

Forekomsten af *Helicobacter* lignende organismer hos hunde

Endoskopisk undersøgelse / Invasiv test
versus
Serum-undersøgelse / Noninvasiv test

Et case-control studie af hunde.

Hovedopgave, fagdyrlægeuddannelsen 2006-2008.

Af dyrlæge Sonny Liston

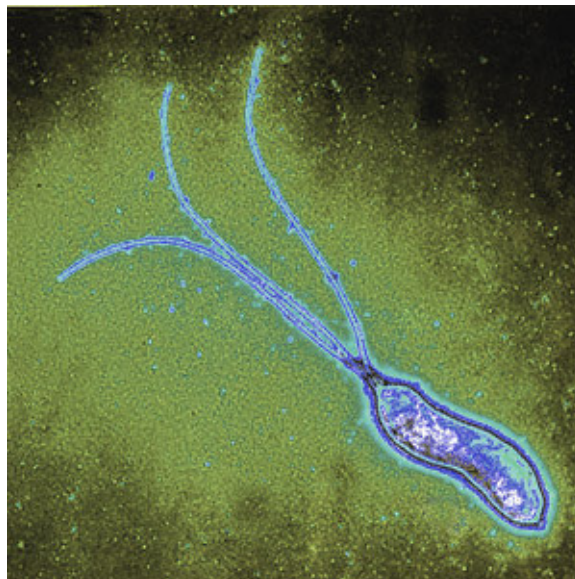


Foto: Helicobacter Foundation

Indholdsfortegnelse:

Side 3	Sammendrag
	Indledning
Side 4	Prævalens og smitte
Side 5	Patogenicitet
Side 6	Terapi
Side 7	Vaccination
	Diagnosticering
Side 8	Forsøgsdesign, inklusionskriterier
Side 9	Materialer og metoder
Side 10	Testprocedurer
Side 11	Resultater
Side 13	Konklusion
	Diskussion
Side 15	Litteraturliste
Side 17	Bilag 1. Eksempler på terapi
Side 19	Bilag 2. Resultater/skematisk

Sammendrag:

Målet med denne undersøgelse var at evaluere prævalensen af *Helicobacter lignende* organismer (HLO) i ventriklen hos hunde med og uden gastrointestinale symptomer (vomitus, diarre, abdominale smerter/ubehag, anorexi). Undersøgelsen blev dels udført ved hjælp af histopatologi og dels ved anvendelse af to andre hurtigere tests for HLO.

Ventrikel mucosa biopsier fra 100 hunde blev udtaget under gastroskopisk undersøgelse foretaget i fuld narkose. Histopatologisk undersøgelse af mucosaen blev foretaget hos ialt 51 hunde (3 uden GI-symptomer og 48 med GI-symptomer). HLO blev påvist hos henholdsvis 3 hunde (100 %) og 31 hunde (64,6 %). Der er ikke foretaget vurdering af mucosaen vedrørende eventuel fibrosering, inflammation mm.

Ventrikel mucosa biopsier blev ligeledes anvendt til at evaluere prævalensen af HLO ved hjælp af anden invasiv test (HPLO/Urease-test). Prævalens udregnet til 0,74 (n=100).

En noninvasiv (blod-agglutinations) test blev ligeledes anvendt til at evaluere prævalensen af HLO (OXOID Pylori test). Prævalens udregnet til 0,79 (n=100).

De to hurtige tests er sammenlignet med den histopatologiske test for at udregne blandt andet den Positive Prædiktive Værdi (PPV).

Sammenligneligheden af de to tests, Urease og OXOID, blev undersøgt for at se om der var overensstemmelse mellem disse to hurtige tests. Kappa blev udregnet til 0,196, hvilket er en ringe overensstemmelse.

Indledning:

Blandt andre den italienske medicinforsker Giulio Bizzozero (1846-1901) beskrev nogle elegante spiral-formede organismer i mavesækken på raske hunde. I 1892 rapporterede han om konstant fund af disse spiral-formede organismer i kirtlernes lumen fra ventriklens fundus og pylorus. De blev beskrevet som meget små (3-8 μm lange) med 3-7 spirale snoninger. Antagelsen at ventriklens lave pH gav et næsten sterilt miljø ophørte, da man havde observeret kolonisering af ventriklens mucosa. Disse iagttagelser blev ikke tilskrevet den store betydning, indtil 100 år senere, hvor det blev opdaget, at der var en sammenhæng mellem ventriklens spiralformede *Campylobacter*-lignende organismer og gastritis og kronisk mavesår hos mennesker (1). Disse organismer kunne nu dyrkes og blev til forskel for *Campylobacter jejuni* beskrevet at have flageller.

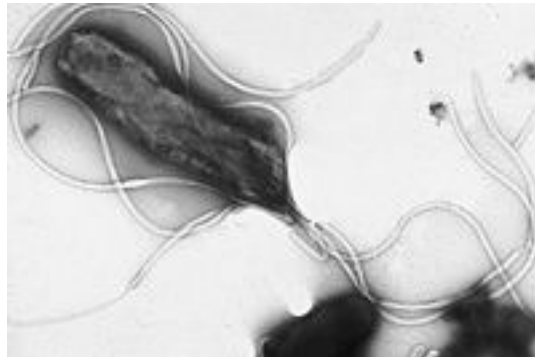
Bakteriens anatomiske egenskaber gør den i stand til at bevæge sig i mucosamembranen i ventriklen. Navnet *Campylobacter pyloridis* blev senere ændret til *Helicobacter pylori*. *H. pylori* er sat i sammenhæng med forekomsten af lymfom og adenocarcinom i ventriklen hos mennesker (2).

