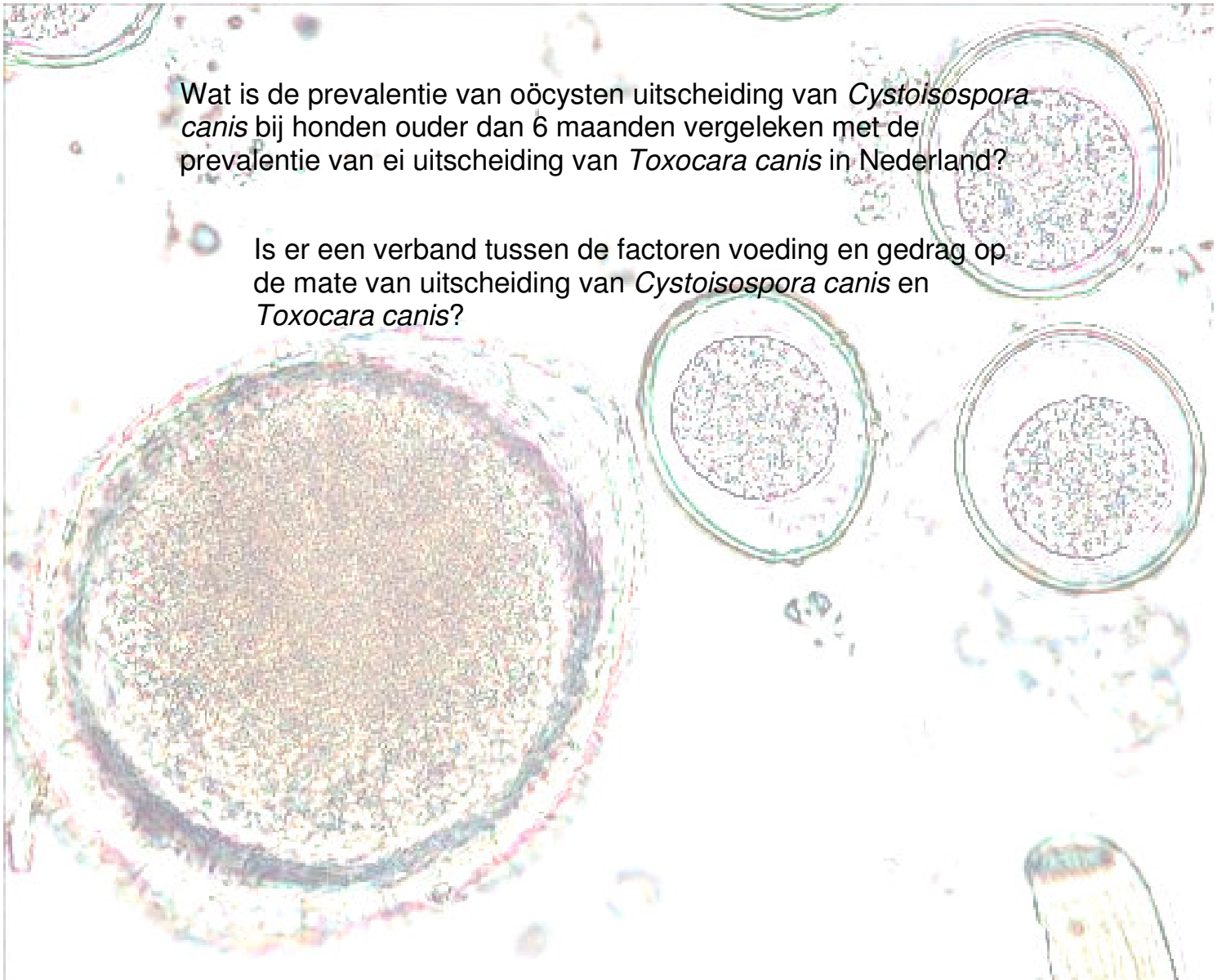


Cystoisospora canis en *Toxocara canis*

Wat is de prevalentie van oöcysten uitscheiding van *Cystoisospora canis* bij honden ouder dan 6 maanden vergeleken met de prevalentie van ei uitscheiding van *Toxocara canis* in Nederland?

Is er een verband tussen de factoren voeding en gedrag op de mate van uitscheiding van *Cystoisospora canis* en *Toxocara canis*?



Onderzoeksstage Diergeneeskunde Universiteit Utrecht
Drs. J.A. Rauw
0352586

6 juni – 9 september 2011

Project begeleider: Drs. E.R. Nijse

Inhoud	pagina
Samenvatting	2
Abstract	2
Inleiding	3
<i>(Cysto)Isospora canis</i>	3
• Levenscyclus	3
• Diagnostiek	5
• Prevalentie	5
• Behandeling en preventie	6
<i>Toxocara canis</i>	8
• Levenscyclus	8
• Diagnostiek	10
• Prevalentie	10
• Behandeling en preventie	11
Hypothese/ Doel van het onderzoek	12
Materiaal en methoden	14
Deelnemers	14
Enquête	14
Fecesonderzoek	15
GLIMS	16
Analyse van resultaten	16
Resultaten	17
Deelnemers	17
Fecesonderzoek	17
Risicofactoren	18
GLIMS	24
Discussie	25
Prevalentie	25
Risicofactoren	26
Populatie	26
Vervolg onderzoek	26
Conclusie	27
Referenties	28
Bijlage I: Folder (pdf)	
Bijlage II: Welkomstbrief deelnemerspakket (pdf)	
Bijlage III: protocollen fecesonderzoek	
Bijlage IV: Volledige enquête 1 ^e keer (screening) (pdf)	
Bijlage V: Verkorte enquête (eenmalige deelname) (pdf)	
Bijlage VI: brieven die verstuurd zijn (werving)	

Samenvatting

Het doel van dit onderzoek was het verzamelen van gegevens over de endoparasieten *Cystoisospora canis* en *Toxocara canis* in volwassen honden in verschillende regio's van Nederland. Een poging werd gedaan om correlaties te vinden tussen mogelijke risicofactoren en het uitscheiden van oöcysten en eieren in de feces van deze honden.

Tussen 6 juni en 9 september 2011 werden 135 fecesmonsters verzameld van huisgehouden-, asiel- en jachthonden in de regio's Utrecht en Den Haag. Geen enkel monster bevatte *C. canis* en in totaal 3 waren positief op *T. canis*, waardoor respectievelijk een prevalentie van 0% en 2,22%.

Vanwege de te kleine steekproef kon geen correlatie worden bepaald tussen de prevalenties en de risicofactoren van vrij los lopen tijdens het uitlaten, vangen van prooidieren, eten van de grond en het eten van rauw vlees. De verwachting dat bij een deels ontwormde populatie de prevalentie van *C. canis* boven die van *T. canis* uit zou komen onder vergelijkbare omstandigheden is niet uitgekomen.

Vervolgonderzoek is nodig om voldoende gegevens te vergaren voor relevante uitspraken.

Abstract

The objective of this study was to obtain data on the prevalence of the intestinal parasites *Cystoisospora canis* and *Toxocara canis* in adult dogs in different regions of the Netherlands. An attempt was made to find a correlation between potential risk factors and the shedding of oöcyst and eggs in the feces of these dogs.

Between June the 6th and the 9th of September 2011, 135 fecal samples were collected from household-, shelter- and huntingdogs in the region of Utrecht and The Hague. None of which were positive for *C. canis* and a total of 3 were positive for *T. canis*, giving us a local prevalence of 0% (BI) and 2.22% (BI) respectively.

Because of the small sample size, no correlation could be found between the prevalences and risk factors such as walking off-leash, catching prey, eating of the ground and eating raw meat. The expectation that in a partially dewormed population the prevalence of *C. canis* would be higher than *T. canis*, didn't come true.

Follow-up research will be necessary to gain enough data to make significant statements.

Inleiding

Hieronder volgen achtereenvolgens de achtergrond van *Cystoisospora canis* en *Toxocara canis*, twee parasieten uit verschillende groepen, maar met vergelijkbare eigenschappen.

(Cysto)isospora spp.¹

Isospora spp. zijn protozoaire parasieten van het darmkanaal die ziekte kunnen veroorzaken bij verschillende diersoorten, inclusief de mens. Voor zover gerapporteerd zijn deze diersoort-specifiek en dus ook niet zoönotisch. Enkele soorten echter, waaronder *Cystoisospora canis*, kunnen in hun cyclus gebruik maken van een paratenische gastheer, welke zijn aangetoond bij verschillende zoogdieren. Daardoor is het theoretisch mogelijk dat ook de mens deze rol kan vervullen. Dat maakt het des te interessanter om te weten wat de cyclus van deze *Cystoisospora* is en hoeveel deze bij onder andere honden in Nederland voorkomt, zonder het bestaan van een systematische bestrijding zoals bij wormen als *Toxocara canis* wel het geval is.

Er zijn verschillende *(Cysto)isospora* spp die honden kunnen infecteren, namelijk *C. canis*, *I. ohioensis*, *I. burrowsi* en *I. neorivolta*.²

C. canis produceert de grootste oöcysten van de *Isospora* spp. bij de hond en is daarmee de enige die gediagnosticeerd kan worden door microscopisch onderzoek van oöcysten.² De overige soorten hebben kleinere oöcysten. Omdat deze niet van elkaar kunnen worden onderscheiden op basis van de oöcysten en omdat *I. ohioensis* als eerst benoemd is, worden deze samen tot het *I. ohioensis*-complex gerekend.^{3 4}

Ziekte met betrokkenheid van *Cystoisospora canis* (syn. *Isospora canis*) komt vooral voor bij jonge honden en honden met een verlaagde immuuncompetentie.^{4 5 6}

Levenscyclus^{3 7 8}

De vermeerderingscyclus van *(Cysto)isospora* spp. begint bij de ingestie van infectieuze gesporuleerde oöcysten (sporocysten) uit de omgeving. Onder invloed van warmte en gal komen in de darm de sporozoïten vrij die het epitheel van de darm invaderen.⁴

In de hond ontwikkelt *C. canis* zich in cellen in de lamina propria van het duodenum, jejunum, ileum, een enkele keer in het colon, maar voornamelijk in het laatste 1/3^e gedeelte van de dunne darm.⁷

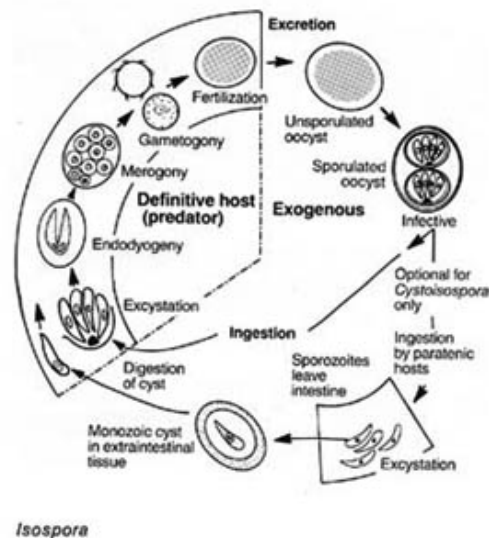
Intracellulair vermenigvuldigen de coccidiën zich door een aantal asexuele cycli tot multinucleaire schizonten, waaruit merozoïten vrijkomen. Welke opnieuw darmepitheelcellen indringen. Hieruit ontwikkelen zich nieuwe schizonten of ontstaan er geslachtelijke stadia, waaruit micro- en macrogameten ontwikkelen. Het aantal asexuele stadia is een maat voor darmbeschadiging. Hierin verschilt *C. canis* met leden van het *I. ohioensis* complex, door een extra asexuele deling. *C. canis* levert zo per cyclus relatief meer schade op.

