



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi
Hippologenheten

Mockning som beteshygienisk åtgärd för parasitbekämpning hos häst

*A field study of the effect of faecal removal from pasture on
prevalence of equine parasites*

Helena Thorolfson Rainamo

Examensarbete/Självständigt arbete • 15 hp

Hippolog - kandidatprogram

Examensarbete på kandidatnivå, K81

Enheten för hippologutbildning

Uppsala 2018

Mockning som beteshygienisk åtgärd för parasitbekämpning hos häst

A field study of the effect of faecal removal from pasture on prevalence of equine parasites

Helena Thorolfson Rainamo

Handledare: Nina Roepstorff, Ridskolan Strömsholm
Bitr. handledare: Eva Osterman Lind, SVA
Examinator: Giulio Grandi, SLU, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp
Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E
Kurstitel: Examensarbete i hippologi
Kurskod: EX0497
Program/utbildning: Hippolog - kandidatprogram

Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: **2018**
Serietitel: Examensarbete på kandidatnivå
Delnummer i serien: K81
Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: cyathostominae, strongylus vulgaris, anthelmintic resistance

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Anatomi, fysiologi och biokemi
Hippologenheten

INNEHÅLL

ABSTRACT	2
INTRODUKTION	2
Blodmaskar	2
Parasitkontroll	3
Resistensutveckling	4
Alternativa metoder för att kontrollera parasiter	4
Problem	4
Syfte	4
Frågeställning	5
Hypotes	5
TEORIAVSNITT	5
Livscykel Cyathostominae	5
Livscykel Strongylus vulgaris	6
Diagnostisering	6
Resistensutveckling	7
Alternativa smittkällor	8
Alternativa metoder för att kontrollera parasiter	8
MATERIAL OCH METOD	9
Genomförande	9
Analys av träckprov	9
Insamling av gräsprover	9
Analys av gräsprov	10
Väderdata	11
Statistisk analys	11
RESULTAT	11
EPG-räkning	11
Laboratorieundersökning	11
Väderförhållanden	12
DISKUSSION	13
Temperatur och nederbörd	14
Material och metod	14
Beteshygien	15
Förslag på framtida studier	15
Slutsatser och hypotesprövning	16
SAMMANFATTNING	16
FÖRFATTARENS TACK	17
REFERENSER	17
Litteratur	17
Internet	19
Personliga meddelanden	19

ABSTRACT

A field study of the effect of faecal removal from pasture on prevalence of equine parasites

Strongylus vulgaris (*S. vulgaris*) is one of the most pathogenic parasites in horses. To control *S. vulgaris*, chemical substances named anthelmintics were introduced in the 1960`s. These drugs were used in what was called interval dose systems where horses were treated at two month intervals year round. This led to a decline of *S. vulgaris* and an increase of cyathostomins, resistant to all three available classes of anthelmintics. Today cyathostomins are the most prevalent parasites affecting horses. The cyathostomins can be pathogenic. Since the 90`s no new anthelmintic classes have been introduced and there is a substantial risk that anthelmintics used today no longer will be effective in the future. Resistant cyathostomins are now a threat to equine welfare and therefore research to develop non-chemical alternatives for parasite control is needed. Infectious third stage larvae, L3, are ingested by horses on pastures. One alternative method includes manual faecal removal from pasture where little work has been done to confirm the effectiveness of this method.

The aim of this study was to elucidate if manual faecal removal from pasture twice a week can reduce the amount of infectious larvae found in grass samples from pasture. The hypothesis was that the average larval counts from the pasture where faeces was removed manually twice a week would be lower than the average larval counts from the pasture where faeces was not removed.

In this study, grass samples were collected from two pastures, where three horses with known egg shedding were grazing. Every other day, the horses were transferred from one pasture to the other. From one of the pastures, faeces were removed manually, twice a week. From the other pasture, no faeces were removed. Samples were prepared in the laboratory and L3-larvae were counted under a microscope.

The L3-larval counts from the pasture where faeces were removed manually twice a week, resulted in an average number of seven compared to the larval counts obtained from the pasture from which there was no faecal removal where the average number was 3480. This indicates that removing equine faeces from pasture twice a week could be an effective method to reduce infectious L3-larvae in the grass and help to control parasite infection.

INTRODUKTION

Blodmaskar

Redan under antiken var det känt att parasiter orsakade sjukdomstillstånd hos hästar (Hugot, Baujard & Morand 2001). Läkekonstens fader Hippokrates nämnde i en av sina skrifter att hästar plågades av parasiter som var svåra att behandla (Hugot, Baujard & Morand 2001). Så gott som alla hästar är infekterade med endoparasiter (Osterman Lind

et al. 2007). Hästens vanligaste parasiter är blodmaskar, så kallade strongylida maskar. Blodmaskarna brukar delas in i stora (*Strongylus species*) och små (Cyathostominae) (SVA 2016). Hästarna smittas med blodmask när de betar gräs på infekterade beten (Peregrine et al. 2006). I mindre mängd påverkar parasiter vanligen inte hästens hälsa, men större mängder parasiter kan däremot orsaka allvarliga hälsoproblem (Matthews 2014). Föl och unghästar är normalt känsligare för parasitangrepp än vuxna hästar (Peregrine et al. 2006).