Helicobacter spp. er mikroaerofile, motile spiralformede eller snoede (til tider kokkoide) gram-negative bakterier, der forekommer i kirtelceller, parietalceller og de superficielle mucusceller i ventriklen.

Der er på basis af DNA-, rRNA- og elektronmikroskopiske undersøgelser påvist følgende forskellige species hos hund; *H. Felis*, *H.bizzozeronii*, *H. Salomonis*, *H. Bilis* og *Flexispira rapin* og *H. heilmannii*-lign organisme. Alle disse typer er urease- og katalase positive. Andre *Helicobacter spp.* er påvist andre steder end ventriklen (3). Samlet kaldes denne gruppe for

Helicobacter lignende organismer (HLO), Gastric *Helicobacter*-Like Organisms (GHLO) eller *Helicobacter pylori* lignende organismer (HPLO).

Ialt 24 species af *Helicobacter* genus er identificeret. Fælles for dem i ventriklen er evnen til at omdanne urea til ammoniak og kuldioxid. Dette gør dem i stand til at overleve det sure miljø (4). Mange dyrearter har fået påvist HLO.



H.pylori

Foto: Helicobacter Foundation

Prævalens og smitte:

Prævalensen af ventrikel *Helicobacter spp.* er høj hos hunde og katte. Tidligere undersøgelser har vist prævalens 61–90 % hos hunde med opkast, 67-100% hos klinisk raske hunde og op til 100% hos forsøgshunde ved histologi (3,5,6) (Tabel 1).

Tabel 1. Prævalens af ventrikel HLO hos hund (6).

Syg / Rask	Inficerede (%)	Antal hunde	Kilde
Rask	96	25	Happonen 1998
Rask	100	15	Weber 1958
Rask	100	30	Henry 1987
Rask	100	30	Hanninen 1996
Rask	100	10	Happonen 1996
Rask	67-100	54	Eaton 1996
Rask	93	68	Neiger 1998
Rask	86	21	Yamasaki 1998
Syg	74	42	Geyer 1993
Syg	82	122	Hermanns 1995
Syg	61	56	Yamasaki 1998
Syg	90	21	Happonen 1998

Prævalensen af de enkelte *Helicobacter spp.* er i litteraturen ikke belyst tilstrækkeligt, da det kræver specialteknikker.

Infektion med flere *Helicobacter spp.* på samme tid er beskrevet, typisk *H. bizzozeronii* og *H. heilmanii* hos ca. 15-20 % af hunde (3,7,8).

Transmission af *H. spp.* er ukendt. Der er ikke med sikkerhed påvist smitteveje hverken humant eller hos hunde (3).

Forsøgs-katte er påvist at kunne have *H. pylori* og betragtes af nogle som en mulig smittekilde for *H. pylori* til mennesker (zoonose). Der er dog ikke påvist *H. pylori* hos vild- eller tamkatte, men undersøgelser har vist HLO prævalens hos raske katte på 41% -100 % og hos katte med vomitus på 57% - 100 % (6,8).

H. pylori er ikke isoleret fra hunde (3).

En epidemiologisk evaluering af diarre fra 60 hunde viser *Helicobacter spp.* (PCR assay) som den klart hyppigst isolerede patogene risikofaktor (57 ud af 60 hunde, svarende til 95%).

Kontrolgruppen med ligeledes 60 raske hunde viser tilsvarende 88,3%. Disse resultater støtter hypotesen om at *Helicobacter spp.* kan eksistere som nonpatogene in habitanter i mavetarmkanalen hos hunde (9).

Patogenicitet:

Årsager til gastritis hos hund bekræftes kun sjældent, grundet symptomatisk terapi. Ved manglende systemisk sygdom, ulcerogen medicin og fremmedlegemereaktion, tolkes årsagen ofte som værende foderallergi/intolerance, parasitter eller respons til bakterielle antigener.

Helicobacter spp. overlever ved enzymatisk at danne sit eget beskyttende lag bikarbonat. Hvis bakterien er i stort antal eller hvis bakterien penetrerer dybt nok, vil der opstå inflammation og nedsat evne til at danne mucus.

Gastritis observeret hos inficerede hunde er mindre alvorlig end gastritis hos mennesker inficeret med *H. pylori* (6).

Den høje prævalens af kolonisering af HLO i ventriklen hos både raske og syge hunde indikerer, at der ikke er nogen simpel sammenhæng mellem infektion og sygdom/patogenicitet. Ikke kontrollerede undersøgelser har vist, at hunde med samtidig gastritis og påvist HLO kan bedres med forskellige typer af trippelterapi (typisk *metronidazol* kombineret med antibiotikum (*amoxicillin/tetracyclin/olsalazin*) og enten *H2-antagonist* eller *prednisolon*) (3,6,8).