Door onderlinge bevruchting ontstaat een zygote die na vorming van een dikke wand als oöcyste de gastheerepitheelcel verlaat en wordt uitgescheiden met de feces.⁹

Het oöcysten stadium is een zeer resistent stadium en komt via de feces in de omgeving terecht. De meeste oöcysten worden ongesporuleerd uitgescheiden en moeten buiten de gastheer sporuleren om infectieus te worden (wat binnen enkele dagen kan plaatsvinden).⁴

Figuur 1:
<http://www.vet.uga.edu/VPP/clerk/Sheridan/index.php>

De prepatentperiode is 9 - 11 dagen. De duur van de patente periode is gevonden op 7 - 18 dagen, maar ook 4 weken.^{5 10}



Na een eerste infectie volgt een zekere immuniteit. In een klinische onderzoeksomgeving was het niet mogelijk om honden opnieuw een patente infectie te laten doormaken.

Er is geopperd dat stresssituaties een klinische infectie kunnen verergeren, maar ook deze zijn bij jonge dieren meer waarschijnlijk (bijvoorbeeld spenen en een nieuwe eigenaar).⁹

Isospora spp. kunnen hun cyclus in één gastheer volbrengen. Enkele soorten (waaronder *C. canis*) hebben zich zo ontwikkeld dat ze in hun ontwikkeling een paratenische gastheer kunnen gebruiken (zoals knaagdieren, herkauwers, paarden en varkens). Door opname van gesporuleerde oocysten (sporocysten) kunnen paratenische gastheren zich infecteren. In deze gastheren vormen zich extraintestinale weefselcysten, vandaar de voorgestelde naamsverandering naar *Cystoisospora canis*.¹¹

Extra-intestinale stadia van *Cystoisospora* spp. zijn aangetoond in o.a. mesenteriale lymfeknopen van deze paratenische gastheren.⁵ Weefsels als de milt, lever en skeletspieren worden soms aangedaan. Ook in de hond kunnen zich cystes vormen.³ In die weefsels kunnen de sporozoiten zich ontwikkelen in monozyote cysten met een dikke wand van granulaire materiaal.¹² Tijdens de dracht en zoogperiode kunnen deze terugkeren naar de darm en zo voor infectie van de pups zorgen.⁹ Veel is hierover echter nog niet duidelijk en onderzoek wordt minder uitgevoerd, bij gebrek aan een bewezen zoönotisch belang.

Door opname van de paratenische gastheer kan een patente infectie ontstaan bij de hond. Deze infectieroute kent hiermee enige overeenkomst met die van *T. canis* die hierna besproken zal worden.

De prepatente periode van cyste-geïnduceerde infecties is korter (4-7 dagen¹³) en de klinische verschijnselen van cystoisosporose is minder ernstig dan die door ingestie van gesporuleerde oöcysten.

Lichte infecties verlopen meestal symptomloos, maar bij zware besmetting van jonge dieren is sterfte mogelijk. De patente periode na infectie door een paratenische gastheer is gevonden tot meer dan 24 dagen¹³.

Klinische klachten die bij honden kunnen optreden zijn te verklaren met de levenscyclus van de parasiet. Microscopische laesies als milde villus atrofie, dilatatie van lymfevaten en hyperplasie van lymfeknopen in Peyerse platen.⁵

Diagnostiek

Door middel van een flotatiemethode kunnen oöcysten in de feces worden aangetoond. Hierbij wordt een suikeroplossing aangeraden^{3 5}

De identificatie van de parasiet gebeurt op basis van het gesporuleerde oöcysten stadium: grootte, vorm, kleur, textuur en type inhoud.

Op basis van microscopisch onderzoek kan *Cystoisospora canis* gediagnosticeerd worden door het vinden van oöcysten.¹⁰ Deze is de grootste van de *Isospora* spp die voorkomen bij de hond. (>33µm). Afmetingen 33.6 – 39.5 (gem. 37.2) x 27.6 – 33.6 (gem. 30.9).^{13 14} *C. canis* vormt ovale oöcysten. Micropyles en oöcyst residuum zijn afwezig.⁵

Gesporuleerde oöcysten van *Isospora* spp. zijn herkenbaar door het hebben van twee sporocysten. Elke sporocyst bevat vier sporozoiten. Sommige sporocysten hebben een Stieda lichaam (eiwitachtige plug aan een kant van de sporocyst). Er is geopperd dat *Isospora* spp. zonder plug, paratenische gastheren kunnen gebruiken. Dit is onder andere het geval bij *C. canis*.³

Passanten

Honden staan bekend om het eten van feces van andere honden/diersoorten. Het is dus goed mogelijk om oöcyst-passanten van andere honden in een fecesmonster tegen te komen. Daarnaast komen *Eimeria* spp van herkauwers, konijnen en knaagdieren veel voor, bij sporulatie vormen deze vier sporocysten.¹⁵

Prevalentie

Bij het nagaan van de prevalentie is het een probleem dat in veel studies geen onderscheid wordt gemaakt in (*Cysto*)*isospora canis* en het *Isospora ohioensis* complex. Deze worden meestal samen genoemd als (*Cysto*)*isospora* spp. Het voorkomen van *C. canis* is in Nederland niet systematisch onderzocht.⁹

In verschillende studies (met honden met verschillende groepskenmerken) zijn grote verschillen in prevalentie gevonden. 3 – 83% van de onderzochte honden werden daarin positief bevonden op oöcysten van *Isospora* spp.³. Er moeten dus factoren zijn die bepalen of een hond een patente infectie ontwikkeld. Leeftijd is daar een belangrijke van.

Als naar leeftijd wordt gekeken wordt duidelijk dat hoe ouder dieren zijn, hoe lager de prevalentie wordt (<2% bij dieren ouder dan 6 maanden)¹⁶. Bij zwervhonden kan deze aanzienlijk hoger liggen (>12,8%).¹⁷

In studies is het niet mogelijk gebleken om puppies na een 1^e *challenge* of veldinfectie met *Cystoisospora canis*, opnieuw een patente infectie te laten doormaken.⁷ Het lijkt erop dat bij deze dieren na een infectie te hebben meegemaakt, meestal op jonge leeftijd, een sterke immuniteit werd opgewekt, zodanig dat sporocysten zich niet meer in de darmwand kunnen vermeerderen. Het meeste onderzoek naar coccidiose richt zich daarom vooral op jonge dieren.

Echter worden in populatie-survey's ook volwassen honden gevonden die oöcysten in de feces uitscheiden.^{18 19}

Als naar klinisch zieke dieren wordt gekeken kan de prevalentie hoger zijn dan bij andere (gezonde) groepen. Voor *Cystoisospora* spp is bijvoorbeeld in Japan een prevalentie bij privé gehouden honden ouder dan 6 maanden van 0,05% gevonden. Bij dieren met klinische klachten was deze 4,7%¹⁹.

Bij mensen is bekend dat AIDS patiënten en andere immuundeficiënte individuen vatbaarder zijn voor bijvoorbeeld (*Cysto*) *Isospora belli*. *Isospora* wordt hier als een van de belangrijkste opportunistische intestinale parasieten gezien.^{20 21}

Zayed (1998) heeft bij jonge honden (van 4 – 6 maanden leeftijd) door het voeren van paratenische gastheren (varken, ezel en buffel) patente infecties met *C. canis* kunnen opwekken.¹³ Helaas is dit onderzoek niet herhaald toen de honden volwassen waren.

De oöcysten zijn zeer resistent tegen omgevingsinvloeden, daarom zou het te verwachten zijn dat de grond in Nederland een bepaalde mate van infectiedruk levert. Voor Nederland is dit onbekend.²²

In België is bij huisgehouden honden een prevalentie van 2% gevonden.

Als ook op leeftijd wordt gekeken naar honden ouder dan 1 jaar, is ongeveer 1% uitscheider van *Isospora* spp oöcysten, voor *Isospora canis* zijn geen harde cijfers gegeven.¹⁴

Behandeling en preventie

De significantie van diaree veroorzaakt door coccidia in honden is onduidelijk, waardoor de behandeling niet vanzelfsprekend is³.

Met anthelmithica wordt deze parasiet niet bestreden en wordt dus niet automatisch mee-bestreden met de routinematige bestrijding van *Toxocara canis* (zie verder).

Aangezien infecties bij honden vaak asymptomatisch verlopen en er op dit moment geen aanwijzingen zijn en geen onderzoek is gedaan naar een mogelijk zoönotisch potentieel, is tegen deze parasiet geen preventief beleid opgezet. Daarnaast zou het belang van een vroege infectie van belang zijn voor een latere immuniteit. Over het algemeen is coccidiose zelf limiterend en veel pups herstellen zonder therapie.¹⁰

Kennels en asielen nemen een aparte plaats door hun groeps karakter met de mogelijkheid van het opbouwen van een hoge infectiedruk in combinatie met gevoelige dieren (pups).