Strongylus vulgaris (*S. vulgaris*) förknippas främst med kolik orsakad av larvstadier som vandrar i blodkärlen och som då ger upphov till tarmskador, vilka kan bli letala (SVA 2016).

Infektion med små Cyathostominae kan orsaka avmagring, diarré och kolik (Morariu et al. 2008). Hästar kan även insjukna i ett allvarligt tillstånd, kallat *larval cyathostominos*, vilket innebär att stora mängder larver som befunnit sig i vila i tarmväggen reaktiveras och tar sig ut i tarmen samtidigt, ibland med dödlig utgång (Peregrine et al. 2006).

Utvecklingen från ägg till det infektiösa tredje larvala stadiet, L3, tar omkring 2-4 veckor (Corbett et al. 2014). Det är under det tredje stadiet som parasiten, beroende av regn, migrerar från träcken ut i betet (Corbett et al. 2014). En studie av Love et al. (2016) har även visat att infektiösa larver kan utvecklas i fuktiga halmbäddar. Cyathostominae-larvernans utveckling och överlevnad påverkas av temperatur och luftfuktighet (Love et al. 2016). Larverna utvecklas snabbare och överlever längre i fuktigt väder, med temperaturer kring 10-25 grader (Morariu et al. 2008). Blodmaskäggen tål även låga temperaturer och minusgrader (Osterman Lind 2005). Det är också känt att larverna i det tredje larvala stadiet tål sträng kyla och att ett snötäcke kan fungera som skydd under vintern (Osterman Lind 2005).

Parasitkontroll

Under århundraden saknades möjlighet att kontrollera parasiterna och behandla de infekterade hästarna. Under början av 1960-talet introducerades avmaskningsmedel innehållande bensimidazoler, en typ av anthelmintika som innebar ett effektivt och säkert sätt att behandla hästar mot parasiter. Rekommendationen var att alla hästar skulle avmaskas var åttonde vecka, vilket resulterade i att parasitorsakade sjukdomsfall och dödsfall minskade drastiskt. Det huvudsakliga syftet var att kontrollera *S. vulgaris* som därmed kraftigt minskade i frekvens. Tyvärr har den intensiva användningen av anthelmintika lett till att hästens parasiter, framförallt Cyathostominae har utvecklat resistens mot dessa substanser. (Kaplan & Nielsen 2010)

År 2007 infördes receptbeläggning av all anthelmintika för häst i Sverige (Osterman Lind 2007). För utfärdande av recept rekommenderas individuella träckprov och riktad selektiv avmaskning av hästar (SVA 2016). Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) rekommenderar för närvarande avmaskning vid äggutskiljning över 200 ägg per gram träck (EPG) samt vid förekomst av *S. vulgaris* och/eller bandmask (Osterman Lind 2017, personligt meddelande). Det fanns fortfarande år 2010 veterinärer som rekommenderade

rutinmässiga avmaskningar baserat på den kunskap som fanns för 40–50 år sedan (Kaplan & Nielsen 2010).

Resistensutveckling

Hästens parasiter har utvecklat resistens mot anthelmintika, vilket innebär ett hot mot hästens hälsa (Kaplan 2002). Resistens mot anthelmintika kan definieras som genetiskt överförd förlust av känslighet för en substans, i en maskpopulation som tidigare var känslig för samma substans (Ihler 2010). I praktiken innebär det att maskar överlever vid avmaskning (Ihler 2010). De första rapporterna om resistens mot anthelmintika hos Cyathostominae kom redan i mitten av 1960-talet (Kaplan 2004). När moderna läkemedel mot parasitinfektioner togs fram under de följande årtiondena, följdes de av rapporter om resistensutveckling hos parasiter som behandlades med substanserna (Kaplan 2004).

Nya läkemedel för att bekämpa parasiter hos hästar har inte kommit ut på marknaden sedan 90-talet (Nielsen et al. 2007). Samtidigt har en överanvändning av befintliga substanser på ett dramatiskt sätt förändrat förekomst och biologi hos parasiterna (Nielsen et al. 2007). Befintliga preparat i samtliga tre klasser av anthelmintika som finns tillgängliga riskerar att bli verkningslösa i framtiden (Kaplan 2002). Detta innebär att behovet av att utveckla alternativa, icke kemiska metoder för parasitkontroll är mycket stort (Kaplan 2002). Det är nödvändigt för framtiden att inom hästnäringen tillämpa långsiktigt hållbara rutiner för parasitkontroll, för att stoppa den ökande resistensutvecklingen (Corbett et al. 2014).

Alternativa metoder för att kontrollera parasiter

En omfattande studie av beteshygien som metod för parasitkontroll utfördes i Storbritannien på åsnor. Resultaten visade att de åsnor som gått på de fält som mockats, hade stadigt minskande ägg per gram träck jämfört med de åsnor som betat på de omockade fälten. (Corbett et al. 2014)

Problem

Försök att få kontroll över framförallt *S. vulgaris* har lett till en överanvändning av anthelmintika vilket i sin tur lett till att resistenta arter av Cyathostominae har utvecklats. Befintliga anthelmintika riskerar att bli verkningslösa. En minskad användning av kemiska preparat genom riktad selektiv avmaskning riskerar att leda till att *S. vulgaris* ökar igen. Icke kemiska metoder behöver därför utvecklas för att bidra till att kontrollera parasittrycket. En sådan metod kan innefatta beteshygieniska åtgärder såsom mockning av beteshage.

