzoeken bij de dierenarts ook positief gevonden op *T.canis*. De overige 2 positieve honden zijn verder nooit door een dierenarts positief getest op *T.canis*. Het is onduidelijk of er überhaupt ooit onderzoek van de feces bij deze dieren gedaan is.

Tijdens het begin van het onderzoek werden veel dieren positief getest op *T.vulpis*. Naderhand bleek het te gaan om contaminatie van het gebruikte materiaal. De materialen in het lab werden ook gebruikt voor onderwijsdoelstellingen. Mogelijkerwijs waren de materialen in het begin van het onderzoek niet goed schoongemaakt. De monsters waren echter al weggegooid, hierdoor was het niet mogelijk deze monsters te her testen. Tijdens het verdere verloop van het onderzoek is er gewerkt met materiaal uitsluitend bestemd voor dit onderzoek. Materialen die gedeeld moesten worden zijn elke keer voor gebruik grondig gereinigd om eventuele contaminatie tegen te gaan. De eerste positieve uitslagen op *T.vulpis* zijn wel meegenomen in het onderzoek, ondanks de verdenking van contaminatie. Waarschijnlijk heeft dit geleid tot een hogere prevalentie van *T.vulpis* dan er daadwerkelijk was.

In dit onderzoek zijn ook positieve honden op strongylus type eieren gevonden. Om te controleren of er sprake is van een passant of een daadwerkelijk infectie zou er een larvenkweek ingezet moeten worden. Dit viel echter buiten het onderzoek en is om die reden niet gebeurd. Er is een aanname gedaan dat er sprake was van een passant. Aangezien de feces van de grond opgeraapt werd en het enkele dagen duurde om het via de post in het laboratorium te krijgen is dit een reële aanname.

Resultaten enquête:

De grootste groep deelnemers aan dit onderzoek heeft in de enquête aangegeven dat zij hun honden ontwormen omwille van de gezondheid van hun hond. Verder kwam in de enquête naar voren dat mensen de ontwormingsmiddelen vooral bij de dierenarts halen. Dierenartsen geven naar alle waarschijnlijkheid de eigenaren niet de juiste reden voor ontwormen. Het zou de taak van de dierenarts moeten zijn om de eigenaren juist voor te lichten over deze zaken. Echter zullen veel hondeneigenaren minder gemotiveerd zijn om hun huisdier te ontwormen wanneer blijkt dat ze dit eigenlijk voor de gezondheid van anderen moeten doen. Om de eigenaren ervan te overtuigen hun honden te ontwormen zal er regelmatig een andere reden voor ontwormen genoemd worden. Ergens missen we hier een kans. Wanneer we mensen echt bewust kunnen maken van de eventuele gevaren, zullen ze misschien meer gemotiveerd zijn om te ontwormen. Aan de andere kant kunnen we kritische eigenaren misschien overtuigen om eerder feces onderzoek te laten doen in plaats van het blind ontwormen.

Een grote groep eigenaren (19%) weet niet waarmee zij hun hond ontwormen. Terwijl een groot deel toch hun ontwormingsmiddelen bij de dierenarts haalt. Ook hier blijkt uit dat de voorlichting aan de eigenaar minimaal is. Mogelijk is de interesse naar het ontwormen van de honden bij eigenaren beperkt. Dit zou ook kunnen verklaren dat het aantal deelnemers in dit onderzoek zo laag is. Bij het werven van deelnemers in het veld kwam ook vaak naar voren dat mensen geen interesse hadden en ze alleen ontwormen omdat de dierenarts dit tegen ze zegt. Op dit moment geeft slechts 2% van de eigenaren aan dat zij hun ontwormingsmiddelen via het internet besteld. De verwachting was dat dit op een hoger percentage uit zou komen. Met de huidige markt zal het kunnen gebeuren dat steeds meer mensen online de middelen gaat kopen om zo de kosten te drukken. Dierenartsen missen hierbij de kans om mensen duidelijk voor te lichten.

Uit de enquête kwam naar voren dat 1 persoon zijn hond ontwormde als bijeffect van de ontvlooiingsdruppels. Mogelijk zijn er meer mensen die hun hond ontvlooiën en daarnaast ook ongemerkt hun hond ontwormen.