Omdat oöcysten eerst moeten sporuleren voordat ze infectieus zijn, is verwijdering van feces uit de omgeving vóórdat dit gebeurt, de makkelijkste bestrijding. Hiermee wordt voorkomen dat een infectiedruk opgebouwd wordt. Daarnaast is het schoonmaken van materiaal met stoom of heet water en zeep en eventueel gebruik van chemische componenten mogelijk, hoewel oöcyten hier ook niet volledig mee worden verwijderd.^{4 23}

Behandeling van jonge dieren vermindert de intensiteit en de duur van de oöcyst uitscheiding.¹⁴ Besmetting van de omgeving en andere pups wordt zo verminderd. Hiervoor zijn verschillende anticoccidia op de markt⁸¹⁰. Een van de nieuwe middelen combineert een ontwormingsmiddel met een anticoccidia.^{4 24 25} In settings met een hoge infectiedruk en een lage hygiëne standaard geeft een systematische bestrijding een vermindering van klinische klachten.⁶

Toxocara canis^{26 27}

Toxocara canis is een belangrijke spoelworm van de hond, welke in hondenpopulaties wereldwijd voorkomt en voornamelijk bij jonge honden tot patente infecties leidt. Behalve de hond zijn andere caniden eindgastheer en kunnen andere diersoorten als paratenische gastheer dienen, waaronder de mens.^{16 26 28 29}

Toxocarosis/Toxocariasis (verzamelnaam voor infectie met *T. canis* en *T. cati*) is een van de meest voorkomende zoönotische infecties wereldwijd.^{28 30} Hoewel infecties vaak symptomeloos verlopen zijn er een aantal klinische syndromen die onderverdeeld zijn in het zogenaamde viscerale larva migrans (VLM, systemisch) en oculaire larva migrans (OLM, betrokkenheid van oog en oogzenuwen). Wat de effecten zijn hangt af van infectiedruk, plaats van de larvale migratie en ontstekingsreacties van de gastheer.

Vooraf omdat het een bewezen zoönose is, zijn er veel onderzoeken gedaan op het gebied van infectieroutes, ontwikkeling en migratieroutes in de gastheer, uitscheiding en prevalentie. Duidelijk meer onderzoek in tegenstelling tot *Cystoisospora canis* en andere infecties die de mens niet treffen.

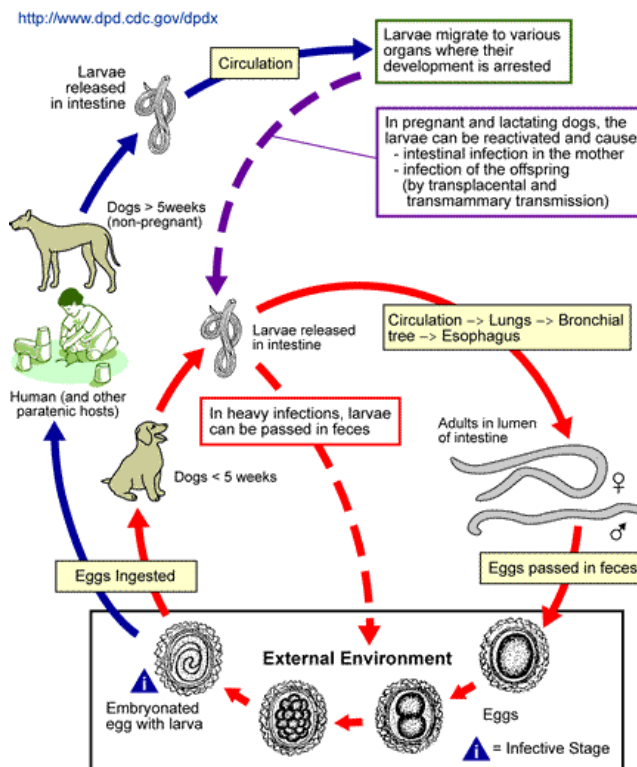
De verworven kennis wordt voornamelijk gebruikt om de mogelijkheden tot bestrijding te optimaliseren, waarbij bewustwording van eigenaren een rol speelt.^{26 31}

Levenscyclus

Honden kunnen een infectie met *T. canis* op verschillende manieren oplopen: orale opname (eitjes), orale opname van paratenische gastheren (larvale stadia), prenataal en lactogeen.^{26 30}

Orale opname van ongeëmbryoneerde eieren:
Eieren worden met de feces uitgescheiden. In het ei wordt in minimaal 9-15 dagen het infectieuze larvale stadium (L3) bereikt, maar deze periode is vaak langer en het eitje kan langer dan een jaar infectieus blijven.

Na opname door de eind- of paratenische gastheer komen de eitjes uit en de larven dringen door de mucosa van de darmen. Hierna invaderen de larven lymfevaten en migreren naar de mesenteriale lymfeknopen. Daarna komen ze via veneuze capillairen en via de portale circulatie in de



lever terecht. Vanuit de lever reizen ze via de vena cava naar het hart, om zo met de arteria pulmonalis uit te komen in de longen.
Larven die vast blijven zitten in capillairen, blijven in de lever achter.

Vanuit de long zijn er twee routes voor de larve: 1) penetratie van de alveoliwand en migratie via bronchioli en trachea naar de pharynx, waar ze worden doorgeslikt. Hierdoor komen de larven weer in het maagdarmkanaal, waar ze volwassen worden (L5) en de cyclus voortzetten. 2) terug naar de bloed circulatie, waar ze zich verspreiden over somatische weefsels (larva migrans). Vaak naar skeletspieren, nieren, lever en centraal zenuwstelsel. Bij paratenische gastheren zijn vaak de hersenen en de ogen aangetast.³²

Uit onderzoeken is geconcludeerd dat in de eindgastheer vanaf 3 maanden leeftijd de kans op somatische migratie toeneemt en die op tracheale migratie afneemt. Hierbij wordt het vermogen tot vormen van volwassen wormen kleiner. Dit wordt de leeftijdsresistentie tegen *T. canis* genoemd. Deze is tegen L3, niet L4.

In contrast met de genoemde leeftijdsresistentie, blijkt het onder klinische omstandigheden wel mogelijk om met een lage infectiedosis bij jongvolwassen honden (9 - 16 maanden leeftijd) een patente infectie te ontwikkelen³³.

Prenatale infectie: De epidemiologisch gezien belangrijkste manier van infectie is die via de moeder, bijna 100% van de pups worden hierdoor geïnfecteerd. Dit gebeurt door reactivatie van larven uit de somatische migratie van een eerdere infectie, maar mogelijk ook door een actuele infectie van de drachtige teef. Er is geopperd dat het immunosuppressieve effect tijdens de dracht de migratie van weefsel-larven mogelijk maakt. Afhankelijk van het tijdstip van de infectie migreren larven direct naar de foetus of blijven in het somatische weefsel tot op zijn vroegst dag 42 van de dracht. De larven migreren naar de lever van de pups, waar ze blijven tot aan de geboorte, om daarna via tracheale migratie volwassen te worden.

Lactogene infectie: Minder massaal dan de prenatale infectie, maar door de lange periode mogelijk wel bijdragend aan de infectiedosis, is de lactogene infectie. Een paar dagen na de partus kunnen larven in de melk worden gevonden, tot zeker een maand later.

Periparturiente infectie: Het is mogelijk dat teven geïnfecteerd kunnen worden door jonge larven (L4) uit de feces van de pups. Aangezien er geen leeftijdsresistentie tegen dit stadium is, kunnen deze larven zich in de darmen direct in L5 ontwikkelen. Een andere mogelijkheid is, dat teven eitjes opeten van de uitscheiding uit pups, en deze zelf onveranderd weer uitscheiden (passanten). Verder is het mogelijk dat een periparturiente immunosuppressie ervoor kan zorgen dat larven in weefsels van de teef, of nieuw opgenomen larven, een tracheale migratie kunnen maken. Hierbij wordt prolactine secretie als factor genoemd.

Een infectie verloopt bij de hond vaak symptomloos, maar bij bijvoorbeeld pups kan een ernstige infectie tot sterfte leiden. De verschijnselen zijn dan te

herleiden tot de migratieroute van de larven en locatie van de volwassen wormen.

Paratenische infectie: Wanneer een hond een paratenische gastheer opeet, krijgt de hond direct larven in het maagdarmkanaal. In de paratenische gastheer zijn geëmbryoneerde eieren ontwikkeld tot larven, maar kunnen niet volwassen worden en zijn via somatische migratie in de weefsels (zoals spieren) terecht gekomen.³⁴ Larven kunnen in paratenische gastheren (jaren) lang in leven blijven, zelfs in bevroren karkassen (maanden).²⁸ Na opname van de paratenische gastheer, hoeven de larven alleen nog maar volwassen te worden om eitjes te kunnen produceren. Daarvoor is in dit geval niet altijd een tracheale migratie nodig, waardoor mogelijk de leeftijdsresistentie geen effect heeft. De prepatent periode kan normaal, maar ook verkort zijn.

Zoönose:²⁹ Mensen kunnen oraal eitjes op uit de omgeving opnemen, bijvoorbeeld uit de zandbak of op ongewassen groenten. Rauw vlees wordt ook aangemerkt als bron, maar dit zijn larven, waarvan onbekend is of deze tweemaal een trektocht maken (in twee verschillende paratenische gastheren).

Meestal blijven de infecties symptomloos, maar een aantal syndromen kunnen permanente oculaire of neurale schade veroorzaken³⁵. Voornamelijk jonge kinderen worden geïnfecteerd en bij deze groep zijn de larva migrans verschijnselen vaak ernstiger dan bij volwassenen^{29, 36}. Op basis van antilichaam onderzoek wordt de seroprevalentie in de humane populatie geschat tussen 2%-19% in volwassenen en 5%-23% in kinderen, maar veel verschillen worden gevonden in verschillende studies.^{28, 30} In Nederland lag dit tussen 4%-15% in mensen onder 30 jaar leeftijd en 30% in mensen boven 45 jaar leeftijd.²⁹

Diagnostiek

Voor het vaststellen van *Tocoxara canis* eieren in de feces wordt dezelfde methode gebruikt als voor *C. canis*.