Syfte

Syftet med det här arbetet var att undersöka om regelbunden manuell mockning av beteshage kan reducera parasitsmitta på betet och på så sätt utgöra ett effektivt komplement till avmaskning för hållbar parasitkontroll.

Frågeställning

Hur påverkar mockning av beteshage två gånger i veckan antalet L3-larver i gräset?

Hypotes

Hypotesen var att mockning av en parasitinfekterad beteshage två gånger i veckan skulle reducera antalet L3-larver i gräsproverna jämfört med gräsprover tagna från en parasitinfekterad hage som inte mockades. Medelvärdet av de prover som tagits från den mockade beteshagen bör vara lägre än medelvärdet av de gräsprover som tagits från den omockade beteshagen.

TEORIAVSNITT

Livscykel Cyathostominae

Inom gruppen Cyathostominae finns ett 50-tal arter beskrivna (Bredtmann et al. 2017; Osterman Lind et al. 2007). I en svensk studie utförd av Osterman Lind et al. (2003) vid ett stuteri i Skåne identifierades 15 arter av Cyathostominae. Det var sex arter som stod för över 90 procent av cyathostominerna som påträffades hos hästarna i studien (Osterman Lind et al. 2003). Varje häst var i genomsnitt infekterad med 9 arter (Osterman Lind et al. 2003).

Cyathostominae har en direkt livscykel, vilket betyder att maskarna inte använder sig av någon mellanvärd innan de infekterar hästen (Bredtmann et al. 2017).

Blodmaskarna är morfologiskt oskiljaktiga som ägg och det är därför inte möjligt att identifiera vilken art de tillhör genom mikroskopering (Kaplan 2002). Blodmaskäggen kommer ut med hästens träck och kläcks i träckbollarna på betet (Bredtmann et al. 2017). Inom två till fyra dagar utvecklas de under goda förhållanden till det första larvala stadiet, L1 (Osterman Lind 2005). De nykläckta L1-larverna utvecklas sedan vidare till det andra larvala stadiet, L2, och sedan vidare till L3-larver (Bredtmann et al. 2017). Efter att hästen fått i sig L3-larverna, se figur 1, via betet kapslar de in sig i grovtarmens mukosa eller submukosa, det vill säga tarmens slemhinna och dess närmaste undre lager, där de kan ligga vilande under flera år (Matthews 2014; Peregrine et al. 2006). Dessa L3-larver är relativt okänsliga mot anthelmintika (Matthews 2014). Larverna utvecklas så småningom till L4-stadiet och tar sig ut från slemhinnan till lumen, tarmens hålrum, där de mognar till L5-stadiet och köns mogna vuxna maskar (Peregrine et al. 2006). När larverna tar sig ut ur tarmslemhinnan uppstår en lokal inflammation i tarmen vilket kan ge upphov till symptom (Peregrine et al. 2006). Maskarna är gråvita eller rödaktiga och en halv till två centimeter långa (SVA 2016). Prepatenstiden, det vill säga tiden från att hästen infekteras till dess att den utskiljer ägg med träcken är omkring två till tre månader (Osterman Lind 2005).



Figur 1. Cyathostominae i L3-larv stadium. Foto: Eva Osterman Lind, Statens veterinärmedicinska anstalt.

Livscykel *Strongylus vulgaris*

S. vulgaris har liksom Cyathostominae en direkt livscykel. *S. vulgaris* lägger ägg i tarmen hos den infekterade hästen som sedan kommer ut med träcken på betet och utvecklas till infektiösa L3-larver, se figur 2. När L3-larverna har intagits av hästen och hamnat i tarmen utvecklas den till L4-larv. Dessa borrar in sig i blodkärlen i tarmväggen och förflyttar sig via kärlen till främre krösrotsartären, det stora kärlet som grenar ut från aorta och försörjer tarmarna med arteriellt blod. Just i förgreningen sker sedan utvecklingen till det femte larvala stadiet, L5, vilket är den vuxna parasiten. Denna utveckling tar tre till fyra månader. Därefter hamnar de åter i grovtarmen via blodbanorna där de fäster vid tarmslemhinnan och äggläggning sker. (Khan, Roohi & Rana 2015)

Prepatenstiden för *S. vulgaris* är omkring sex månader (Osterman Lind 2005)



Figur 2. Överst på bilden visas *Strongylus vulgaris* och den undre är en Cyathostominae, bägge i det tredje larvala stadiet. Foto: Eva Osterman Lind, Statens veterinärmedicinska anstalt.

Diagnostisering

Blodmaskinfektion diagnostiseras vanligen genom påvisande av ägg i träckprov (Kaplan 2002). Genom att fastställa EPG uppskattas mängden vuxna äggläggande maskar i tarmen (Kaplan 2002). Det finns idag inget effektivt sätt att exakt fastställa mängden larver av blodmask (Peregrine et al. 2006). En metod för att diagnostisera *S. vulgaris* är

att göra en larvodling från träckprovets ägg, som följs av en mikroskopering för morfologisk artbestämning (Kaplan 2002).