Uit de resultaten komt naar voren dat ook enkele medewerkers van de faculteit diergeneeskunde hun hond ontwormen omwille de gezondheid van hun hond. Dit is een opmerkelijke uitslag, aangezien juist dierenartsen advies over het ontwormen moeten geven. Wanneer zij zelf al uitgaan dat ze ontwormen omwille de gezondheid van de hond in plaats van de volksgezondheid gaat dit ook verkeerd in de communicatie naar de eigenaar toe. Dit geeft aan dat dierenartsen zelf ook meer informatie moeten krijgen over het ontwormregime in Nederland. 1 medewerker ontwormde gelijk met de ontvlooiing met Stronghold®. Hierbij gaf ze aan dat het ontwormen vooral een bijeffect was en dat ze het niet specifiek voor de ontworming gebruikte. Ook hieruit blijkt dat enkele medewerkers van de faculteit diergeneeskunde niet op de hoogte zijn over het ontwormregime in Nederland en de gebruikte middelen.

Ontwormregime:

Het hoofdzakelijke doel van dit onderzoek was om een kritische blik te werpen op het huidige ontwormbeleid. Het ESCCAP geeft als advies om alle honden minimaal 4x per jaar te ontwormen.²⁶ Zij baseren dit aantal op onderzoek gedaan door Sager.¹⁸ Echter, uit dit onderzoek komt juist naar voren dat men dieren minimaal 2x per jaar moet ontwormen. ESCCAP geeft echter geen duidelijke reden waarom men toch voor een frequentie van 4x per jaar heeft gekozen. Wanneer men echter de grootste kans op succes van het verlagen van *T.canis* infecties wil bewerkstelligen, zou men vanuit de pre-patent periode beredeneerd moeten ontwormen. Deze is ongeveer 35-42 dagen.²¹ Dit zou neerkomen op ongeveer 10x per jaar ontwormen. Het zal echter lastig zijn om eigenaren ervan te

overtuigen om 10x per jaar hun huisdier te ontwormen. Vooral het financiële aspect zal hierbij een rol spelen. Daarnaast zien veel diereigenaren niet in waarom zij hun "gezonde" hond zouden moeten ontwormen.

Het onderzoek waarop het advies van ESCCAP gebaseerd is, is een cross section onderzoek. Hierbij komt niet naar voren of negatieve dieren daadwerkelijk continu negatief zijn geweest en blijven. Een longitudinale studie zou meer duidelijkheid kunnen geven en mogelijk tot een ander ontwormadvies kunnen leiden.

Een ander onderzoek¹⁹ gaf aan dat dieren die vaker ontwormd werden ook meer *T.canis* uitscheiden. Ons onderzoek geeft dit ook aan. Maar men zou de conclusie van dit onderzoek moeten omdraaien. Dieren die herhaaldelijk *T.canis* uitscheider zijn moeten ook behandeld worden en worden om die reden vaker ontwormd dan normaal. Dit zorgt voor de gevonden positieve correlatie tussen het frequent ontwormen en de uitscheiding van *T.canis*.

Uit dit onderzoek komt naar voren dat de grootste groep hondeneigenaren hun honden 2x per jaar ontwormd. ESCCAP heeft zijn adviezen pas sinds 2010 gepubliceerd. Voor deze tijd werd het advies gegeven om de honden 2x per jaar te ontwormen. Dit was toen gebaseerd op een onderzoek van Overgaauw.⁷ Veel huisdiereigenaren zijn niet bekend met het ESCCAP en blijven mogelijk om die reden ontwormen volgens het oude beleid. Het is eigenlijk de taak van de dierenarts om eigenaren bekend te maken met het ESCCAP. Het ESCCAP zou zelf ook meer promotie kunnen doen om eigenaren bekend te maken met hun visie op het ontwormen.

Men zou ervoor kunnen kiezen om diagnostiek uit te voeren voor men de honden zou ontwormen. Het ESCCAP geeft dit ook als optie aan voor eigenaren die tegen blind ontwormen zijn. Wanneer men met de prepatent periode rekening houdt, zou men elke maand de feces moeten laten controleren bij de dierenarts. De kosten voor de eigenaar zouden hierdoor aanzienlijk toenemen. Zeker wanneer de dierenarts de feces naar een laboratorium op moet sturen voor het onderzoek. Dit lijkt op deze manier niet haalbaar. Het ESCCAP geeft als optie om de feces minimaal 4x per jaar te laten onderzoeken op wormeieren. Met dit beleid zou men de eventuele doorgemaakte infecties tussendoor kunnen missen. Er is verder onderzoek noodzakelijk om te bepalen of dieren die negatief zijn positief worden op *T.canis*. En daarnaast of deze dieren wanneer ze positief zijn ook zelf weer negatief kunnen worden.