T. canis eieren zijn ongeëmbryoneerd, rondachtig, met een dikke, gekartelde (pokdalige) wand met een grootte van 90 x 75 µm. De kleur van de schaal is wisselend van kleurloos tot geelbruin (afhankelijk van galkleurstoffen in de wand).³⁷

Prevalentie

Wereldwijd is zijn er grote verschillen in prevalentie. Verschillen in gevonden prevalenties zijn daarnaast vaak slecht te vergelijken, aangezien de bemonsterde populaties van elkaar verschillen. De wereldwijde prevalentie lijkt te liggen tussen de 96%-100% bij pups (hoogste prevalentie bij dieren tussen 2 weken en 2 maanden leeftijd) en 3-81% in volwassen honden.²⁸ Hoewel recenter ook lagere waarden worden geconstateerd (0,4% bij honden ouder dan 6 maanden)¹⁹

In Nederland en België lijkt de prevalentie van patente infecties met *T. canis* bij huisgehouden honden (inclusief pups), op basis van survey's gedaan door Overgaauw (1997 en 2008) en Claerebout (2005), tussen de 3-5% te liggen^{23, 38}

Bij zwerfende caniden (vossen, zwerfhonden) zijn in het verleden prevalenties van meer dan 70% geconstateerd^{33, 39 17}.

Vossen leven voor een groot deel van de vangst van kleine zoogdieren die in het wild leven. De opname van paratenische gastheren is voor deze dieren dus ook een stuk groter.

Tegenwoordig krijgen sommige huisgehouden honden hier ook meer van binnen. In Nederland probeert een groeiend aantal hondeneigenaren hun honden te voeren zoals ze dat in de natuur zouden krijgen. Met onder andere rauwe stukken vlees en bot. Het “Bone And Raw Food” of “Biologically Appropriate Raw Food” principe. Gezien het voorgaande over paratenische gastheren, zou dit een risico op een patente infectie bij huisgehouden honden met zowel *C. canis* als *T. canis* kunnen vergroten.³⁴

Voor de omgevingsgrond hangt de besmettingsgraad vooral af van de hoeveelheid uitscheidende dieren, de grondsoort en blootstelling aan zonlicht⁴⁰.

Wereldwijd ligt deze voor *Toxocara* spp. tussen de 10%-30%. De besmettingsgraad van de grond in Nederland is onbekend.

Bestrijding en preventie

Doordat eieren in de omgeving zeer lang infectieus kunnen blijven (> jaar), honden zich kunnen her-infecteren en opnieuw een patente infectie kunnen doormaken, is bestrijding lastig. De eieren zijn zeer resistent en kunnen worden behandeld met UV licht, jodium oplossing en hoge temperaturen.

De makkelijkste manier van bestrijding is een strikte hygiëne. Als hondenfeces direct na uitscheiding uit de omgeving wordt gehaald, is het niet mogelijk dat eitjes zich kunnen ontwikkelen en het infectieuze stadium door andere dieren wordt opgenomen. Dit doorbreekt de levenscyclus van *T. canis*. Dit is voor wilde caniden natuurlijk niet mogelijk. Daarom zal er een infectiedruk blijven bestaan waar deze dieren leven.

Een andere manier van bestrijden is het gebruik van anthelminthica op basis van een schema of op basis van een periodiek fecesonderzoek.⁴¹

Omdat deze niet preventief is voor een patente infectie en eitjes macroscopisch niet zichtbaar zijn in de feces, is het zonder fecesonderzoek moeilijk te zeggen wanneer een hond behandeld moet worden. Er is op dit moment alleen een pragmatische consensus over de frequentie van het gebruik van deze middelen, namelijk 4 keer per jaar voor volwassen dieren. Voor pups wordt een ontwormingsschema aangehouden.^{24 32 42} Theoretisch zou een continue anthelmintica behandeling binnen de prepatente periode van *T. canis* (maandelijks) een absolute zekerheid moeten geven³³. Er is echter een positieve associatie gevonden tussen het aantal *Toxocara* eieren in de feces en het aantal keer ontwormen. Het is onduidelijk hoe deze tot stand is gekomen, aangezien eigenaren niet kunnen zien of hun hond een patente infectie heeft²³.

Doel van het onderzoek

De prevalentie van parasieten is niet onveranderlijk en gebaseerd op dynamische omgevings-, gastheer- en parasiet gerelateerde factoren.³⁶ Een factor die in veel survey's duidelijk naar voren komt is de leeftijd van de hond. Honden onder de 6 maanden hebben significant vaker een infectie met *C. canis* en *T. canis*. Omdat deze categorie dieren bekend is en de factoren die hier een rol in spelen, is het belangrijk om buiten deze groep de factoren van infectie te onderzoeken.

Met dit huidige onderzoek kan worden aangetoond dat volwassen honden met overeenkomstige risicofactoren met betrekking tot de levenscycli van (*Cysto*)*isopora canis* en *Toxocara canis*, een vergelijkbare uitslag zullen hebben in het fecesonderzoek voor deze parasieten.

Uit de beschreven cycli van beide parasieten komt naar voren dat volwassen honden zich op meerde manieren kunnen infecteren. Zijnde:

- grond (omgeving): onbekende besmettingsgraad
- paratenische gastheren: onbekende besmettingsgraad
- pups: bijna 100% maken een patente infectie door.

Door middel van gerichte vragen in een vragenlijst te combineren, is het mogelijk om specifieke risicofactoren voor individuele honden aan uitslagen van een fecesonderzoek te koppelen. In dit geval zijn dat gecontroleerde voeding en ongecontroleerde voeding (gedrag dat de hond uitvoert).

Er kan worden verwacht, dat honden met een vergelijkbare kans op *T. canis* en *C. canis*, die behandeld zijn met een anthelminthicum (met uitzondering van bijvoorbeeld Procox), wel positief testen op *C. canis* bij afwezigheid van *T. canis*.

In een grootschalige analyse van gegevens in Amerika, waar veel honden maandelijks ontwormd wordt (hartwormpreventie) waren de algemene prevalenties 2,2% (*T. canis*) en 4,4% (*Cystoisopora* spp).⁴³ Dit was het omgekeerde van de prevalenties die Claerebout in Noord-België heeft gevonden, namelijk 4,0% (*T. canis*) en 2,0% (*Cystoisopora* spp)²³

Een van de risicofactoren die genoemd wordt is het eten van ongekookt vlees en vangen van prooidieren (beide gezien als paratenische gastheren). Zowel *T. canis* als *C. canis* kunnen door paratenische gastheren worden overgedragen. Het is de verwachting dat honden die voornamelijk rauwvlees te eten krijgen en niet regelmatig ontwormd worden positief zullen testen op beide parasieten.¹⁸

Deze vergelijking wordt ook gemaakt met honden die wel of niet veel kans hebben om oöcyten/eitjes uit de omgeving op te nemen (van de grond eten en rollen over de grond).

De hypothese die in dit geval wordt getest is de volgende:

Risicofactoren die bij de hond gelden voor een patente Cystoisopora canis infectie, gelden ook voor patente infecties met Toxocara canis. Beide infecties zijn dus in gelijke hoeveelheid aan te tonen in de onderzochte populaties honden op basis van een niet-ontworm beleid.

Om deze te testen wordt eerst de prevalentie van beide parasieten in 2 regio's in Nederland bepaald en vergeleken met prevalenties uit voorgaande evaluaties.

Daarna wordt de prevalentie per risicofactor beoordeeld om een correlatie vast te kunnen stellen.

[Dit onderzoek werd uitgevoerd in het kader van een longitudinale evaluatie van de voortschrijdende prevalentie van Toxocara canis, op basis van een niet-ontwormbeleid en periodiek fecesonderzoek. In de periode waarin dit specifieke onderzoek is uitgevoerd was er echter geen sprake van een niet-ontwormbeleid]

Materiaal en methoden

Deelnemers

Eigenaren zijn bereikt via verschillende wegen. Hondeneigenaren werden aangesproken, waarbij folders (bijlage I) werden uitgedeeld op verschillende plekken in Den Haag (strand, parken) en Utrecht (honden(speel)weides, bos). Via hondgerelateerde sites op internet is deze folder digitaal verspreid. Dierenklinieken en dierenspecialisten in Den Haag en Utrecht hebben folders in wachtkamers of op de balie neergelegd. Via sociale media als twitter en facebook zijn vrienden en kennissen op de hoogte gesteld. Studenten en medewerkers van de universiteit Utrecht, faculteit Diergeneeskunde zijn via nieuwssites geïnformeerd.

Dieren die aan de volgende selectiecriteria voldeden zijn meegenomen in het onderzoek:

- honden ouder dan 6 maanden
- regio Utrecht (Utrecht stad, de Bilt, Zeist, Bunnik, Houten, Nieuwegein, Harmelen)
- regio Den Haag (Den Haag stad, Leidschendam, Voorburg, Wassenaar)
- overige regio's: Alleen indien eigenaren het fecesmonster zelf af konden leveren bij het onderzoekslaboratorium

Communicatie met geselecteerde hondeneigenaren gedurende verliep via parasietenwijzer@uu.nl o.v.v Spoelwormonderzoek hond.

Deelnemers kregen per hond een uitgebreid fecesmonster-postpakket voor 3 maanden toegestuurd (bijlage II).

Enquête

Na ontvangst van een fecesmonster werd via email een link voor de online enquête opgestuurd naar de eigenaar van de hond (bijlage III). Antwoorden uit deze enquête konden worden vergeleken met de bijbehorende fecesmonsters door middel van deelnemer-nummers.

Vragen uit de enquête hadden het doel om duidelijkheid te verschaffen in de risicofactoren waar de honden aan werden blootgesteld en de preventieve maatregelen en behandelingen eigenaren troffen tegen besmetting.

Voor dit gedeelte van het onderzoek waren de volgende vragen met meerkeuze-antwoorden van belang:

Loslopen van de hond

Hoe groter de vrijheid van de hond tijdens het uitlaten, hoe groter de kans dat deze zich aan het gezag van de eigenaar kan onttrekken en risicovol gedrag kan uitvoeren. In percentages van de uitlaat-tijd.

Gedrag

Hieronder vallen het vangen van prooidier (paratenische gastheren), de consumptie hiervan en het eten van de grond.

Voeding/snacks

Het bewust voeren van een hond met rauwvlees waar zich mogelijk (cysten of larven van) parasieten in kunnen bevinden. ³⁴

Rollen over de grond

Bij veel rollen op openbare grond is het mogelijk dat eitjes (*T. canis*) zich aan de vacht van het dier kunnen vastkleven en vervolgens worden opgelikt. ⁴⁴

Fecesmonsters

Fecesmonsters werden opgestuurd naar het VMDC via de post en daar in de koelkast bewaard tot het fecesonderzoek. Binnen enkele dagen werden de fecesmonsters onderzocht.