Det er endnu ikke fuldt klarlagt, hvor vidt infektion med HLO giver anledning til kliniske symptomer hos hund, og det er derfor stadig et debatteret dilemma, om man i praksis skal behandle for HLO, når man har ingen, få eller voldsomme symptomer samtidigt med en positiv eller negativ test for organismen. Tydelige kliniske tegn som opkast, diarre eller abdominale smerter er oftest fraværende hos de inficerede hunde (3).

Den kendte patogenicitet hos mennesker og enkelte dyrearter gør det til et godt rationale at iværksætte terapi mod *Helicobacter spp.* inden en eventuel immunosuppressiv terapi mod gastritis (6). Det synes dog svært at udrydde infektionen helt. Naturligt inficerede hunde fik i en undersøgelse 2 ugers behandling med trippelterapi og blev ved forskellige tests fundet fri for *Helicobacter spp.* 3 dage efter endt terapi, men 4 uger efter endt terapi kunne der igen konstateres

positive tests for disse hunde (10). Det vides ikke, om der er tale om en re-kolonisering eller en ikke komplet terapeutisk virkning af den anvendte medicin.

Der er endnu ikke fundet en sammenhæng mellem *Helicobacter* infektion og gastrointestinale ulcera eller ventrikel neoplasier hos hunde eller katte.

Undersøgelser for patogenicitet kompliceres af det faktum, at hundene kan inficeres af flere forskellige *Helicobacter spp.* på samme tid.

Udover *H. pylori*'s patogene rolle humant er også *H. heilmannii* associeret med gastritis og lymfom hos mennesker. *H. heilmannii* hos mennesker (0,4%-4% af undersøgte mennesker) er ved typning fundet at være en anden type end den, der påvises hos hund, så det synes usandsynligt, at der er tale om en zoonotisk risiko (11).

Ligesom humant, hvor prævalensen af *H. pylori* i nogle lande er meget høj (80-90%) men med en samtidig relativt lav prævalens af kliniske tegn (10-15%), synes denne fordeling af inficerede/syge også at være gældende for hunde, selv om de kliniske tegn er svagere hos hunde.

En patogen rolle af *Helicobacter spp.* er påvist hos friter, aber og grise (3,10).

En eksperimentiel undersøgelse for at belyse patogeniciteten af *H. felis* og *H. pylori* hos gnotobiotiske hunde påviser gastritis og et humoralt immun-respons efter påført infektion, men ingen af hundene viser kliniske symptomer (12).

Humant sker smitten ofte som barn, men ventrikel cancer, atrofisk gastritis og mavesår opstår som regel først hos midaldrende mennesker. Tidsfaktoren kan derfor have indflydelse. En langvarig kolonisering af ventriklen kan være nødvendig førend der kommer symptomer.

Hundes relativt korte levetid kan måske forklare den lave patogenicitet.

Terapi:

Behandlingsprocedurerne hos hunde har typisk været som hos mennesker, hvor der har været påvist god effekt af trippelterapi **AMF**: Amoxicillin 20 mg/kg po 2 x dagl., Metronidazole 20 mg/kg po 2x dagl. og Famotidine (H₂-receptor antagonist) 0,5 mg/kg po 2 x dagl. i 14 dage.

Denne terapi synes at medføre suppression, men ikke udryddelse af *Helicobacter spp.* i ventriklen hos hunde (12).

Effektiviteten af andre trippel terapier har været undersøgt: Amoxicillin eller Tetracycline, Metronidazole og Omeprazole (proton-pumpe inhibitor) eller Bismuth subcitrate (13). (I udlandet/på internettet findes tabletter/kapsler der indeholder det hele på en gang.)

Undersøgelser viser, at en behandlingstid på 10-14 dage er tilstrækkeligt. Der kan være risiko for Metronidazole-resistens, hvilket kan forklare eventuelt manglende respons på terapi. Der har ikke været påvist forskel i de kliniske tegn på hunde efter endt terapi, hvad enten de blev påvist *Helicobacter spp.* positive eller negative efter endt terapi. Dette i kontrast til humant, hvor der er god effekt på de kliniske tegn (13).

I litteraturen findes talrige eksempler på, at der især humant har været anvendt mange andre slags medicinske præparater.

Bilag 1 viser udsnit af nyeste liste fra *Helicobacter Foundation 2006* med forslag til præparater og kombinationsmuligheder.

Vaccination:

Patient / klient compliance og risiko for antibiose/metronidazole-resistens samt mulighed for recidiv eller reinfektion, har gjort det interessant at undersøge muligheden for vaccineret af hunde og mennesker. Forsøg med Beagle hunde, der blev vaccineret intramuskulært mod *H. pylori* viste god sikkerhed og immunogenicitet. De foreløbige positive resultater har igangsat yderligere forskning på dette område (14).

Diagnosticering:

Der er flere måder at bestemme om en hunds akutte eller kroniske gastrointestinale problem er kompliceret med *Helicobacter* infektion: De diagnostiske tests kan være enten invasive (kræver anæstesi og ventrikelbiopsier) eller noninvasive (kræver hverken biopsier eller anæstesi).