Resistensutveckling

Thiabendazole som tillhör gruppen bensimidazoler, godkändes för användning på häst år 1962 och de första rapporterna om resistens mot denna substans publicerades år 1965 (Kaplan 2004). Resistens mot bensimidazol bekräftades så sent som år 2000 i en studie utförd hos svenska hästbesättningar, trots att svenska hästar inte behandlats med substansen på mellan tio och femton år (Osterman Lind 2005).

År 1974 registrerades substansen pyrantel, tillhörande gruppen tetrahydropyrimidiner och under 80- och 90-talen introducerades ivermektin och moxidectin som är makrocycliska laktoner (Kaplan 2004). Dessa tre grupper utgör i dag de medel som finns att tillgå för att på kemisk väg bekämpa hästens parasiter (Matthews 2012; Molento, Nielsen & Kaplan 2012). Länge var ivermektin den substans som var mest effektiv men resistens hos Cyathostominae mot substanser ur samtliga tre grupper har nu konstaterats (Matthews 2012; Molento, Nielsen & Kaplan 2012).

Mekanismen för resistensen på molekylär nivå hos Cyathostominae är föga känd. Mest kunskap har man om bensimidazoler och deras påverkan på betatubulinprotein som bygger upp mikrotubuli där också genen har klonats och undersökts. (Kaplan 2002)

Infektion av Cyathostominae hos hästar innebär ofta att flera arter infekterar hästen samtidigt (Bredtmann et al. 2017). De enskilda arterna hos Cyathostominae är svåra att särskilja då tillräckligt bra identifikationsmetoder saknas (Bredtmann et al. 2017). Kunskap huruvida vissa arter spelar större roll än andra för uppkomst av resistens är ännu oklart (Bredtmann et al. 2017; Nielsen et al. 2014). Det finns också undersökningar som tyder på att olika stadier av samma art kan ha olika grader av motståndskraft (Nielsen et al. 2014).

Utvecklingen av anthelmintikaresistens är komplex och påverkas av flera faktorer. Den enskilt viktigaste faktorn har att göra med storleken av parasitrefugium. Detta definieras som den del av parasitpopulationen som inte utsätts för anthelmintikasubstansen under behandlingen, till exempel de frilevande larverna på betet och parasitstadier där substansen inte har någon verkan, samt hästar som inte ingår i behandlingen. Dessa individer utgör en pool för icke resistenta alleler som sedan kan späda ut de resistenta allelerna i populationen. Följaktligen kan åtgärder för att bevara dessa refugia vara av betydelse för att bromsa resistensutvecklingen. (Nielsen et al. 2007)

Det har tidigare antagits att resistensalleler förekommer i populationen naturligt i små mängder innan den behandlas med anthelmintika. Behandlingen skulle sedan selektera för de resistenta individerna. Senare data har dock visat att det snarare är spontana mutationer som sker med återkommande frekvens som står för resistensen som omedelbart blir framselekerad när anthelmintika sätts in. (Nielsen et al. 2014)

Den metod som för närvarande finns tillgänglig för att mäta resistens är faecal egg count reduction test (FECRT). Minskningen av ägg efter behandlingen mäts för ett antal hästar och ett medelvärde av effektiviteten, mätt i procent, räknas ut. Enligt riktlinjer som utarbetats av World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology så är värden under 90 % en indikation på att resistens föreligger. (von Samson-Himmelstjerna 2012)

Alternativa smittkällor

I en studie utförd av Love et al. (2016) visade resultaten att Cyathostominae kan utvecklas till infektiösa larver i fuktiga halmbäddar. De samlade in 24 halmprover, från 6 olika åsnestallar. I 18 av dessa prover, från samtliga sex stall, påträffades infektiösa Cyathostominae-larver. Som mest påträffades cirka 4500 larver per kilo torrbädd. Därmed finns det en möjlighet att hästar som står på halmbädd, kan infekteras i boxen om de äter halmen. De infektiösa larverna påträffades endast i fuktig halm, inte i den torra. Byte av halmbädd till ny halm, resulterade i att antalet påträffade larver sjönk.