Tijdens dit onderzoek zouden positieve dieren door ons behandeld worden met een ontwormingsmiddel naar onze keuze. Via deze route is er geprobeerd alle dieren gelijk te krijgen om zo de resultaten zo betrouwbaar mogelijk te krijgen. Deze ontwormingstabletten zouden echter niet werkzaam zijn tegen *cystoisospora* spp. Het onderzoek naar *cystoisospora* spp. viel ook buiten het hoofdonderzoek. Dit is de reden dat er niet gekozen is voor een middel die ook werkzaam zou zijn tegen deze parasiet. Aan het einde van het onderzoek was er nog geen sponsor gevonden voor dit onderzoek en was het nog niet duidelijk welk ontwormingsmiddel er uiteindelijk gebruikt zou worden.

Infectie route *T.canis*:

Het fenomeen Barfen (bones and raw food) komt steeds meer voor in Nederland. Eigenaren gaan hun honden meer rauw vlees voeren omdat dit dichterbij de natuurlijke leefomstandigheden van de hond staat. Uit verschillende onderzoeken^{13,14,15} werd de opname van larve vanuit slecht gekookt vlees als risico voor een humane infectie genoemd. Nergens in de onderzoeken is er sprake van harde bewijzen voor deze theorie en is er sprake van een aanname dat besmetting via deze route mogelijk is. Echter zou dit een onlogische route zijn. De larve in het vlees hebben eerder al de prikkel gehad om rond te trekken in het lichaam van het dier waar ze nu ingekapseld zijn. Deze prikkel zou bij directe opname van de larve niet aanwezig zijn. Wanneer men een dergelijk larve op zou

nemen zou deze juist de prikkel moeten krijgen om zich te gaan ontwikkelen tot het volwassen stadia. Toch is de aanname dat de larve na opname alsnog een migratie route door het lichaam aan gaan. Hier kunnen de nodige vraagtekens bij gezet worden en verder onderzoek zou noodzakelijk zijn.

De belangrijkste vorm van besmetting met *T.canis* is de intra-uteriene besmetting van de pups. De mogelijkheid om drachtige teven te ontwormen en zo de besmetting van de foetus en pups te voorkomen is in meerdere studies bekeken. Wanneer we de problemen hier aan zouden pakken zou het grootste deel van de infectie druk al kunnen verdwijnen. Echter is het ontwormen van drachtige teven erg lastig. Er zou met frequente en hoge doseringen gewerkt moeten worden, waardoor er een risico voor de vrucht is. Deze doseringen zorgen echter niet voor 100% vermindering van de somatische larve bij de teef. Daarnaast is uit onderzoek gebleken dat deze behandelmethode in het gunstigste geval 89% van de besmetting met *T.canis* bij puppy's tegen gaat.⁷ De overige puppy's die wel besmet zijn scheiden alsnog zeer grote hoeveelheden eieren uit. Op dit moment wegen de risico's van het ontwormen van de drachtige teven niet op tegen de resultaten.

Conclusie

79.23% van de deelnemende honden is negatief op alle onderzochten endoparasieten in dit onderzoek. Er kan niet met zekerheid gezegd worden dat deze dieren negatief zullen blijven. Er is verder onderzoek noodzakelijk om deze dieren te controleren en te onderzoeken of zij ooit positief zullen zijn voor *T.canis*. Hiermee kan aangegeven worden of er bij de dieren in de leeftijdsgroep > 6 maanden een kleine groep dieren zit die continu bijdraagt aan de infectie druk of dat er toch sprake is van een verspreide patente infectie verdeeld over de gehele populatie. Deze resultaten zullen op langere termijn het huidige ontwormbeleid kunnen beïnvloeden.

Het lijkt dat de grootste groep honden in dit onderzoek nu onnodig ontwormd wordt. Het advies zou op dit moment zijn om honden voor ontwormen te controleren op parasieten via feces onderzoek. Hierdoor kan onnodig ontwormen voorkomen worden.

De onduidelijkheid over de reden van ontwormen bij de eigenaren zal door de dierenarts weggenomen kunnen worden. Wanneer dierenartsen tijdens het consult en bij de verkoop van de ontwormingsmiddelen dit duidelijk aangeeft kan een hoop onduidelijkheid weg genomen worden.

Epiloog

Om meer duidelijkheid te krijgen of het huidige ontwormbeleid in Nederland afdoende is, is verder onderzoek noodzakelijk. Het grote onderzoek waarvan dit onderzoek een klein onderdeel was zal hiervoor doorgezet moeten worden. Ik raad mijn opvolgers aan om meteen vanaf dag 1 op zoek te gaan naar mogelijkheden om meer deelnemers voor het onderzoek te krijgen. Verder is het van groot belang dat men de gebruikte materialen grondig schoonmaakt om contaminatie te voorkomen. Ik wens mijn opvolgers veel succes met het verdere onderzoek en ik hoop dat er veel mooie resultaten zullen volgen.