Invasive tests:

Biopsi: Selv om det er muligt, at udbredelsen af bakterien ikke er ensartet i hele ventriklen, er histopatologi den sikreste test til påvisning af HLO. Denne metode ikke alene påviser mikroorganismen, men kan samtidigt give oplysninger om graden og typen af inflammation og om tilstedeværelsen af eventuel cancer i ventriklen. Der synes ikke at være et prædilektionssted for HLO nogle steder i hundens ventrikel, men det nævnes at fundus og cardia er mere tæt koloniseret med bakterier end pylorus (11) og at der er signifikant lavere frekvens af *Helicobacter* i antrum end i ventriklens andre regioner (12,15). Histopatologisk er der med H&E farvning, Warthin Starry farvning og Immunohistokemi farvning påvist HLO i nogenlunde samme grad i de forskellige ventrikel regioner *cardia, fundus, corpus og pylorus* (16,17,18).

Impressionssmears/cytology: HLO kan nemt visualiseres ved eksempelvis simpel Gram farvning eller andre farvninger (3). Meget sensitiv test for HLO (10,15).

Elektronmikroskopi: Anvendes til differentiering og forskning (3).

PCR test: Særlig sensitiv DNA undersøgelse kan anvendes, typisk til forskning (3).

HPLO-test, HLO-test, RAPID UREASE TEST, GUT-plus, Pronto Dry: Under gastroskopian kan der udtages materiale ved biopsi til denne test-procedure. Fælles for disse tests er at de er hurtige tests med svar indenfor 10-60 minutter (3,17).

Noninvasive tests:

Serologi: Tidskrævende undersøgelse, der kan anvendes forskningsmæssigt til epidemiologiske studier og til undersøgelser for serokonvertering (3).

Udåndingstest, Urea Breath testing: Metode der anvendes human, særligt som kontrolmåling efter endt terapi for HLO. Har også været anvendt veterinært i forsøgs-undersøgelse med brugbare resultater, men metoden er veterinært upraktisk (10).

OXOID test: En human test, der ikke synes at have været testet på hunde tidligere. Agglutinationstest til påvisning af antistoffer overfor *H. Pylori* (19).

Forsøgsdesign:

Case/control. Observationsstudie.

Formål: -at undersøge prævalensen af HLO hos syge og raske hunde. Derudover at undersøge om der er overensstemmelse mellem den invasive HLO test og den noninvasive OXOID test.

En eventuel overensstemmelse kunne betyde en nemmere diagnosticering af *Helicobacter* for dyrlægepraksis uden endoskop.

Inklusionskriterier:

Raske hunde: 50 hunde er undersøgt på Kalundborg Dyreklinik. Ejer har mundtligt indvilliget i at hunden må deltage i undersøgelsen. Hunden er præsenteret i klinikken af anden årsag end GI-lidelse. Ejer er blevet spurgt om hunden inden for de seneste 2-3 uger har udvist symptomer vedr. mavetarmkanalen. Alle tilgængelige racer er indgået i undersøgelsen. Alle hunde har været fastet og har været i anæstesi med henblik på elektive indgreb som eksempelvis tandrensning, neutralisering og fjernelse af tumores eller andre mindre indgreb. Der er ikke selekteret i patientmaterialet. Der er ikke foretaget yderligere diagnostiske undersøgelser.

Syge hunde: 5 hunde (egne patienter) er undersøgt på Kalundborg Dyreklinik, 45 hunde (primært henvisningspatienter fra stort geografisk område i Danmark) er undersøgt på Karlsrunder Dyreklinik. Alle har inden for den seneste uge vist symptomer på GI-lidelse. Nogle har været syge i ugevis, nogle i adskillige måneder/år.

66% (33/50) har vomitus som eneste symptom, 14% (7/50) har både vomitus og diarre, 14% (7/50) har kun diarre og 6% (3/50) har anorexi/abdominale smerter uden vomitus eller diarre.

Materialer og metoder:

Definitioner;

Gastrointestinal (GI-) lidelse; Sygdomskompleks inkluderende vomitus, anorexi, abdominale smerter eller diarre. Der blev ikke taget højde for kroniciteten af forløbet.

Hunde der ikke havde udvist symptomer på GI-lidelser indenfor de seneste 2 uger eller været under behandling for GI-lidelse inden for den seneste måned blev klassificeret som "raske".

Hunde, der havde udvist symptomer indenfor minimum den sidste uge, blev klassificeret som værende "syge".

50 raske hunde og 50 syge hunde indgik i undersøgelsen. De fik alle foretaget en noninvasiv *Helicobacter spp.* test (OXOID Pylori test) og en invasiv *Helicobacter spp.* test (HLO-test). Hver hund indgik kun een gang i undersøgelsen (vægtning = 1).

2 forskellige klinikker har foretaget testene;

Kalundborg Dyreklinik har taget prøver fra 55 hunde (50 raske og 5 syge). Kun en person har tolket og aflæst resultaterne af prøverne.

Karlsunde Dyreklinik har taget prøver fra 45 syge hunde. Kun en person har tolket og aflæst resultaterne af prøverne.

Hundenes alder blev noteret og prøveresultaterne fra OXOID og HLO-test blev ligeledes noteret på skema umiddelbart efter undersøgelsen. Det histologiske svar blev noteret, når laboratoriesvaret forelå.

3/50 raske hunde (6%) og 48/50 (96%) syge hunde fik lavet histopatologisk undersøgelse for endelig diagnose / påvisning af *Helicobacter spp.*.