Van de fecesmonsters werd minimaal 2 gram in het studentenlaboratorium door middel van sedimentatie/centrifugatie- flotatie techniek met sucroseoplossing (1.30 g/ml) geprepareerd en natief via lichtmicroscopie bekeken. (bijlage III) ⁴⁵

De hele oppervlakte onder het dekglasje werd bekeken.

Alle zichtbare parasieten werden genoteerd op naam en hoeveelheid.

De scoremethode voor de hoeveelheid per fecesmonster werd overgenomen van het VMDC. De score per gevonden parasiet werd genoteerd als: (per gezichtsveld)

Notitie	Benoeming	Per gezichtsveld
-	Geen	0
+	Weinig	< 1
++	Veel	1 – 6
+++	Zeer veel	> 6
Tabel 1. Scoremethode fecesmonsters		

Outgroup deelnemers

Door een tegenvallend aantal deelnemers binnen de termijn van dit onderzoek is er voor gekozen om in de periode juni-september deelnemers toe te laten die maar éénmalig een fecesmonster inleverden.

Studenten, medewerkers en vrienden die buiten de regio's Den Haag of Utrecht woonachtig waren of om andere reden niet met een longitudinaal onderzoek mee wilden doen, werd de optie gegeven om éénmalig een fecesmonster in te leveren bij de faculteit diergeneeskunde en een verkorte enquête in te vullen.

Enkele uitslagen van het VMDC, waarin *T. canis* en/of *C. canis* naar voren kwamen zijn gebruikt om dierenartsen te bereiken en de eigenaren van deze dieren. Hen is gevraagd de korte enquête in te vullen.

Daarnaast zijn 2 groepen dieren getest:

- Asiel (Stichtse Asyl Utrecht) n=16
- Soesterdijkse jachtvereniging (Babberich) n=23

Retrospectieve evaluatie van *Isospora* spp prevalenties in diagnostische monsters (GLIMS databank)

Naar voorbeeld van Junker (2000)⁹ is er globaal retrospectief onderzoek naar de prevalentie van (*Cysto*)*isospora* spp. bij honden die de dierenarts bezochten gekeken. Hiervoor is de gegevensbank GLIMS van het VMDC tot een jaar terug geanalyseerd.

Statistische analyse

Met behulp van Microsoft Excel zijn vergelijkingen gemaakt met uitslagen van het fecesonderzoek en antwoorden gegeven in de online enquêtes.

De onderzoeks prevalentie (OP) voor *T. canis* en *C. canis* werd gezien als het aantal positieve dieren/ het totaal aantal dieren. Hiervan werd het 95% betrouwbaarheidsinterval bepaald en vergeleken met gegevens uit voorgaande studies.

De benoemde risicofactoren op niveau van individuele honden in de populatie. Relaties tussen de risicofactoren (onafhankelijke variabele) zouden worden geanalyseerd met behulp van een t-test of X^2 testen. Het niveau van significantie voor een onafhankelijke variabele werd gesteld op $p < 0.05$ (significantie niveau 5%).

Resultaten

Om een statistisch significantie te verbinden aan de gevonden resultaten, is voor zowel de vergelijking van *T. canis* als *C. canis* de gecreëerde sample size te klein. Om de gevonden prevalenties wetenschappelijk significant te noemen zou een aantal van 384 dieren gehaald moeten zijn.⁴⁶ Het vergelijken van risicofactoren is daardoor op basis van statistisch significantie niet mogelijk.

De resultaten zullen in dat licht gezien moeten worden.

Hoewel de resultaten niet statistisch significant zijn op gebied van prevalentie en bewijs voor associatie met risicofactoren, lijkt er uit de beschrijvende statistiek wel enig verband te komen. Deze gegevens zouden moeten stimuleren om dit onderzoek op grotere schaal te herhalen.

Deelnemers

Een overzicht van de oorsprong van fecesmonsters naar regio en in hoeverre de enquête voor deze dieren is ingevuld is te zien in tabel 2.

Gebied/ Groep	Aantal honden	Aantal ingevulde enquêtes
Utrecht	21	20
Asiel Utrecht	16	16 (1 voor de groep)
Den Haag	33	30
Outgroup*	42	31
Jachtvereniging Soesterdijk	23	23 (1 voor de groep)
Totaal	135	120

Tabel 2. Aantallen deelnemers en ingevulde enquêtes per gebied
* overige regio's en eenmalig fecesonderzoek

Dit geeft ons een enquête respons ratio van 88,9%.

Fecesonderzoek

Een overzicht van de uitslagen van fecesmonsters naar regio is te zien in tabel 3.

Gebied/ Groep	<i>C. canis</i>	Oöcysten	<i>T. canis</i>	<i>T. vulpis</i>	<i>Capillaria</i> spp	Strongylus type	Negatief
Utrecht	0	2	1	1	0	1	17
Asiel Utrecht	0	0	0	2	0	0	14
Den Haag	0	5	0	2	0	4	28
Outgroup	0	4	2	0	3	1	34
Jachtvereniging Soesterdijk	0	0	0	6	0	3	14
Totaal	0	11	3	11	3	9	107
Onderzoeks prevalentie (%) (BI)	0(0;)	8,15 (3,54; 12,76)	2,22 (0; 4,71)	8,15 (3,54; 12,76)	2,22 (0; 4,71)	6,67 (2,46; 10,88)	

Tabel 3. Cumulatieve uitslagen van de fecesmonsters, n=135, (BI)

In het asiel werden in eerste instantie 2 van de 16 honden positief getest op *Trichuris vulpis*. Bij herhaald bemonsteren werden deze dieren echter niet meer positief bevonden. Mogelijk was er bij de eerste test sprake van contaminatie van de testbuizen.

Bij de jachtvereniging werden at random 23 honden bemonsterd. 6 van de 23 fecesmonsters testten positief op *Trichuris vulpis*. *Trichuris* is een bekend kennelprobleem en valt buiten de grenzen van dit onderzoek. 3 van de 23 fecesmonsters testten positief op *Strongylus* type eieren. Deze zouden mogelijk passanten kunnen zijn van de paarden die gehouden werden op dezelfde locatie. Deze honden hadden geen van allen gezondheidsklachten.

Enkele dieren hadden meer dan één soort eieren/oöcyten in hun fecesmonster. De uitslagen van deze menginfecties zijn te zien in tabel 4.

Soort	Aantal
<i>Capillaria</i> spp. en strongylustype	1
<i>Capillaria</i> spp. en oöcysten	1
<i>Toxocara</i> spp. en oöcysten	1
<i>Trichuris vulpis</i> en strongylustype	1
Strongylustype en oöcysten	3
<i>T. vulpis</i> , strongylustype en oöcysten	1
Tabel 4. Fecesmonsters met menguitslagen	

Uit deze resultaten blijkt het volgende:

In totaal testten 21,7% van de fecesmonsters positief op oöcysten en/of wormeieren.

Wanneer de groepen uit het asiel en de jachthonden worden uitgesloten blijkt in dit onderzoek dat in totaal 17,7% van de huisgehouden honden positief testten op oöcyten en/of wormeieren. Dit ligt lager dan de 20,4% gevonden in België²³

In dit onderzoek is op basis van oöcyt morfologie/grootte geen *Cystoisospora canis* aangetoond.

T. canis prevalentie van 2,2% (BI 0 – 4,7) ligt onder de 4,4% (BI 2,7-6,8), voor huisgehouden honden gevonden in Noord-België in 2009.²³

Op basis van deze gegevens is al een deel van de hypothese (weliswaar niet bewezen) gefalsificeerd. Omdat een groot deel van de honden werd ontwormd (niet gepubliceerde data), waardoor bij vergelijkbare invloeden een grotere prevalentie voor *C. canis* ten opzichte van *T. canis* werd verwacht.

Onder oöcysten kunnen behalve andere *Isospora* spp ook leden van de *Eimeria* spp vallen. Sporulatie van deze oöcysten om tussen deze soorten te differentiëren is onder laboratorium omstandigheden niet geslaagd.

Risicofactoren

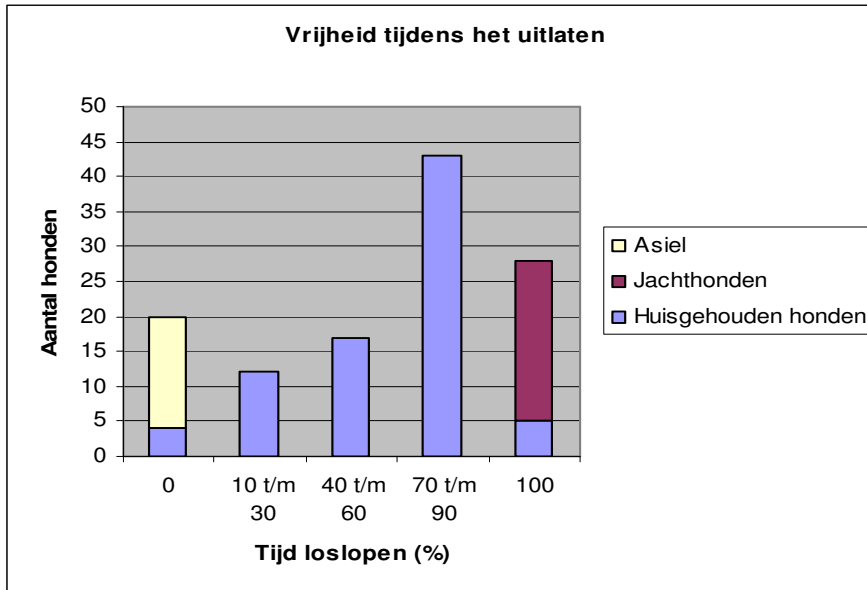
Met de combinatie fecesuitslag en antwoorden uit de enquête zijn een aantal groeptskenmerken van de onderzochte groep naar voren gekomen. Deze zijn hieronder in grafieken uitgezet.

Dieren konden zich in de opzet van dit onderzoek op natuurlijke wijze infecteren door de omgeving en voeding.

In de omgeving hebben dieren een kans oöcysten van *Isospora* spp en eieren van *Toxocara canis* op te nemen. Deze kans zal voor elk dier anders zijn en afhankelijk van onder andere de besmettingsgraad van de grond en wat het dier doet wanneer deze buiten is.

De besmettingsgraad is niet vastgesteld, het gedeelte van de uitlaat tijd dat een hond losgelaten wordt en risicovol gedrag kan uitvoeren wel.