Alternativa metoder för att kontrollera parasiter

I Devon, Storbritannien, utförde Corbett et al. (2014) en studie i en fristad för åsnor. De fördelade 345 åsnor på elva olika fält som delades in i tre grupper. Den första gruppens beten, bestående av totalt 96 åsnor, fördelade på fyra fält, mockades manuellt två gånger i veckan. Den andra gruppens beten, bestående av totalt 137 åsnor, fördelade på fyra fält, mockades automatiskt med maskin två gånger i veckan. Den tredje gruppens beten, bestående av resterande 112 åsnor, fördelade på tre fält, mockades inte. Studien pågick under sju månader från maj till oktober år 2010. McMaster- teknik användes för att beräkna antalet ägg i träcken och användes som metod för att jämföra resultaten mellan grupperna. De individuella värdena hos åsnorna varierade från 0 till 5050 EPG. Åsnorna med EPG-värden på 2000 och uppåt behandlades med anthelmintika. Totalt administrerades 75 doser anthelmintika, som fördelades på 41 åsnor under studietiden. Resultaten visade att de åsnor som gått på de fält som mockats, hade stadigt minskande Cyathostominae börda, jämfört med de åsnor som betat på de omockade fälten. Metoden som användes för att avlägsna träcken från betena, verkade inte påverka resultatet. De flesta studier avseende Cyathostominae är utförda på häst, trots det anses de vara överförbara på alla hästdjur. Livscykeln hos parasiterna är lika hos åsnor och hästar. Åsnor som får ivermektin intramuskulärt visar 0 EPG på träckprover under en period efteråt. Dessa likheter gjorde att Corbett et al. (2014) drog slutsatsen att även om studien är utförd på åsnor, så bör rekommendationen vara överförbar på hästar. Rådet som Corbett et al. (2014) ger, är att om betet innehåller mer än en häst per hektar, så bör betet mockas två gånger i veckan. Syftet var att avlägsna träcken innan larverna utvecklas från L1 till L3 och migrerar ut i betet. Vidare samlades gräsprover in från betena som undersöktes. Där visade 21 av 30 prover från den manuellt mockade hagen på 0 antal påträffade infektiösa larver i gräsproverna. Proverna från den automatiskt mockade hagen och den omockade hagen visade på högre siffror. Slutsatsen av studien blev att de saknade tillräckligt med data för att skapa underlag för en statistisk analys.

MATERIAL OCH METOD

Genomförande

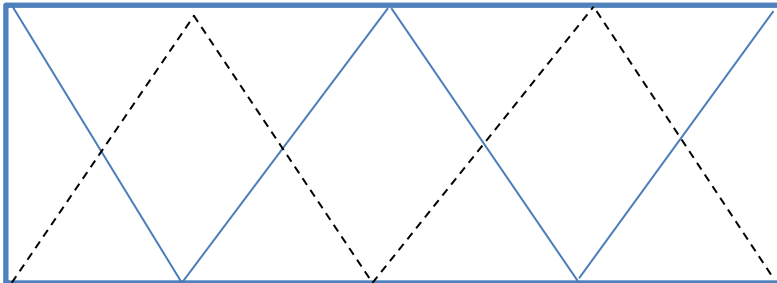
Studien utfördes på en gård i Knivsta kommun, Uppsala län. En betesmark på cirka tre hektar där hästar inte betat på två år, delades upp och stängslades till två jämförbara hagar. Tre hästar med känd äggutskiljning av blodmask släpptes ut den 18 juni. Hästarna flyttades mellan hagarna vartannat dygn, så att de vistades lika mycket i båda hagarna. En vecka in i juli utgick en häst på grund av brist på bete. De två övriga hästarna betade till den 24 juli. Under samma tid mockades den ena hagen manuellt två gånger per vecka. Gräsprover togs från båda hagarna varannan vecka från betessläpp till och med oktober. Träckprov från hästarna analyserades vid två tillfällen under säsongen. Hästarna var tre valacker av varmblodstyp. Häst 1 var 20 år och vägde 750 kilo. Häst 2 var 16 år och vägde 640 kilo. Häst 3 var 7 år och vägde 630 kilo.

Analys av träckprov

Kontroll av parasitäggeförekomst utfördes genom flotation med McMaster-teknik beskriven av Monrad et al. (1999). Insamlad träck från de tre hästarna, fyra gram träck per häst, vägdes upp i varsin bägare. Träcken rördes ut och blandades ordentligt med 56 milliliter mättad natriumklorid (densitet 1,210) per bägare. Därefter hälldes lösningen genom gasväv ner i en annan bägare. En McMaster-kammare fylldes genast med träck-suspensionen. Kammaren fick stå i två minuter innan den mikroskopades. Antalet ägg räknades och EPG fastställdes genom att addera antalet ägg i de båda rutnäten och sedan multiplicera med 50. Ett ägg motsvarade då 50 EPG, vilket var den lägsta detektionsnivån.

Insamling av gräsprover

Innan studien påbörjades togs nollprov från bägge hagarna. Insamling av gräsprover utfördes mellan klockan 08 och 10 på förmiddagen. Det var samma person som tog dessa prov under hela perioden. Provtagaren gick över fältet längs en bana i form av två mot varandra stående W, se figur 3. Snitslar i två olika färger användes som markörer på långsidorna. Vid var sjunde steg klipptes en nypa gräs, cirka 0,5 centimeter i diameter. Gräset klipptes av så nära marken som möjligt, utan att jorden följde med. Inga prover togs i direkt anslutning till en träckhög. Gräsproverna samlades i uppmärkta plastpåsar. Totalt samlades cirka 250 gram (158–350 gram) gräs in per W, det vill säga 500 gram per hage. Proven transporterades sedan till laboratoriet på SVA.



Figur 3. En W-formad bana användes vid insamlandet av gräsproverna.