3 syge hunde med sandsynlig anden primær lidelse end HLO blev inkluderet i undersøgelsen. Een havde fremmedlegeme, een havde megaesophagus og een havde ventrikeltumor ved *pylorus*. Alle hunde var fastet i minimum 12 timer inden undersøgelsen. Hundene var i total anæstesi, lejret i venstre sideleje med monteret mundspærre. Patienterne var som minimum overvåget med Puls-oximeter.

Alle hunde fik foretaget en gastroskopisk undersøgelse af hele ventriklen med en visuel vurdering af mucosaen i ventriklens dele, *cardia*, *fundus*, *corpus*, *antrum* og *pylorus*.

Flexible endoskoper med diameter 9 mm blev anvendt. Ialt 51 hunde fik udtaget biopsier med biopsitænger gennem endoskopet. Der blev udtaget biopsier fra *cardia* og/eller *fundus* og *corpus*. *Corpus* er det primære sted at udtage biopsier til HLO test (1).

Antrum er humant mest brugt til påvisning af *Helicobacter pylori*, men området er meget fast i tekturen og svært at bioptere, da der tillige er meget få rugae og det er dermed sværere at bioptere og få tilstrækkeligt med prøvemateriale (minimum 1x2 mm).

Veterinært er det påvist af flere, at koncentrationen af HLO er mindst i *antrum*-regionen i forhold til de andre områder i ventriklen (11,12,15). Sensitiviteten er derfor mindst i *antrum*.

Testprocedurer:

Histopatologi:

51 hunde fik sendt prøvemateriale til eksternt laboratorie (Finn's Pathologists, One Eyed Lane, Weybread, Diss, Norfolk, IP21 5 TT, UK.)

Ingen gradinddeling af forandringerne. Der er ikke differentieret mellem andre primære eller sekundære fund i ventriklen, kun positiv eller negativ forekomst af HLO er inkluderet i denne undersøgelse.

HLO-test: (urease-test)

En biopsi (gerne flere) fra mucosaen i ventriklen (humant foretrækkes antrum, veterinært tages fra flere forskellige regioner) placeres i et snap-test medium indeholdende urea og en pH-indikator som for eksempel phenol rød. Urease produceret af HLO hydrolyserer urea til ammoniak, hvilket hæver pH i dette medium og ændrer farven af testmaterialet. Testen er semikvantitativ, hastigheden for farveomslag og graden af farveomslag indikerer graden af infektion. Testen overvåges jævnligt i løbet af 60 minutter, med mindre farveomslaget er kraftigt positivt inden. I testkittet er en reference til brug for aflæsningen. Det forudsættes at biopsitænger og endoskopet er rengjort lege artis mellem de enkelte patienter.



Urease test

OXOID-test:

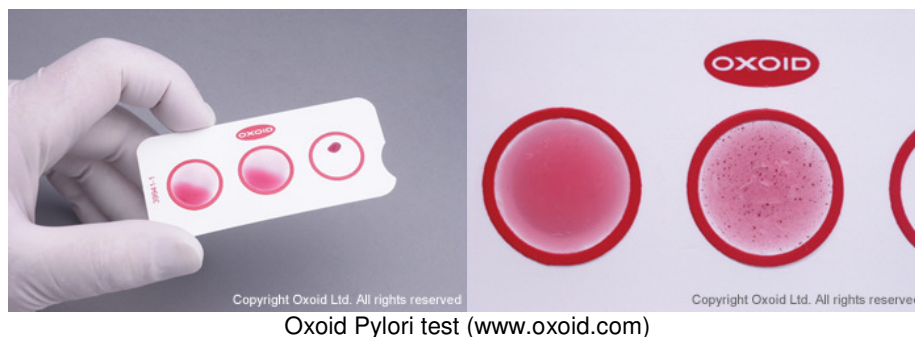
1. Brug den medfølgende mikropipette til at pipettere 30 myl fortyndingsbuffer på en cirkel på testkortet ved siden af latexreagensen for hver prøve, der skal testes.
2. Dispenser 10 myl patientserumprøve, der skal testes, på fortyndingsdråben. Bland grundigt ved at trække opløsningen frem og tilbage i pipetten mindst fem (5) gange.
3. Brug en ren ende af en blandestav for hver cirkel og bland omhyggeligt prøverne (eller kontrollerne) med latexreagensen på kortet. Brug prøven til at dække hele cirklen. Stavene bortskaffes efter brug.
4. Vip og roter testkortet, så reagenserne bevæges rundt og rundt i cirklen. Observer latexpartiklerne for at se, om der sker en agglutination indenfor tre (3) minutter.

Testresultatet er reaktivt, det vil sige at serumprøven indeholder et påviseligt niveau af antistoffer overfor *H. pylori*, hvis agglutinationen påvises i testcirklen indenfor tre (3) minutter.

Agglutinationen kan være komplet (rød granula på en hvid baggrund) eller delvis (granula kan påvises, men baggrunden forbliver opak).

Tilsvarende er prøven negativ, hvis ikke der påvises agglutination.

Der tildeles score 0 (negativ) eller 1 (svag / kraftig positiv).