Ik wil E.R. Nijssen bedanken voor alle hulp en kennis die hij geboden heeft tijdens dit onderzoek. Het was een mooie kans om aan dit onderzoek mee te werken. Het was een leerzaam proces en een zeer prettige samenwerking.

Verder wil ik iedereen op de afdeling van Klinische Infectiologie bedanken voor de fijne samenwerking. Gedurende mijn tijd op de afdeling was er altijd een prettige werksfeer en stond iedereen klaar om hun kennis omtrent dit onderwerp te delen.

1. OVERGAAUW, P.A.M, VAN ZUTPHEN, L., HOEK, D., YAYA, F.O., ROELFSEMA, J., PINELLI, E., VAN KNAPEN, F., KORTEBEEK, L.M., (2009) Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands, *Veterinary Parasitology* **163**: 115-122
2. RAAD VOOR DIERENAANGELEGEHEDEN(2006), Gedeelde zorg, Feiten en cijfers, *forum welzijn gezelschapsdieren*.
3. EL-TRAS, W.F., HOLT, H.R., TAYEL, A.A. (2011), Risk of *Toxocara canis* eggs in stray and domestic dog hair in Egypt, *Veterinary Parasitology* **178**: 319-323
4. KEEGAN, J.D., HOLLAND, C.V.(2010) Contamination of the hair of owned dogs with the eggs of *Toxocara* spp., *Veterinary Parasitology* **173**: 161-164
5. SCHNIEDER, T., LAABS, E.M., WELZ, C.(2011) Larval development of *Toxocara canis* in dogs, *Veterinary Parasitology* **175**: 193-206
6. EPE, C. (2009) Intestinal Nematodes: Biology and Control, *Vet. Clin. Small Anim.* **39**: 1091-1107
7. OVERGAAUW, P.A.M. (1997), Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocarosis in dogs and cats, *Critical reviews in microbiology* **23-3**: 233-251
8. OSHIMA, T.(1961), Influence of pregnancy and lactation on migration of the larvae of *Toxocara canis* in mice, *J. Parasitol.* **47**: 657-660
9. JIN, Z., AKAO, N., OHTA, N.(2008), Prolactin evokes lactational transmission of larvae in mice infected with *Toxocara canis*, *Parasitology International* **57-4**: 495-498
10. FAHRION, A.S., STAEBLER, S., DEPLAZES, P.(2008), Patent *Toxocara canis* infections in previously exposed and in helminth-free dogs after infection with low numbers of embryonated eggs, *Veterinary Parasitology* **152**: 108-115
11. LEWIS, J.W., MAIZELS, R.M.(1993), *Toxocara* and toxocariasis, clinical, epidemiological and molecular perspectives, *Institute of biology and the british society for parasitology*: p11-24
12. LIM, J.H. (2008), Toxocariasis of the liver: visceral larva migrans, *Abdom Imaging* **33**: 151-156
13. OVERGAAUW, P.A.M.(1997), Aspects of *Toxocara* epidemiology: human toxocarosis, *Critical Reviews in Microbiology* **23(3)**: 215-231
14. PINELLI, E., HERREMANS, T. HARMS, M.G., HOEK, D., KORTBEEK, L.M.(2011), *Toxocara* and *Ascaris* seropositivity among patients suspected of visceral and ocular larva migrans in the Netherlands: Trends from 1998 to 2009, *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis* **30**: 873-879
15. DESPOMMIER, D.(2003), Toxocariasis: Clinical aspects, epidemiology, medieval ecology and molecular aspects, *Clinical Microbiology Reviews* **16(2)**: 265-272
16. AZAM, D., UKPAI, O.M., SAID, A., ABA-ALLA, G.A., MORGAN, E.R.(2001), Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae, *Parasitol. Res* published online July 2011
17. SAGER, H., STEINER MORET, CH., GRIMM, F., DEPLAZES, P., DOHERR, M.G., GOTTSTEIN, B.(2006), Coprological study on intestinal helminthes in Swiss dogs: temporal aspects of anthelmintic treatment, *Parasitol. Res.* **98**: 333-338
18. CLAEREBOUT, E., CASAERT, S., DALEMANS, A.C., DE WILDE, N., LEVECKE, B., VERCRUYSSSE, J., GEURDEN, T.(2009), *Giardia* and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium, *Veterinary Parasitology* **161**: 41-46