Analys av gräsprov

De insamlade gräsproverna vägdes och placerades i stor Baermann trätt av metall försedd med finmaskig sil, gummislang och slangklämma, se figur 4. Ljummet kranvatten tillsattes så att gräset täcktes av vattnet. Provpåsen sköljdes ur med ljummet kranvatten, så att allt insamlat material hamnade i silen. Gräset blandades och lämnades sedan att stå under ett dygn. Dagen efter tappades 45 milliliter vätska av i ett centrifugrör (Falconrör) genom att klämman runt gummislangen försiktigt öppnades. Rören med vätska centrifugerades i två minuter med 1000 revolutions per minute (rpm). Det översta skiktet sögs upp med en vätskesug. Fem milliliter vätska per prov mikroskopoperades. Till hjälp vid mikroskoperingen användes Lugols jodlösning, en femprocentig jodlösning, för att avdöda och färga larver. Antalet L3-larver av blodmask i proven räknades. Gräset torkades i ett nät under två veckor och vägdes därefter. Slutligen kalkylerades antalet blodmasklarver per kilo betesgräs i torrsubstans för den mockade respektive omockade hagen.



Figur 4. Gräsproverna preparerade i Baermann-trattar. Foto: Helena Thorolfson Rainamo.

Väderdata

Väderdata inhämtades från SMHI (Sveriges meteorologiska och hydrologiska institut) från väderstationen Uppsala Aut för perioden 14 juni till 24 oktober.

Statistisk analys

De uppmätta värdena i gräsproverna från den mockade och den omockade hagen sammanställdes i en tabell. Medelvärde och varians beräknades. Både medelvärde och varians var olika mellan dataserierna. Ett t-test utfördes därefter i excel. En fem procentig signifikansnivå användes för att se om skillnaden i medelvärde mellan resultatserierna var statistiskt signifikant.

RESULTAT

EPG-räkning

Hästarna som ingick i studien utsöndrade mellan 300–750 EPG av blodmask när de släpptes ut i beteshagarna den 18 juni. Träckprover analyserades igen i samband med att hästarna flyttades. En av de två kvarvarande hästarna hade ett oförändrat värde medan den andra hästen hade en marginellt högre EPG av blodmask, se tabell 1.

Tabell 1. EPG av blodmask för de tre hästarna när de släpptes ut respektive flyttades från betet

Häst nr	Ålder år	Kön	Vikt kg	EPG	
				18 juni	24 juli
1	20	valack	750	300	400
2	16	valack	640	400	400
3	7	valack	630	750	utgått

Laboratorieundersökning

I de första gräsproven, som togs i början av det 15:e dygnet efter att hästarna släppts ut i hagen, påträffades L3-larver endast från den omockade hagen. Under de följande tre provtagningarna påträffades inga L3-larver i någon av hagarna. I slutet av augusti påträffades sedan det högsta antalet L3-larver under studiens gång i den omockade hagen. Därefter var proverna i den omockade hagen positiva fram till och med att studien avslutades. I den mockade hagen påträffades larver vid endast två tillfällen. Värdena presenteras i tabell 2.

Tabell 2. Antal L3-larver av blodmask per kilo torrs substans gräs i den mockade respektive omockade hagen

Provtagningsdatum	Antal L3-larver per kg torrs substans gräs i den mockade hagen	Antal L3-larver per kg torrs substans gräs i den omockade hagen
3 juli	0	41
17 juli	0	0
31 juli	0	0
14 augusti	0	0
27 augusti	6	12 601
10 september	0	3 842
24 september	55	7 219
8 oktober	0	3 271
24 oktober	0	4 350

Medelvärde av antalet L3-larver från gräsproverna i den mockade hagen var sju. Medelvärde av antalet L3-larver för den omockade hagen var 3480. Ett p-värde på 4,1 procent erhöles, vilket innebär enstjärning statistisk signifikans. Nollhypotesen att det inte förelåg någon skillnad kunde förkastas. En statistiskt signifikant skillnad, p-värde, mellan seriernas medelvärden kunde konstateras.