**Resultater:
(bilag 2 viser resultater i skematisk form)**

Udregninger af anvendeligheden af de to hurtige tests sammenlignet med den sande test, histologi;

	Hist. +	Hist. -	
Oxoid+	28	14	42
Oxoid-	6	3	9
	34	17	51

Sensitivitet: 28/34 = 0,82
 Specificitet: 3/17 = 0,17
 Prævalens: 34/51 = 0,67
 PPV: 28/42 = 0,67
 NPV: 3/9 = 0,33

	Hist. +	Hist. -	
Urease+	31	9	40
Urease-	3	8	11
	34	17	51

Sensitivitet: 31/34 = 0,91
 Specificitet: 8/17 = 0,47
 Prævalens: 34/51 = 0,67
 PPV: 31/40 = 0,76
 NPV: 8/11 = 0,73

Sammenlignelighed af de to tests:

	Urease+	Urease-	
Oxoid+	62	17	79
Oxoid-	12	9	21
	74	26	100

Kappa udregnet til 0,196, hvilket er ensbetydende med ringe overensstemmelse mellem disse to tests. (2by2.xls)

De undersøgte hunde var i gennemsnit cirka 42 måneder gamle (4-150 måneder). Aldersfordelingen hos de raske og de syge er meget lig hinanden og alder synes ikke at være nogen risikofaktor i denne undersøgelse.

Ingen racer var overrepræsenteret.

HLO hos syge hunde blev påvist ved histologisk undersøgelse hos 64,6 %, (31/48)

HLO hos raske hunde blev påvist ved histologisk undersøgelse hos 100 %, (3/3)

Ialt blev påvist HLO hos 66,7 % (34/51) af de 51 hunde der fik lavet histologi.

HLO hos syge hunde blev påvist ved OXOID test hos 87,5% (42/48)

HLO hos raske hunde blev påvist ved OXOID test hos 74% (37/50)

Ialt blev påvist HLO hos 79 % af alle hunde ved OXOID test.

HLO hos syge hunde blev påvist ved HLO urease test hos 78% (39/50)

HLO hos raske hunde blev påvist ved HLO urease test hos 70 % (35/50)

Ialt blev påvist HLO hos 74% af alle hunde ved HLO urease test.

Konklusion:

De invasive tests er både mere sensitive og specifikke end den non-invasive agglutinationstest, men de kræver dyrt instrumentarium. Alle 3 tests påviser høj forekomst af *Helicobacter lignende* organismer, men særligt specificiteten er lav på de hurtige tests. Urease test synes noget mere pålidelig end OXOID test, der har en specificitet på kun 0,17 sammenlignet med histologi. Selv om prævalensen ikke er så forskellig for HLO på de to hurtige tests, så er sammenligneligheden kun ringe med en Kappa på under 0,2. Det er svært at sige noget om sikkerheden af testene på de raske hunde, da der ikke foreligger histologisk svar på størstedelen.

Diskussion:

Helicobacter pylori forekommer over hele verden. Det anslås at 60% af verdens befolkning er smittet, størst prævalens i U-lande, hvor der er ca. 80 %. Prævalensen i I-lande er faldende, i Vesteuropa er ca. 30 % af befolkningen smittet eller har været smittet med *Helicobacter pylori*. Alle de smittede vil udvikle gastritis, de fleste dog asymptomatisk. 15-20 % af de smittede vil udvikle mavesår og mindre end 1 % vil udvikle ventrikelcancer (20). Denne globale store betydning gør det til et godt rationale også at undersøge den veterinære betydning, både på enkeltdyrsniveau og som en samlet patientgruppe, selv om det er andre typer af *Helicobacter spp.*, der påvises.

HLO observeres ofte i hundens ventrikel-mucosa, men sammenhængen mellem disse mikroorganismer og de patologiske og kliniske forandringer er ikke klarlagt. Forskellige *Helicobacter* species er påvist i mucosa, men deres specifikke prævalens hos naturligt inficerede hunde er ukendt.

I denne undersøgelse er fundet prævalens af HLO som i tidligere undersøgelser (tabel 1). Smitte med HLO udgør ikke en sundhedsrisiko i samme grad som humant, ligesom der ikke påvist *H. pylori* hos hunde. Ikke desto mindre er der stort positivt fund ved specifik *H. pylori* serum agglutinationstest.

Ifølge *OXOID Danmark* kan dette skyldes en utilstrækkelig oprensning af antigenerne, der findes i testkittet. Dette skulle kunne gøre den mindre specifik for *H. pylori*, og desuden medføre krydsreaktion med andre lignende bakteriestammer. Problemstillingen synes ikke at have været overvejet tidligere humant (19).

Af tidsmæssige- og økonomiske årsager kunne det være interessant for dyrlæger at være i stand til at påvise HLO noninvasivt med OXOID Pylori test, men resultaterne lever ikke op til forventningen om samme resultat som Urease-testen eller den histologiske undersøgelse.

Der er flere usikkerhedskilder i denne undersøgelse. Af økonomiske hensyn er der ikke foretaget en histologisk vurdering af størsteparten af de raske hunde.

Der er risiko for, at vurderingerne af de to hurtige tests tolkes forskelligt, både på samme klinik og af samme person, men også de to klinikker imellem.

Udtagelsen af biopsimaterialet kan ligeledes variere med henblik på rutine, udtagelsessteder, udtagelsesmateriale, type af biopsitænger anvendt osv.