In de volgende grafiek is in percentages uitgezet in hoeverre honden los mogen lopen tijdens het uitlaten. Eigenaren konden per 10% aangeven wat op hun hond van toepassing was. Omdat eigenaren dit moesten schatten is de exacte tijd niet vast te stellen, behalve de categorieën “altijd” en “nooit” zijn de groepen daarom per 30%. Hierin is te zien dat een steeds groter aantal dieren meer vrijheid krijgen bij het uitlaten. De verwachting was dat in die hogere groepen, de fecesuitslag vaker positief zou zijn.



Grafiek 1

Overzicht van de huisgehouden dieren die positief getest zijn op eieren en/of oöcysten ten opzichte van het percentage loslopen tijdens uitlaten*					
Loslopen (%)	0	10 t/m 30	40 t/m 60	70 t/m 90	100
<i>C. canis</i> / <i>T. canis</i> / oöcysten	0/0/0	0/1/1	0/1/3	0/1/5	0/0/0

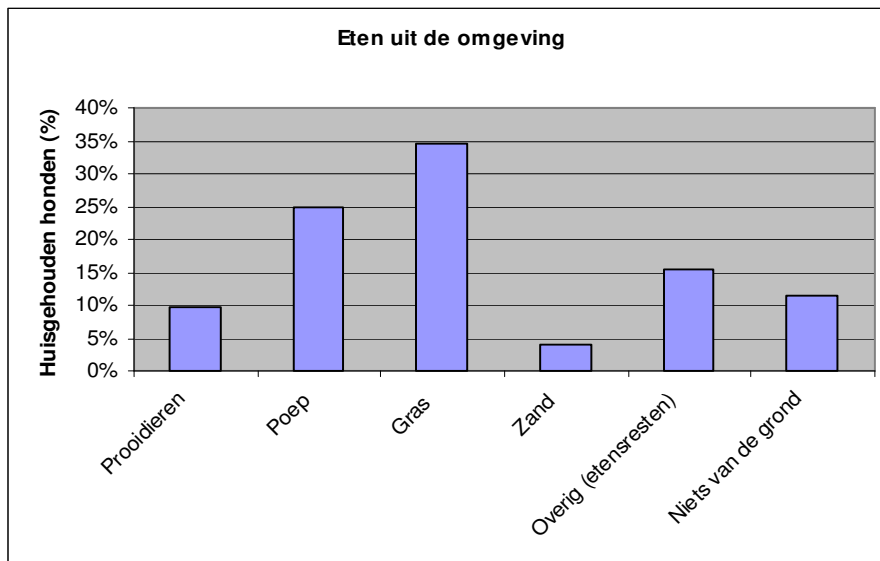
* 1 oningevulde enquête bij een dier dat positief getest is op oöcysten

Hieruit blijkt dat *T. canis* uitscheiding bij huisgehouden honden in alle groepen voorkomt, behalve de 0% en 100% vrijheid. Voor de overige eieren/oöcysten loopt deze op tot de groep tot en met 90%.

In grafiek 2 is te zien in hoeverre dieren tijdens het loslopen terwijl ze onder het toezicht van de eigenaar stonden, substanties uit de omgeving consumeerden. Voor het doel van het onderzoek is vooral de hoeveelheid prooidieren van belang, van 10% van de honden kan met zekerheid gezegd worden dat ze hiermee in aanraking komen.

Dat meer dan een kwart van de honden feces, gras of zand consumeren is van belang voor de interpretatie van het microscopisch fecesonderzoek. Dieren met oöcysten en/of eitjes in hun feces kunnen deze uit de omgeving hebben opgedaan, dan wel zelf hebben uitgescheiden. Een grove

differentiatie hiertussen is het voorkomen van sporulatie. De verwachting was dat dieren die paratenische gastheren aten vaker positief zouden testen dan dieren die niets van de grond aten.



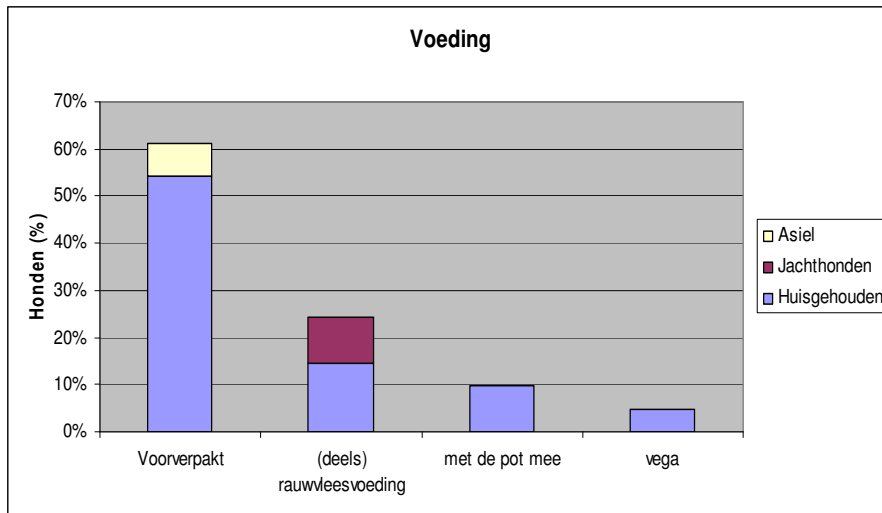
Grafiek 2

Overzicht van dieren die positief getest zijn op eieren en/of oöcysten ten opzichte van prooidiervangst en wat ze van de grond eten*						
Omgeving	Prooi	Feces	Gras	Zand	Overig	Geen
<i>C. canis</i> / <i>T. canis</i> / oöcysten	0/1/1	0/1/4	0/2/5	0/1/1	0/1/1	0/1/2

* 1 oningevulde enquête bij een dier dat positief getest is op oöcysten

Hieruit blijkt dat voor *T. canis* vooral gras-opname een hogere uitslag geeft. Voor het totaal aantal besmettingen zijn feces en grasopname van belang.

In grafiek 3 wordt weergegeven wat de honden thuis te eten krijgen. Het grootste gedeelte krijgt een voorverpakt (commercieel) dieet, waarvan wordt aangenomen dat door de bewerking daarvan, het risico op besmetting niet aanwezig is. 25% van de honden krijgt een voornamelijk of gedeeltelijk rauw vlees (BARF) dieet. De verwachting was dat dieren die rauw vlees gevoerd krijgen vaker positief zouden testen.



Grafiek 3

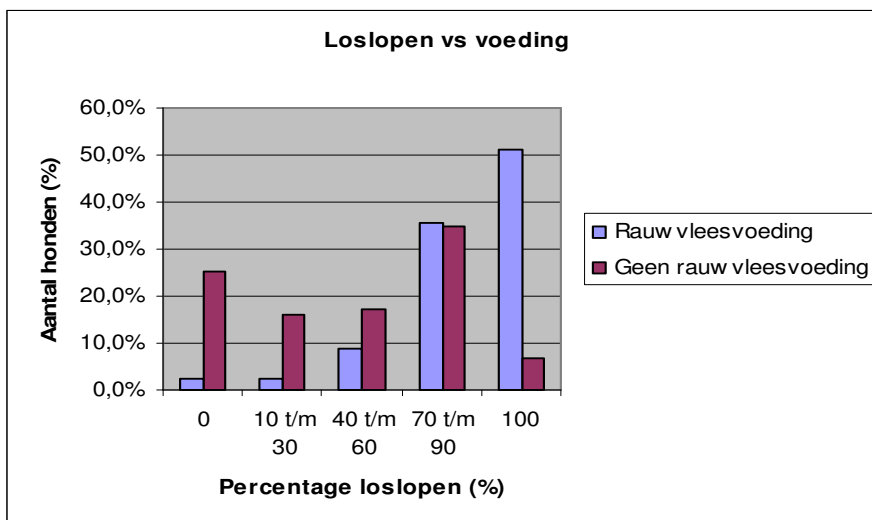
Overzicht van dieren die positief getest zijn op eieren en/of oöcysten ten opzichte van of er thuis rauw vlees gevoerd wordt*		
Voeding	Geen rauw vlees	Rauw vlees
<i>C. canis</i> / <i>T. canis</i> /oöcysten	0/3/4	0/0/4

* 1 oningevulde enquête bij een dier dat positief getest is op oöcysten

Alle dieren die een positieve *T. canis* uitslag hadden, aten voorverpakte voeding. Deze dieren zullen de eieren op een andere manier (omgeving) hebben opgedaan (zie grafiek 2). Voor overige oöcysten zijn de uitslagen gelijk.

Met deze gegevens alleen lijkt ook rauw vlees voeding geen rol te spelen als risicofactor voor een infectie met *T. canis*. Een deel van de rauw vlees eters was ongeveer een maand eerder ontwormd.

In grafiek 4 zijn de benoemde risicofactoren voeding en percentage loslopen met elkaar vergeleken. Hieruit blijkt dat honden die (deels) rauw vlees voeding krijgen, buitenshuis meer los mogen lopen. De verwachting die in de hypothese is gesteld, zou zijn dat deze dieren vaker een infectie met *T. canis* en *C. canis* zullen doormaken. En bij aanwezige ontworming alleen *C. canis* zouden uitscheiden.



Grafiek 4

Aangezien deel van dit onderzoek is ingesteld om te bepalen welke risicofactoren een rol spelen bij een infectie met *Cystoisospora canis* ten opzichte van *Toxocara canis*, volgt in tabel 5 een samenvattend overzicht van de positief geteste dieren en risicofactoren.

Overzicht van alle positief geteste dieren en onderzochte kenmerken				
Uitslag fecesmonster	Voeding: RV ingevroren/ vers	Voeding: geen RV	Uit de omgeving	Loslopen
Oöcysten ++	+	-	Konijnen, vogels	90%
Oöcysten +	+	-	Feces, gras	60%
Oöcysten (2x)	+	-	Feces, gras	60%
Oöcysten +++	+	-	Gras, etensresten	60%
Oöcysten +++	-	+	Feces, gras	90%
Oöcysten ++	-	+	Gras, zand	90%
Oöcysten +	-	+	-	80%
Oöcysten +	-	+	-	80%
Oöcysten +	-	+	Feces, keutels	0%
Oöcysten +	?	?	?	?
<i>Toxocara canis</i> +	-	+	Gras	90%
<i>Toxocara canis</i> +	-	+	-	20%
Combinatie Oöcysten +++ <i>Toxocara canis</i> +++	-	+	Feces, gras, alles	50%

Tabel 5. Dieren met een positief fecesmonster met oöcysten en/of *Toxocara canis* eitjes
 ? = geen ingevulde enquête, RV = rauwvlees

GLIMS augustus 2010 t/m augustus 2011

Gegevens uit de databank van het VMDC 'GLIMS' tussen september 2010 en september 2011.