Väderförhållanden

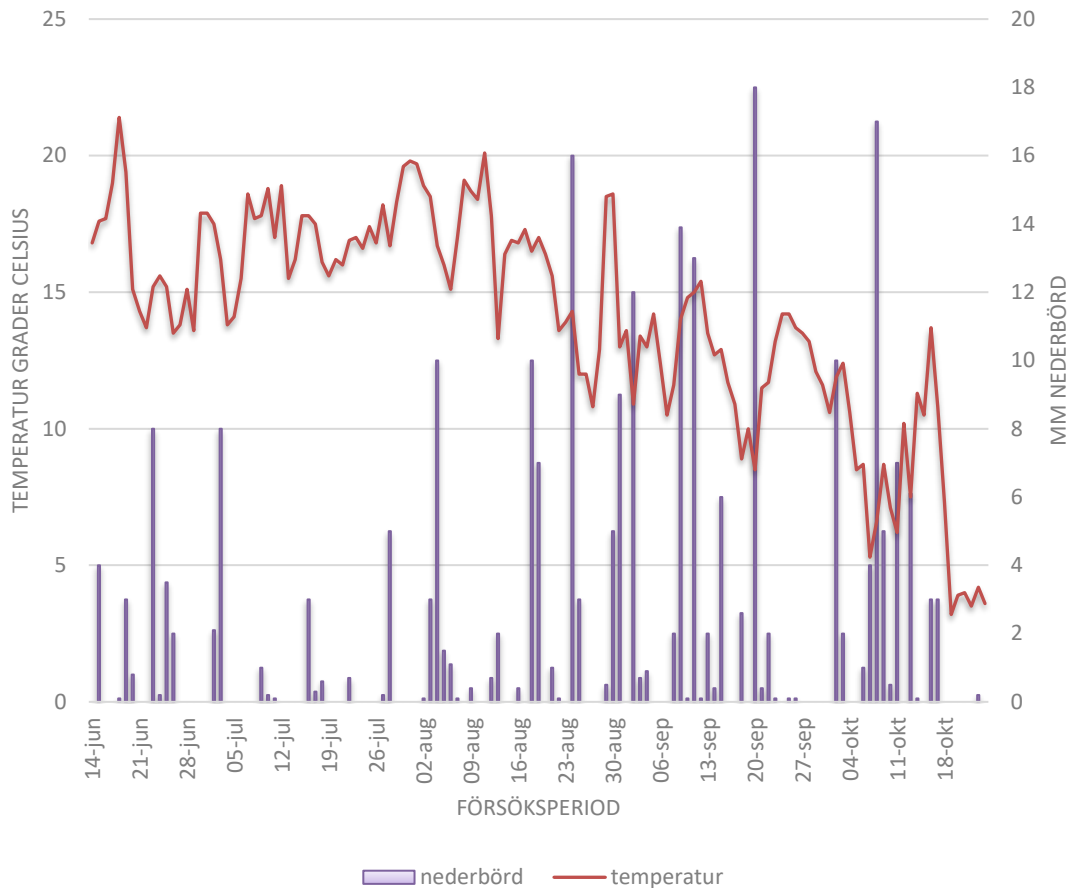
Temperatur

Den högsta dygnsmedeltemperaturen som uppmättes under studien var 21,4 °C och den lägsta 3,2 °C. Under första halvan av provperioden varierade dygnsmedeltemperaturen mellan 13,3 °C och 20,1 °C. Från slutet av augusti sjunker dygnsmedeltemperaturen och överstiger inte 15,5 °C. Från den 24:e september till den 7:e oktober sjunker dygnsmedeltemperaturen till som lägst 5,3 °C. Från den 7:e oktober till den 16:e oktober ökade sedan dygnsmedeltemperaturen till ett toppvärde på 13,7 °C. Därefter sjönk dygnsmedeltemperaturen igen till som lägst 3,2 °C den 19:e oktober. Dygnsmedeltemperaturen under försöksperioden redovisas i figur 5.

Nederbörd

Fram till det första provtagningsstillfället den 3:e juli regnade det periodvis som mest åtta millimeter under ett dygn. Detta följdes av en torrare period. Från den 3:e augusti och efterföljande fyra dygn, var den totala nederbörden 15,6 millimeter. Detta följs av mer nederbörd den 18:e och 19:e augusti. Den 24:e augusti uppmättes en nederbörds mängd på 16 millimeter, vilket var ett av de högsta värdena under studien. Perioden från den 27:e augusti till den 10 september innehöll två dygn med nederbörds värden kring 13

millimeter, samt ett par dygn med värden på fem respektive nio millimeter. Den 11 september uppmättes 13 millimeter nederbörd och den 20 september uppmättes periodens högsta värde, 18 millimeter nederbörd under ett dygn. Mellan den 22:a september och 1:a oktober uppmättes i princip ingen nederbörd. Den resterande mätperioden innehöll fyra dygn med värden över sex millimeter, med en topp den 8 oktober på 17 millimeter nederbörd. Nederbörden under försöksperioden redovisas i figur 5.



Figur 5. Diagram över dygnsmedel temperatur och nederbördsmängd som uppmättes under försöksperioden.

DISKUSSION

Studiens frågeställning var hur mockning av beteshage påverkar antalet L3-larver i gräset. Resultatet av studien visade att antalet L3-larver i gräset var betydligt lägre i den mockade hagen jämfört mot den omockade hagen.

Den här studien var den första i Skandinavien att mäta effekten av beteshygieniska åtgärder på hästbete. På grund av detta saknas relevanta liknande svenska studier att jämföra studiens resultat med.

Temperatur och nederbörd

Temperatur och nederbörd påverkar larvernas utveckling och överlevnad, därför är väderlek av betydelse för studiens resultat. Redan i det första gräsprovet påträffades infektiösa larver i den omockade beteshagen. Hästarna hade endast gått i hagen i två veckor, vilket innebar en relativt snabb utveckling från ägg till infektiös L3-larv sett i relation till de två till fyra veckor som SVA (2016) beskriver som en normal utvecklingstid. Väderförhållandena under den perioden var optimala för utvecklingen av larverna. Det är viktigt att vidta åtgärder för att avlägsna träcken innehållande ägg, innan de utvecklas till L3-larver, eftersom det är då de migrerar från träckbollarna ut i gräset. En annan fördel med att mocka betet är att betesyntan ökar, eftersom ratorna blir färre.

Under den torra perioden påträffades inga larver i gräsproverna. När nederbörden ökade påträffades stora mängder larver. Den första större nederbördsmängden, på totalt 15,6 millimeter, inträffade lite mer än två veckor innan det högsta antalet påträffade L3-larver noterades. Regnet antas vara den viktigaste bidragande orsaken till den stora mängden larver. Dessa resultat är i linje med tidigare studier av Morariu et al. (2008) som beskriver att fuktig väderlek med temperaturer kring 10-25 °C är de mest gynnsamma för larvernas utveckling. Även i studien som utfördes av Love et al. (2016) på halmbäddar visade resultatet att fukten har betydelse för larvernas utveckling. En åtgärd för att minska smittorisken skulle kunna vara att flytta hästarna från betet i samband med nederbörd efter en längre torrperiod.