Fejlkategorisering af patienternes status som enten rask eller syg kan forekomme.

Patientmaterialet og udvælgelsesproceduren synes at være repræsentativt og validt, både hvad angår syge og raske hunde.

Det synes svært i litteraturen at finde fornuftige forklaringer på ikke at anvende impressionsmears til diagnosticeringen, da flere undersøgelser viser en meget stor sensitivitet. Ulempen ved cytologi er mangel på muligheden for vurderingen af de dybere liggende forandringer i mucosaen.

Testene er fra human side beregnet til påvisning af *H. pylori*, og da denne mikroorganisme ikke er påvist hos hunde, kan dette også være en årsag til nedsat test-sikkerhed, både hos OXOID- og Urease testen.

Endelig er også andre bakterietyper i stand til at danne urease, ex. *Proteus spp.*, der også kan findes i ventriklen. Disse kan give falsk-positive Urease tests.

Som andre tidligere undersøgelser er denne heller ikke diagnostisk konklusiv, men stadig synes histologi og eventuelt cytologi de mest anvendelige tests i praksis.

Tak til Karlslunde Dyrehospital Aps, Greve main 41, 2670 Greve for hjælp med udførelsen af testene.

Tak til OXOID A/S, Lunikvej 28, 2670 Greve for sponsorering af Urease tests.

Litteraturliste:

1: Marshall, B.J & Warren J.R., Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration, Lancet i: 1311, 1984.

2: Talley, N.J. et al, Gastric adenocarcinoma and helicobacter pylori infection, Journal of National Cancer Inst 83:1734, 1991.

3: Strauss-Ayali, Dalit & W.Simpson, Kenneth, Gastric Helicobacter infection in dogs, Veterinary Clinics of North America, Small animal practice, vol. 29:2, p. 397-415, marts 1999.

4: Sapierzynski, R. et al, The presence of Helicobacter-like microorganisms in the gastric mucosa in dogs, Polish Journal of Veterinary Sciences, vol. 6, no 4, p. 247-252, 2003.

5: Eaton, K.A. et al, Prevalence and varieties of Helicobacter species in dogs from random sources and pet dogs. Animal and public health implications, Journal of Clinical Microbiology 34,3165, 1996.

6: Simpson, K.W. et al, The Relationship of *Helicobacter* Spp. Infection to Gastric Disease in Dogs and Cats, Journal of Veterinary Internal Medicine;14; p. 223-227, 2000. (ACVIM Consensus Statement).

7: Jalava, K. et al, Isolation and identification of Helicobacter spp. from canine and gastric mucosa. Appl. Environmental Microbiology 64, 3998, 1998.

8: Simpson, K.W., helicobacter infections in dogs and cats: What´s new ?, DSAVA 2007, Forelæsningstitel: Histiocytic ulcerative colitis and feline cholangiohepatitis, Infectious or immune mediated.

9: Sokolow, Susanne H. et al, Epidemiologic evaluation of diarrhea in dogs in an animal shelter, American Journal of Veterinary Research, vol. 66, No 6, p. 1018-1024, 2005.

10: Cornetta, A.M et al, use of a {13C}urea breath test for detection of gastric infection with helicobacter spp in dogs, American Journal of Veterinary Research, vol. 59, no. 11, p. 1364-1369, November 1998.

11: Happonen, I. et al, Occurrence and topographical mapping of gastric *Helicobacter*-like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cats, Journal of Veterinary Medical Associations, 43; p. 305-315, 1996.

12: Simpson, K. et al, Gastric Function in Dogs with Naturally Acquired Gastric *Helicobacter* spp. Infection, Journal of Veterinary Internal Medicine, vol. 13, p. 507-515, 1999.

13: Happonen, I. et al, Effect of triple therapy on eradication of canine gastric *Helicobacters* and gastric disease, Journal of Small Animal Practice, vol. 41, p. 1-6, 2000.

14: Rossi, Giacomo et al, Therapeutic Vaccination against *Helicobacter pylori* in the Beagle Dog Experimental Model: Safety, Immunogenicity, and Efficacy, *Infection and Immunity*, p. 3252-3259, 2004.

15: Happonen, I. et al, Detection and effect of helicobacters in healthy dogs with signs of gastritis, *Journal of American Veterinary Medical Association*, vol. 213, no. 12, p. 1767-1774, 1998.

16: Prachasilpchau, W. et al, Diagnosis of *Helicobacter* spp. infection in canine stomach, *Journal of Veterinary Sciences*, 8 (2) p. 139-145, 2007.

17: Sapieryński, R. et al, The diagnosis of gastritis and helicobacter-like organisms infection in endoscopic biopsies of the canine gastric mucosa, *Polish Journal of Veterinary Sciences*, vol. 9, No. 1, p. 17-21, 2006.

18: Neiger, Reto & Simpson Kenneth W., *Helicobacter Infection in dogs and Cats: Facts and Fiction*, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14: p. 125-133, 2000.

19: OXOID Danmark, (mundtlig korrespondance med Nordisk Produktchef Jakob Westergård Nielsen, Thermo Fisher Scientific, Lunikvej 28, 2670 Greve.)

20: www.ugeskriftet.dk (Ugeskrift for læger).