19. KATAGIRI, S., OLIVEIRA-SEQUIRA, T.C.G.(2010) Comparison of three concentration methods for the recovery of canine intestinal parasites from stool samples, *Experimental Parasitology* **126**: 214-216(=21)
20. DEPLAZES, P., VAN KNAPEN, F.,SCHWEIGER, A., OVERGAAUW, P.A.M.(2011) Role of pet dogs and cats in the transmission of helminth zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis, *Veterinary Parasitology* **182**: 41-53
21. MCTIER, T.L., SIEDEK, E.M., CLEMENCE, R.G., WREN, J.A., BOWMAN, D.D., HELLMANN, K., HOLBERT, M.S., MURPHY, M.G., YOUNG, D.R., CRUTHERS, L.R., SMITH, D.G., SHANKS, D.J., ROWAN, T.G., JERNIGAN, A.D.(2000) Efficacy of selamectin against experimentally induced and naturally acquired ascarid (*Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*) infections in dogs, *Vet Parasitol* **91(3-4)**: 333-345
22. UGA, S., MATSUO, S., KIMURA, D., RAI, S.K., KOSHINO, Y., IGARASHI, K.(2000) Differentiation of *Toxocara canis* and *T.cati* eggs by light and scanning electron microscopy, *Veterinary Parasitology* **92**: 287-294

Boeken:

23. OVERGAAUW, P.A.M., CLAEREBOUW, E., Dierenarts om praktijk: Parasieten bij hond en kat, 1e druk Haarlem 2002 (=20)
24. VAN DUIJKEREN, E., EGBERINK, H.F., HOUWERS, D.J., PLOEGER, H.W., BLANKENSTEIN, B.(2009), Microbiologische laboratoriumdiagnostiek bij hond, kat en paard, *Diergeneeskundig Memorandum*: 31-56
25. PETRIE, A., WATSON, P., Statistics for veterinary and animal science, 1e druk Blackwell Science Ltd 1999

Websites:

26. www.esccap.eu
27. www.parasitologie.nl/index.php?id=1510

Bijlage 1.

U kunt meedoen als:

- Uw hond ouder is dan 6 maanden
- U in de regio Utrecht of Den Haag woont
- U de komende 2 jaar mee wilt werken aan dit onderzoek

Wij vragen van u:

- Elke maand een ontlastingmonster op te sturen van uw hond
- Elke maand online een korte vragenlijst invullen

Wij geven u:

- Gratis ontlastingsonderzoek van uw hond naar wormen
- Gratis ontwormingskuur voor uw hond wanneer deze eitjes uitscheidt
- De kans om mee te werken aan een onderzoek dat kan leiden tot beter onderbouwd gebruik van medicatie bij uw hond en andere gezelschapsdieren

Bent u geïnteresseerd? Stuur dan uw naam en adresgegevens naar onderstaand e-mailadres.

Contactgegevens:

parasietenwijzer@uu.nl
Onder vermelding van:
spiegelwormonderzoek hond



Universiteit Utrecht



Hoe vaak ontwormt u uw hond?

Is uw hond een uitscheider van wormeitjes?



Wormen in het maag-darmkanaal komen veel voor bij honden. Een voorbeeld is *Toxocara canis*, dit is de meest voorkomende spiegelworm bij de hond in Nederland. Deze worm produceert eitjes die via de ontlasting uitgescheiden worden. Honden zonder gezondheidsklachten kunnen deze eitjes ook uitscheiden. Deze eitjes komen in de omgeving en kunnen zo andere honden, maar ook mensen besmetten.

In Nederland is de hond steeds vaker een echt gezinslid. Hierdoor wordt het contact tussen dier en eigenaar steeds intensiever.

Mensen lopen door het intensievere contact meer risico op een besmetting met de spiegelworm. Bij mensen leidt dit bijna nooit tot ziekteverschijnselen.

Wanneer we deze ziekteverschijnselen al zien is dit vaak bij mensen die een minder goede weerstand hebben, zoals oudere mensen en jonge kinderen. De ziekteverschijnselen die dan ontstaan zijn o.a. leverproblemen en oogproblemen. Dit komt echter vrij zelden voor.

Maar iedere besmetting is er één te veel.

Om de uitscheiding van wormeitjes door honden tegen te gaan, kan de hond ontwormd worden. Het standaard advies is om honden 4 keer per jaar te ontwormen. Maar dit gebeurt lang niet altijd. Sommige honden zouden misschien in verband met een hoger risico vaker ontwormd moeten worden, andere honden misschien minder vaak.