In die periode werden fecesmonsters van 1960 honden voor diagnostiek aangeboden aan het VMDC. Deze waren afkomstig van veterinaire praktijken in Nederland. Dit betekent dat het voornamelijk monsters van zieke honden betrof, waardoor dit niet als een random steekproef uit de populatie honden in Nederland gezien kan worden. Wel zegt dit iets over het voorkomen van deze parasiet bij zowel jonge als volwassen honden.

In de geëvalueerde periode bevatte 104 monsters oöcysten van *Isospora* spp (5,31%). 32 bevatte (onder andere) *Cystoisospora canis*.

Van de 104 positief bevonden monsters waren 25 afkomstig van honden ouder dan 6 maanden. Dit komt overeen met 1,28% van het totaal aantal aangeboden fecesmonsters en 24,04% van de positieve fecesmonsters.

In deze databank blijkt dus dat in deze groep bijna een kwart van de honden die een *Isospora* spp uitscheiding heeft, ouder is dan 6 maanden.

Leeftijd	Totaal positief op <i>Isospora</i> spp	Totaal positief <i>C. canis</i>	Daarvan positief alleen <i>C. canis</i>
< 6 maanden	79	27	13
< 12 maanden	9	1	0
> 12 maanden	16	4	2

Tabel 6. (*Cysto*)*isospora* uitslagen GLIMS augustus 2010 t/m augustus 2011

Naast (*Cysto*)*isospora* spp werden in ongeveer de helft van de fecesmonsters (51) overige verwekkers van wisselend belang aangetoond. Hieronder vielen (in willekeurige volgorde) verwekkers: *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* spp, *Toxocara leonina*, *Toxocara canis*, *Giardia (intestinalis)*, *Capillaria* spp, *Salmonella* (groep B), *E. coli*, parvovirus, 'wormeieren' en brillendoosjes gist.

Discussie

Prevalentie

De grootte van de steekproef was een belemmering voor de wetenschappelijke benadering van de resultaten en daarmee de significantie van hetgeen gevonden is.

De prevalentie die in dit onderzoek gevonden is, ligt lager dan wat uit de literatuur verwacht kan worden. Dit zou kunnen liggen aan de selectie van dieren/deelnemers. Een deel van de fecesmonsters was afkomstig van honden die gehouden werden door studenten en werknemers van de faculteit Diergeneeskunde te Utrecht. Deze groep is zich bewust van de richtlijnen betreffende verzorging en ontwormen van hun huisdier. Hierdoor hebben we gedeeltelijk met een subpopulatie te maken (goed verzorgde dieren) die geen weerspiegeling is van de totale populatie. Daarnaast zijn veel cross-sectie studies waarmee vergeleken werd uitgevoerd op monsters die geleverd werden aan veterinaire onderzoekslaboratoria, met verschillende redenen (o.a. gezondheidsklachten). Vooral voor *C. canis* zou dit een rol kunnen hebben bij het vinden van een patente infectie.

Omdat we in dit onderzoek te maken hebben met huisgehouden dieren en individuele eigenaren zijn we afhankelijk geweest van veel subjectiviteit. Onder andere bepaalde risicofactoren zijn niet precies vastgesteld. Voorbeeld: de exacte uitlaattijd is hier niet bepaald. Hierdoor kan het theoretisch zo zijn dat honden die 90% van de tijd los mogen lopen, absoluut gezien korter vrij lopen dan honden die 30% van de tijd vrij lopen. Tenzij eigenaren wordt gevraagd deze tijd met een timer op te meten, zit hier een mate van foutberekening.

Deze studie is vergelijkbaar met andere, eenmalige, cross-sectie studies, omdat in de termijn van dit onderzoek op één moment naar feces hebben gekeken. Hierdoor is het niet mogelijk om met volledige zekerheid een hond die oöcyten/wormeieren uitscheidt te benoemen als dier met een patente infectie. Daardoor kan er zowel een onder- als overschatting van infecties plaatsvinden. Onderschatting van *T. canis* doordat er alleen mannelijke wormen aanwezig zijn en voor zowel *T. canis* als *C. canis* de mogelijkheid van prepatente infecties. Een overschatting wanneer de oöcyten/wormeieren vanuit de omgeving zijn opgedaan en onveranderd zijn uitgescheiden.

Bovenstaande is een probleem voor alle crossectional studies naar prevalentie van endoparasieten.^{4 25 36} Enige differentie is mogelijk als er bijvoorbeeld sporulatie of embryonatie is opgetreden – dit zijn hoogstwaarschijnlijk passanten, gezien de tijd tussen een ‘echte’ uitscheiding en sporulatie/ embryonatie. Het probleem hierbij is de tijd tussen fecesuitscheiding en verzending en start van het onderzoek in het laboratorium. Bij vertraging hier tussen is ook deze differentiatie onbetrouwbaar. Longitudinale studies zouden deze problemen kunnen ondervangen en dan vooral een waarbij de tijd tussen fecesuitscheiding en onderzoek minimaal is.

Vervolg onderzoek moet uitwijzen of dieren die niet ontwormd worden een nieuwe infectie doormaken, zodat factoren als omgeving en voeding vergeleken kunnen worden met de frequentie van nieuwe infecties.

Aangezien *C. canis* zich in de wand van het maag darm kanaal schuil kan houden zou het in de toekomst voor onderzoek bij volwassen honden mogelijk zijn om een humane techniek toe te passen. Humaan kan gebruik worden gemaakt van PCR screening in biopten, in verband met lage, intermitterende uitscheiding van oöcysten.²¹

Een kleine afwijking met de prevalentie in de literatuur zou veroorzaakt kunnen zijn door het seizoensgebonden effect door de periode waarin veel pups worden geboren en volwassen honden oöcyten en wormeitjes uit pupfeces opnemen. Dit effect lijkt het meest voor *T. canis* te gelden. Onbedoeld is hierdoor een risicofactor die niet onderzocht werd uitgeselecteerd.¹⁶

Risicofactoren

In deze studie is geen verband tussen het vangen van prooidieren, rauw vlees voeding, vrijheid tijdens het uitlaten en ei/oöcyst uitscheiding gevonden.

Enkele honden waarbij de gestelde risicofactoren aanwezig waren, werden minder dan een maand voorafgaande aan het onderzoek ontwormd, wat mogelijke interferentie met resultaat heeft gegeven op het gebied van *T. canis*. Bij vervolg van het onderzoek is kan deze beïnvloeding uitgeschakeld worden door eigenaren te verzoeken geen ontworming toe te passen. Dit had echter niet het effect dat *C. canis* een hogere prevalentie had, waardoor de hypothese - zonder statistische onderbouwing - gefalsificeerd zou worden. Uitbreider onderzoek zou de hypothese kunnen bewijzen.

Een opmerkelijke bevinding uit het onderzoek was de afwezigheid van zowel *T. canis* als *C. canis* in de fecesmonsters van de jachthonden. Terwijl deze dieren veel in contact kunnen komen met paratenische gastheren, deels rauwvlees gevoerd krijgen, veel los lopen en niet maandelijks ontwormd worden.

Sager (2006) had voor *Cystoisospora* spp en *T. canis* ook geen verband kunnen vinden tussen het eten van ongekookt vlees ten opzichte van blikvoeding, maar wel een duidelijke significante toename van prevalentie bij “ongecontroleerde” honden, die vrij los konden lopen ten opzichte van “gecontroleerde” honden.⁴¹¹⁵

Gras eten leverde nog de meeste *T. canis* positieve monsters op. Helaas zijn er geen gegevens met betrekking tot de absolute besmettingsgraad van het gras en de grond in Nederland. Vooral uitlaatplaatsen zijn hierbij zeer interessant.

Populatie

In dit onderzoek hebben alleen gezonde dieren geparticipeerd. Er is voorbij gegaan aan de sterke immuniteit die wordt gecreëerd na een eerste infectie met *Cystoisospora canis*.

Onder laboratorium omstandigheden is het in de literatuur ook niet gelukt om immuun competente dieren een patente infectie op te wekken. Vraag is of prevalenties uit de literatuur bij gezonde volwassen honden niet ook op passanten gebaseerd is geweest. De mogelijkheid van passanten wordt in veel gevallen niet genoemd.

Echter bij dieren met maag-darm klachten lijkt *C. canis* vaker voor te komen (in combinatie met *Giardia*, in Japan)¹⁹

Deze zieke en gezonde dieren bias komt terug in de GLIMS evaluatie. Hieruit blijkt namelijk dat er zeker volwassen dieren met *C. canis* uitscheiding zijn. Deze blijken echter vaak gezondheidsklachten te hebben. Nu is de vraag of de infectie voor deze klachten zorgt, of dat *C. canis* alleen kans ziet bij een verminderde (darm)gezondheid.

Bij onderzoek aan *Isospora suis* wordt nu aangenomen dat de resistentie tegen coccidia voornamelijk gebaseerd is op een cellulaire immuunrespons en dat het intestinale immuunsysteem het belangrijks is in immuungemedieerde controle van infectie.⁴⁷

Hier komt het grootste verschil tussen *C. canis* en *T. canis* naar voren. Bij het eten van paratenische gastheren hoeft *T. canis* niet noodzakelijk een trektocht te maken, dus niet door de darmwand heen te dringen en in contact te komen met antilichamen.⁴⁸ Echter *C. canis* is afhankelijk van die mogelijkheid.

Vervolg onderzoek

Uitbreiding van de groepsgrootte is belangrijk. Als er bevindingen worden gedaan, kunnen deze wel wetenschappelijk bewijs opleveren voor de verschillende risicofactoren.

Daarnaast het longitudinaal vervolgen van honden. Door een grote groep dieren in de tijd te vervolgen kan een relatie tussen risicofactoren en frequentie van uitscheiding gelegd, of verworpen kunnen worden.

Eventueel zouden dieren die positief testten niet ontwormd moeten worden, maar vervolgd tot ze weer negatief worden om te zien of het een passant was of een patente infectie. Als er direct wordt ontwormd is er nog geen zekerheid.