Bilag 1. Eksempler på terapi:

Triple Therapies

GENERIC NAME	DOSING	DURATION	CURE RATE (%)
bismuth subsalicylate	Two tablets (525 mg) QID	14 days	77-82
or			
bismuth subcitrate	One tablet (120 mg) QID	14 days	
metronidazole	250 mg QID	14 days	
tetracycline	500 mg QID	14 days	
H 2 antagonist	dose to heal ulcer	28 days	
GENERIC NAME	DOSING	DURATION	CURE RATE (%)
lansoprazole	30 mg BID	14 days	86-92
amoxicillin	1,000 mg BID	14 days	
clarithromycin	500 mg BID	14 days	

Quadruple therapies

GENERIC NAME	DOSING	DURATION	CURE RATE (%)
bismuth subsalicylate	Two tablets (525 mg) QID	7 days	85-95
or			
Colloidal bismuth subcitrate	One tablet (120 mg) QID	14 days	
metronidazole	250 mg QID	7 days	
tetracycline	500 mg QID	7 days	
omeprazole	20 mg BID	7 days	
or			
lansoprazole	30 mg BID	7 days	

Helicobacter Foundation

Bilag 2. Resultater/skematisk:

1=SYG 1=POS 1=POS 1=POS
 0=RASK 0=NEG 0=NEG 0=NEG

PATIENT	# MDR	VÆGTNING	GI-SYMP.	OXOID	HPLO	HISTOL.	NOTE
1	21	1	0	1	0		
2	36	1	0	1	0		
3	29	1	0	1	1		
4	24	1	0	1	1		
5	24	1	0	1	1		
6	144	1	0	0	0		
7	130	1	0	1	1		
8	84	1	0	0	1		
9	6	1	0	1	1		
10	8	1	0	1	1		
11	60	1	0	1	0		
12	12	1	0	0	0		
13	8	1	0	1	1		
14	4	1	0	1	1		
15	84	1	0	0	1		
16	60	1	0	1	0		
17	24	1	0	0	1		
18	24	1	0	0	1		
19	72	1	0	1	1		
20	60	1	0	1	1		
21	40	1	0	1	1		
22	36	1	0	1	1		
23	9	1	0	0	0		
24	120	1	0	1	1		
25	60	1	0	0	1		
26	24	1	0	1	1		
27	36	1	0	1	1		
28	24	1	0	1	1		
29	108	1	0	1	0		
30	90	1	0	0	0		
31	24	1	0	1	0		
32	12	1	0	1	0		
33	36	1	0	0	1		
34	7	1	0	1	1		
35	12	1	0	0	0		
36	87	1	0	1	1		
37	30	1	0	1	1		
38	17	1	0	0	0		
39	36	1	0	1	1		

40	41	1	0	1	1		
41	11	1	0	1	0		
42	11	1	0	1	1		
43	24	1	0	1	1		
44	27	1	0	1	1		
45	7	1	0	1	1		
46	16	1	0	1	0		
47	12	1	0	1	1		
48	86	1	0	0	1	1	
49	78	1	0	1	1	1	
50	41	1	0	1	1	1	
51	12	1	1	1	1	1	
52	75	1	1	1	1	0	
53	39	1	1	1	1	0	
54	28	1	1	1	1	1	
55	11	1	1	1	0	0	
56	84	1	1	1	1	0	
57	112	1	1	0	1	1	
58	106	1	1	0	1	1	
59	96	1	1	1	1	1	
60	7	1	1	1	1	1	
61	96	1	1	0	1	1	
62	38	1	1	1	0	0	
63	18	1	1	1	1	1	
64	8	1	1	1	0	1	
65	18	1	1	1	0	1	
66	150	1	1	0	0	0	
67	60	1	1	1	1	1	
68	18	1	1	1	1	1	
69	42	1	1	0	0	0	
70	41	1	1	1	0	0	
71	66	1	1	1	1	1	
72	72	1	1	1	1	1	
73	17	1	1	1	1	1	
74	24	1	1	1	0	0	
75	9	1	1	1	1	1	
76	41	1	1	1	1	0	
77	20	1	1	1	1	1	
78	55	1	1	1	0	1	
79	48	1	1	1	1	0	
80	27	1	1	1	1	0	
81	36	1	1	1	1	1	
82	27	1	1	1	1	1	
83	6	1	1	1	1	1	
84	39	1	1	1	1	1	
85	9	1	1	1	1	1	
86	42	1	1	1	1	1	
87	39	1	1	1	1	1	
88	30	1	1	1	0	0	
89	14	1	1	1	1	1	

90	45	1	1	1	1		
91	15	1	1	1	1		
92	36	1	1	0	1	1	
93	36	1	1	0	0	0	
94	11	1	1	1	1	1	
95	89	1	1	1	1	0	
96	46	1	1	1	1	0	
97	24	1	1	1	1	0	
98	90	1	1	0	1	1	FRM.LGM
99	7	1	1	1	1		MEGAOESOP
100	78	1	1	1	1		VENT. TUMOR
MIDDEL MID. RASK MID. SYG	42,33 41,52 43,14			0,79 0,74 0,84	0,74 0,7 0,78	0,666667 1 0,645833	(n=51) (n=3) (n=48)