Op dit moment loopt er een langdurig onderzoek op de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit van Utrecht naar de uitscheiding van eitjes van deze worm door honden. Via ontlastingmonsters wordt er gekeken naar eventuele eitjes die aanwezig zijn. Met dit onderzoek kijken we of uw hond uitscheider is van de wormeitjes. Daarnaast kijken we of uw hond ontwormd moet worden en wat het effect van de wormkuren is.

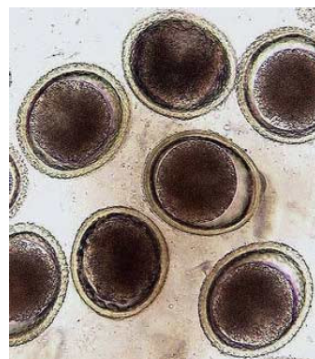


Fig.1: Eitjes van *Toxocara canis* zoals men via een microscoop in de ontlasting kan zien.

U kunt gratis aan dit onderzoek meedoen. Als u een hond heeft die ouder is dan 6 maanden en u in de regio Den Haag of Utrecht woont, komt u in aanmerking voor deelname.

Wij vragen u gedurende 2 jaar elke maand een ontlastingmonster van de hond **gratis** naar ons te sturen met de speciale enveloppen en zakjes die wij u zullen geven. Wij zullen deze ontlastingmonsters onderzoeken op wormen. Mocht uw hond wormeitjes uitscheiden, dan voorzien wij u van een ontwormingskuur voor uw hond. Daarnaast vragen wij u maandelijks een korte vragenlijst via internet in te vullen. Hiermee kijken wij of er iets in de leefsituatie van uw hond veranderd is en wat mogelijk van invloed kan zijn op de uitscheiding van wormeitjes. Op deze manier willen wij in beeld krijgen of uw hond bijdraagt aan de omgevingsbesmetting met wormeitjes.

Bijlage 2.



GRATIS spoelwormonderzoek bij de hond

Een 2 jarig onderzoek naar de spoelworm bij de hond door de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht.

Wij geven:

- . GRATIS ontlastingonderzoek van uw hond naar wormeitjes
- . GRATIS ontwormingskuur voor uw hond wanneer deze eitjes uitscheidt
- . De kans om mee te werken aan een onderzoek dat kan leiden tot beter onderbouwd gebruik van medicatie bij uw hond en andere gezelschapsdieren

U hoeft alleen:

- . Maandelijks een ontlastingmonster van uw hond op te sturen (wij zorgen voor GRATIS verzendmateriaal)
- . Maandelijks een korte enquête online in te vullen

Interesse? Stuur een e-mail naar:
parasietenwijzer@uu.nl
o.v.v Spoelwormonderzoek hond



Universiteit Utrecht



Bijlage 3.

Geachte heer/mevrouw,

Bedankt voor uw deelname aan ons onderzoek. Hierbij ontvangt u het deelname pakket. Hierin vindt u het volgende, dit is genoeg voor 3 maanden voor één hond:

- Plastic zakjes om ontlasting mee op te rapen (er mag ook gebruik worden gemaakt van een ander plastic zakje)
- Plastic containers met deksel (3x)
- Tissues (eigen tissues/ wc-papier mogen ook gebruikt worden)
- Sealbags (3x)
- Enveloppen (3x)



Fig 1: De inhoud van het pakket. Afzonderlijke materialen kunnen afwijken van het plaatje (plastic zakjes niet weergegeven)

Uw deelnamenummer tijdens dit onderzoek is:

Gelieve dit nummer ergens te noteren. Dit nummer dient u tijdens de enquête in te vullen en blijft gedurende het hele onderzoek gelijk. Dit nummer dient u ook te noteren op de zakjes met het ontlastingmonster of het deksel van het betreffende bakje.

Uitleg over de monstername:

Met het plasticzakje pakt u een hoeveelheid van **maximaal 1 golfbal** op. Het zakje knoopt u dicht met zo min mogelijk lucht erin.

Uitleg opsturen monster: (zie fotoserie aan het einde)

- 1) Het zakje met de ontlasting stopt u in de plastic container met deksel erop
- 2) De plastic container wikkelt u in een tissue
- 3) Stop dit in zijn geheel in de sealbag
- 4) De sealbag gaat in de envelop.

Deze stuurt u naar het volgende adres:

Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, Departement Infectieziekten & Immunologie

Toxocara canis uitscheiding bij de hond: Een blik op het huidige ontwormbeleid in Nederland
Drs. A.M.F. Poetoeheena

FD
VMDC (Toxocara canis)
Antwoordnummer 57526
3507 WB Utrecht

Hier hoeft dus géén postzegel op!