Globalisering

Parasieten houden zich niet aan landsgrenzen en hun prevalentie is geen vast gegeven. Veel valt te winnen door survey 's wereldwijd te laten aansluiten op één netwerk. Een duidelijk overzicht van prevalenties van de verschillende parasieten en in welke groepen dieren er in welk land voorkomen op welk moment. Daarbij is het standaardiseren van de methodiek van parasitologische survey 's nodig, zodat studies op resultaat vergeleken kunnen worden en kunnen worden opgenomen in een wereldwijde parasieten-databank.

Conclusie

In dit onderzoek zijn een prevalentie van 0% en 2,22% voor respectievelijk *Cystoisopora canis* en *Toxocara canis* gevonden. Deze waarden kunnen echter niet doorgevoerd worden voor de totale populatie vanwege de te kleine steekproef.

Deze studie levert geen aanwijzingen op dat veel vrijheid tijdens het uitlaten en het voeren van rauw vlees een grotere mate van besmetting oplevert.

Alleen het eten van gras tijdens het uitlaten lijkt hier voor een hogere testprevalentie voor *T. canis* te zorgen. Vervolg onderzoek zou zich op de besmetting van de bodem en gras waar honden worden uitgelaten kunnen richten.

Hoewel *C. canis* en *T. canis* voor een groot deel vergelijkbare eigenschappen hebben in het oplopen van een infectie, zijn de mechanismen waarop deze parasieten zich in het lichaam ophouden zeer verschillend, wat zich uit in de prevalenties die gevonden worden.

Referenties

1. Fayer, R. Epidemiology of protozoan infections: The coccidia. *Vet. Parasitol.* **6**, 75-103 (1980).
2. Dubey, J. P. The evolution of the knowledge of cat and dog coccidia. *Parasitology* **136**, 1469-1475 (2009).
3. Lindsay, D. S., Dubey, J. P. & Blagburn, B. L. Biology of *Isospora* spp. from humans, nonhuman primates, and domestic animals. *Clin. Microbiol. Rev.* **10**, 19-34 (1997).
4. Altreuther, G. *et al.* Efficacy of emodepside plus toltrazuril suspension (Procox® oral suspension for dogs) against prepatent and patent infection with *Isospora canis* and *Isospora ohioensis*-complex in dogs. *Parasitol. Res.* **109**, S9-S20 (2011).
5. Mitchell, S. M., Zajac, A. M., Charles, S., Duncan, R. B. & Lindsay, D. S. *Cystoisospora canis nemeséri*, 1959 (syn. *Isospora canis*), infections in dogs: Clinical signs, pathogenesis, and reproducible clinical disease in beagle dogs fed oocysts. *J. Parasitol.* **93**, 345-352 (2007).
6. Buehl, I. E., Prosl, H., Mundt, H. -, Tichy, A. G. & Joachim, A. Canine isosporosis - Epidemiology of field and experimental infections. *J. Vet. Med. Ser. B Infect. Dis. Vet. Public Health* **53**, 482-487 (2006).
7. Lepp, D. L. & Todd, K. S. j. Life Cycle of *Isospora canis* Nemeséri, 1959 in the Dog. *J. Protozool.* **21** (2), 199-206 (1974).
8. Dubey, J. P., Lindsay, D. S. & Lappin, M. R. Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* **39**, 1009-1034 (2009).
9. Junker, K. & Houwers, D. J. Diarrhoea, pupmortality, and cystoisospora species (coccidiosis). *Tijdschr. Diergeneeskd.* **125**, 582-584 (2000).
10. Lappin, M. R. Update on the diagnosis and management of isospora spp infections in dogs and cats. *Top. Companion Anim. Med.* **25**, 133-135 (2010).
11. Frenkel, J. K. & Smith, D. D. Determination of the genera of cyst-forming coccidia. *Parasitol. Res.* **91**, 384-389 (2003).
12. Mitchell, S. M., Zajac, A. M. & Lindsay, D. S. Development and ultrastructure of *cystoisospora canis nemesri*, 1959 (syn. *Isospora canis*) monozyotic cysts in two noncanine cell lines. *J. Parasitol.* **95**, 793-798 (2009).
13. Zayed, A. A. & El-Ghaysh, A. Pig, donkey and buffalo meat as a source of some coccidian parasites infecting dogs. *Vet. Parasitol.* **78**, 161-168 (1998).
14. Buehl, I. E., Prosl, H., Mundt, H. -, Tichy, A. G. & Joachim, A. Canine isosporosis - Epidemiology of field and experimental infections. *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health* **53**, 482-487 (2006).
15. Sager, H. *et al.* Incidence of *Neospora caninum* and other intestinal protozoan parasites in populations of Swiss dogs. *Vet. Parasitol.* **139**, 84-92 (2006).
16. Barutzki, D. & Schaper, R. Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitol. Res.* **109**, S45-S60 (2011).

17. Martínez-Moreno, F. J. *et al.* Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Vet. Parasitol.* **143**, 7-13 (2007).
18. Papazahariadou, M. *et al.* Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the Serres Prefecture, Northern Greece. *Vet. Parasitol.* **148**, 170-173 (2007).
19. Itoh, N. *et al.* Giardia and other intestinal parasites in dogs from veterinary clinics in Japan. *Parasitol. Res.* **109**, 253-256 (2011).
20. ten Hove, R. -, van Lieshout, L., Brienen, E. A. T., Perez, M. A. & Verweij, J. J. Real-time polymerase chain reaction for detection of *Isospora belli* in stool samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **61**, 280-283 (2008).
21. Murphy, S. C. *et al.* Consultations in molecular diagnostics: Molecular diagnosis of cystoisosporiasis using extended-range pcr screening. *Journal of Molecular Diagnostics* **13**, 359-362 (2011).
22. Rinaldi, L. *et al.* Canine faecal contamination and parasitic risk in the city of Naples (southern Italy). *BMC Vet. Res.* **2** (2006).
23. Claerebout, E. *et al.* Giardia and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium. *Vet. Parasitol.* **161**, 41-46 (2009).
24. http://www.ema.europa.eu/docs/nl_NL/document_library/EPAR_-_Product_Information/veterinary/002006/WC500106176.pdf.
25. Altreuther, G. *et al.* Field evaluations of the efficacy and safety of emodepside plus toltrazuril (Procox® oral suspension for dogs) against naturally acquired nematode and *Isospora* spp. infections in dogs. *Parasitol. Res.* **109**, S21-S28 (2011).
26. Schnieder, T., Laabs, E. - & Welz, C. Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Vet. Parasitol.* **175**, 193-206 (2011).
27. Overgaauw, P. A. M. Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocarosis in dogs and cats. *Crit. Rev. Microbiol.* **23**, 233-251 (1997).
28. Havasiova-Reiterova, K., Tomasovicova, O. & Dubinsky, P. Effect of various doses of infective *Toxocara canis* and *Toxocara cati* eggs on the humoral response and distribution of larvae in mice. *Parasitol. Res.* **81**, 13-17 (1995).
29. Overgaauw, P. A. M. Aspects of toxocara epidemiology: Human toxocarosis. *Crit. Rev. Microbiol.* **23**, 215-231 (1997).
30. Rubinsky-Elefant, G., Hirata, C. E., Yamamoto, J. H. & Ferreira, M. U. Human toxocarosis: Diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **104**, 3-23 (2010).
31. Ugbomoiko, U. S., Ariza, L. & Heukelbach, J. Parasites of importance for human health in Nigerian dogs: High prevalence and limited knowledge of pet owners. *BMC Vet. Res.* **4** (2008).
32. Fok, É. & Kassai, T. *Toxocara canis* infection in the paratenic host: A study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. *Vet. Parasitol.* **74**, 243-259 (1998).
33. Fahrion, A. S., Staebler, S. & Deplazes, P. Patent *Toxocara canis* infections in previously exposed and in helminth-free dogs after infection with low numbers of embryonated eggs. *Vet. Parasitol.* **152**, 108-115 (2008).

34. Lejeune, J. T. & Hancock, D. D. Public health concerns associated with feeding raw meat diets to dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **219**, 1222-1225 (2001).
35. Lee, A. C. Y., Schantz, P. M., Kazacos, K. R., Montgomery, S. P. & Bowman, D. D. Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. *Trends Parasitol.* **26**, 155-161 (2010).
36. Robertson, I. D., Irwin, P. J., Lymbery, A. J. & Thompson, R. C. A. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *Int. J. Parasitol.* **30**, 1369-1377 (2000).
37. Claerebout, E. V., J. in *Parasieten bij hond en kat* (ed Overgaauw, P. A. M. C., E.) 9-17 ([animo] veterinary publishers, Haarlem, 2002).
38. Overgaauw, P. A. M. Prevalence of intestinal nematodes of dogs and cats in the Netherlands. *Vet. Q.* **19**, 14-17 (1997).
39. Borgsteede, F. H. M. Helminth parasites of wild foxes (*Vulpes vulpes* L.) in The Netherlands. *Z. Parasitenkd.* **70**, 281-285 (1984).
40. Mandarino-Pereira, A., de Souza, F. S., Lopes, C. W. G. & Pereira, M. J. S. Prevalence of parasites in soil and dog feces according to diagnostic tests. *Vet. Parasitol.* **170**, 176-181 (2010).
41. Sager, H. *et al.* Coprological study on intestinal helminths in Swiss dogs: Temporal aspects of anthelmintic treatment. *Parasitol. Res.* **98**, 333-338 (2006).
42. http://www.esccap.org/index.php/fuseaction/download/lrn_file/esccap-richtlijn-nl-def.pdf.
43. Little, S. E. *et al.* Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. *Vet. Parasitol.* **166**, 144-152 (2009).
44. Overgaauw, P. A. M. *et al.* Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Vet. Parasitol.* **163**, 115-122 (2009).
45. Katagiri, S. & Oliveira-Sequeira, T. C. G. Comparison of three concentration methods for the recovery of canine intestinal parasites from stool samples. *Exp. Parasitol.* **126**, 214-216 (2010).
46. <http://research-advisors.com/tools/SampleSize.htm>.
47. Worliczek, H. L., Gerner, W., Joachim, A., Mundt, H. -. & Saalmüller, A. Porcine coccidiosis - investigations on the cellular immune response against *isospora suis*. *Parasitol. Res.* **105**, S151-S155 (2009).
48. Gates, M. C. & Nolan, T. J. Endoparasite prevalence and recurrence across different age groups of dogs and cats. *Vet. Parasitol.* **166**, 153-158 (2009).