Uitleg enquête:

- 1) Via de e-mail ontvangt u van ons de link naar de enquête. De eerste keer zal dit een andere link zijn dan de daaropvolgende keren.
- 2) Volg de stappen van de enquête.
- 3) Wanneer u met meerdere honden deelneemt, kunt u dit tijdens de enquête aangeven.
- 4) De eerste keer zal de enquête circa 20 minuten van uw tijd in beslag nemen. De daarop volgende keren zal de enquête aanzienlijk korter zijn.

Wanneer uw hond ontwormd dient te worden, nemen wij contact met u op. Wij zullen u de ontwormingsmiddelen toesturen. Heeft u meerdere honden, dan geven wij aan welke hond(en) ontwormd dienen te worden.

Bij vragen kunt u te allen tijde contact met ons opnemen via onderstaand e-mailadres o.v.v. Spoelwormonderzoek Hond:
parasietenwijzer@uu.nl

Met vriendelijke groet,

Onderzoeksteam Spoelworm Hond
Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, Departement Infectieziekten en Immunologie

***Toxocara canis* uitscheiding bij de hond:** Een blik op het huidige ontwormbeleid in Nederland
Drs. A.M.F. Poetoeheña

Gebruik van het pakket:



Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, Departement Infectieziekten & Immunologie

Bijlage 4.

Fecesonderzoek – Protocol

1. Materiaal controle. Zeker weten dat deze schoon is, zo niet, herhaaldelijk met heet water behandelen.
 - a. voldoende feces (minimaal 2 gram feces)
 - b. spatel
 - c. vijzel + stamper
 - d. zeef + opvangbuis
 - e. reageerbuis
 - f. centrifuge
 - g. objectglas + dekglasje
 - h. lichtmicroscop
 - i. handschoenen, witte jas, lekkere muziek
2. Met spatel feces uit het plasticzakje en in de vijzelkom scheppen.
3. Koudwater toevoegen
4. Met spatel of stamper de feces met het water mengen zodat er geen fecesbrokken meer aanwezig zijn.
5. Fecessuspensie zeven en opvangen in de opvangbuis.
6. Gezeefde feceswater zwenken en in reageerbuisje overgieten. Goed zwenken, in verband met naar de bodem zinken van eventuele eitjes .
7. Reageerbuisjes in evenwicht in de centrifugeplaatsen (noteren welk monster in welk buisje/ centrifugeplek nr. 1 t/m 8).
8. Centrifuge 1 minuut op 3000 toeren laten draaien.
9. Met een ronddraaiende beweging de buisjes boven de wasbak leeggieten, zodat alleen het sediment achterblijft.
10. Buisjes $\frac{1}{2}$ tot $\frac{3}{4}$ vullen met sucroseoplossing en goed doorroeren met de ronde kant van de spatel, zodat alle sediment goed over de sucroseoplossing verdeeld wordt.
11. Buisjes terug in de centrifuge plaatsen (denk aan nummers)
12. Buisjes bijvullen met sucroseoplossing tot er een meniscus gevormd is.
13. Dekglasjes op de buisjes leggen en zonder luchtbellen goed aandrukken.
14. Centrifuge 2 minuten op 3000 toeren laten draaien
15. Dekglasjes van de buisjes halen en op objectglasjes leggen.
16. Preparaten onder de lichtmicroscop bekijken: scannen op 10x vergroting, voor determinatie kijken bij 40x vergroting. Eitjes opmeten.

Sucroseoplossing – Protocol

1. Materiaal controle. Schoon en voldoende aanwezig
 - a. Kristalsuiker
 - b. Heet water
 - c. Afsluitbare wasbak
 - d. Plastic kan
 - e. Lepel
 - f. Weegschaal
 - g. 250 ml buis
 - h. dichtheidsmeter
2. Wasbak vullen met heet water.
3. 324 gram suiker afwegen
4. 250 ml heet water afmeten
5. Suiker en water mengen in de kan. De kan tot ongeveer de helft in het hete water houden en roeren tot er geen suikerkorreltjes meer zichtbaar zijn.
6. Oplossing nameten. Moet een dichtheid van meer dan 1.28 g/m³ hebben.

Toxocara canis uitscheiding bij de hond: Een blik op het huidige ontwormbeleid in Nederland
 Drs. A.M.F. Poetoeheena

Bijlage 5.

Uitslagen waarmee gerekend is:

	Nega-tief	<i>Toxocara canis</i>	<i>Trichuris</i> spp.	<i>Capillaria</i> spp.	strongylus type	<i>Cystoisospora</i> spp.	Totaal
Utrecht	17	1	1	0	1	2	22
Asiel Utrecht	14	0	2	0	0	0	16
Den Haag	28	0	2	0	4	5	39
Overige regio's	34	2	0	3	1	4	44
Jachtvereniging Soestdijk	14	0	6	0	3	0	23
Totaal	107	3	11	3	9	11	144
Prevalentie	74,31%	2.08%	7.64%	2.08%	6.25%	7.64%	

Expected value vanuit de uitslagen berekend:

toxocara E	Trichuris E	Capilaria E	Strongylus E	cysto- isospora E
0,458333333	1,680555556	0,458333333	1,375	1,680555556
0,333333333	1,222222222	0,333333333	1	1,222222222
0,8125	2,979166667	0,8125	2,4375	2,979166667
0,916666667	3,361111111	0,916666667	2,75	3,361111111
0,479166667	1,756944444	0,479166667	1,4375	1,756944444

P value via de χ^2 test

P value Toxocara	P value Trichuris	P value Capilaria	P value Strongylus	P value Cysto- isospora
0,820054374	0,925001738	0,94099285	0,918798417	0,896646526
0,495759277	0,549409366	0,62527012	0,541335625	0,692503227
0,364526831	0,476860079	0,44299824	0,002947991	0,004009477
0,031297375	0,053337248	3,0384E-06	6,54001E-49	0
0,005459221	0,006737626	3,9024E-09	9,9576E-107	0

Toxocara canis uitscheiding bij de hond: Een blik op het huidige ontwormbeleid in Nederland
 Drs. A.M.F. Poetoeheena

P value volgens Petrie et al.

df	Two-tailed <i>P</i> -value						
	0.500	0.250	0.100	0.050	0.025	0.010	0.001
1	0.45	1.32	2.71	3.84	5.02	6.63	10.83
2	1.39	2.77	4.61	5.99	7.38	9.21	13.82
3	2.37	4.11	6.25	7.81	9.35	11.34	16.27
4	3.36	5.39	7.78	9.49	11.14	13.28	18.47
5	4.35	6.63	9.24	11.07	12.83	15.09	20.52
6	5.35	7.84	10.64	12.59	14.45	16.81	22.46
7	6.35	9.04	12.02	14.07	16.01	18.48	24.32
8	7.34	10.22	13.36	15.51	17.53	20.09	26.12
9	8.34	11.39	14.68	16.92	19.02	21.67	27.88
10	9.34	12.55	15.99	18.31	20.48	23.21	29.59
11	10.34	13.70	17.28	19.68	21.92	24.72	31.26
12	11.34	14.85	18.55	21.03	23.34	26.22	32.91
13	12.34	15.98	19.81	22.36	24.74	27.69	34.53
14	13.34	17.12	21.06	23.68	26.12	29.14	36.12
15	14.34	18.25	22.31	25.00	27.49	30.58	37.70
16	15.34	19.37	23.54	26.30	28.85	32.00	39.25
17	16.34	20.49	24.77	27.59	30.19	33.41	40.79
18	17.34	21.60	25.99	28.87	31.53	34.81	42.31
19	18.34	22.72	27.20	30.14	32.85	36.19	43.82
20	19.34	23.83	28.41	31.41	34.17	37.57	45.32
21	20.34	24.93	29.62	32.67	35.48	38.93	46.80
22	21.34	26.04	30.81	33.92	36.78	40.29	48.27
23	22.34	27.14	32.01	35.17	38.08	41.64	49.73
24	23.34	28.24	33.20	36.42	39.36	42.98	51.18
25	24.34	29.34	34.38	37.65	40.65	44.31	52.62
26	25.34	30.43	35.56	38.89	41.92	45.64	54.05
27	26.34	31.53	36.74	40.11	43.19	46.96	55.48
28	27.34	32.62	37.92	41.34	44.46	48.28	56.89
29	28.34	33.71	39.09	42.56	45.72	49.59	58.30
30	29.34	34.80	40.26	43.77	46.98	50.89	59.70
40	39.34	45.62	51.80	55.76	59.34	63.69	73.40
50	49.33	56.33	63.17	67.50	71.42	76.15	86.66
60	59.33	66.98	74.40	79.08	83.30	88.38	99.61
70	69.33	77.58	85.53	90.53	95.02	100.42	112.32
80	79.33	88.13	96.58	101.88	106.63	112.33	124.84
90	89.33	98.64	107.56	113.14	118.14	124.12	137.21
100	99.33	109.14	118.50	124.34	129.56	135.81	149.45