När de sista proverna togs var det frost i gräset men L3-larver påträffades ändå. Detta är i linje med tidigare undersökningar som visat att L3-larverna tål kyla vilket har redovisats av Osterman Lind (2005).

Material och metod

Alla prover som ingick i studien samlades in och analyserades av en och samma person vilket minimerade felkällan att olika personer kan använda olika teknik.

Det faktum att marken inte använts som betesmark de senaste två åren var en förutsättning för att studien skulle kunna genomföras på gården. Den omockade hagen är nu infekterad och behöver vila ett år från betande hästar. Alternativt kan marken plöjas upp och nytt bete sås in eller andra djur beta i hagen nästa år, då parasiterna är arts specifika.

Hästarna som ingick i studien hade en äggutskiljning över det tröskelvärde där SVA rekommenderar avmaskning. Det troliga är att antalet larver i gräset skulle vara lägre i en population med lägre äggutskiljning hos hästarna. De två hästar som betade hela perioden låg närmare tröskelvärdet än den häst som lämnade betet tidigare. Om häst nummer 3 hade varit kvar i hagen längre tid skulle förekomsten av larver troligen ha varit högre, eftersom den hästen ensam hade en äggutskiljning som var mer än dubbelt så stor som de andra två hästarna tillsammans. Äggutskiljning hos hästar varierar mellan olika individer. Att identifiera individer med hög äggutskiljning och avmaska dessa för att minska

smittspridning är en viktig åtgärd att minska parasittrycket. Att förhindra ett högt smittryck på sommaren kräver en genomtänkt betesplan för att skydda betesmarkerna.

Trots att det endast var tre hästar och att de inte utsöndrade så mycket ägg var resultaten entydiga. Studien visade att mockning av beteshage två gånger i veckan var mycket effektivt för att minimera antalet blodmasklarver i gräset. Den här studien innefattade tio mättilfällen, en framtida studie skulle kunna pågå under en längre period och eventuellt pågå under flera säsonger. Bristen på bete, orsakad av torka, ledde till att hästarna behövde flyttas till nya marker innan studien avslutades. Önskvärt hade varit att kunna ha hästarna kvar i hagen under en större del av mätperioden. Flera hagar med flera olika hästar skulle öka säkerheten i utfallet.

Beteshygien

Många anläggningar som håller hästar, har inte tillgång till stora markytor i förhållande till antal hästar. Ett grundläggande problem är därför begränsad tillgång av betesmark vilket medför att överbetning av beteshagar bidrar till parasitspridning. När hästarna betar närmare träckhögar ökar risken för parasitinfektion. Att använda grusade hagar skulle kunna vara ett alternativ, eftersom hästarna får i sig larverna då de betar gräs och därmed stoppas smittspridningen i en grusad hage eller i en hage som saknar gräs.

Både denna studie och den utförd av Cobett et al. (2014) tyder på att mockning skulle kunna användas som ett komplement eller ersättning till avmaskning. En skillnad mellan studierna var att Corbett et al. (2014) tittade på skillnaden i EPG-värden medan denna studie analyserade förekomst av L3-larver i gräsprover. I denna studie hade inte EPG varit ett bra mått på mängden larver i gräset. Vuxna hästar bär på larvstadiet som härrör från tidigare betessäsonger. Dessa larver mognar fram successivt vilket betyder att ägg som detekteras inte behöver vara en effekt av infektion innevarande säsong. Dessutom var betesstudien i denna studien för kort för att larver skulle ha hunnit plockats upp och utvecklats till vuxna köns mogna maskar. EPG-värdena hos åsnorna sjönk hos djuren som betade på de fält som mockades såväl manuellt som maskinellt. Därmed skulle maskinell mockning kunna vara ett alternativ för att effektivisera metoden på större gårdar

Förslag på framtida studier

Även om Corbett et al. (2014) saknade tillräckligt med data när de analyserat gräsproverna för att kunna genomföra en statistisk analys, fanns det indikationer på att det skulle kunna finnas en skillnad mellan den manuellt mockade hagen jämfört mot den automatiskt mockade hagen, när de analyserade gräsproverna. Därför behöver flera, mer utvidgade studier av mockningsteknik utföras. En utveckling av maskiner som utför mockningen är också en intressant möjlighet att titta på.

Det skulle även vara intressant att undersöka den långsiktiga effekten av mockningen och följa upp med nya provtagningar under vintern och våren, för att se om det ger liknande resultat som i studien av Morariu et al. (2008).

Det skulle även vara av intresse att undersöka effekten av andra, mindre arbetssamma, metoder som till exempel putsning.

Slutsatser och hypotesprövning

Slutsatsen av studien blev att gräsproverna från beteshagen som mockades två gånger i veckan innehöll färre L3-larver jämfört med beteshagen som inte mockades.

Hypotesen var att beteshagen som mockades två gånger i veckan skulle ha ett lägre antal L3-larver än den beteshage som inte mockades. Medelvärden av gräsproverna från den mockade hagen var sju jämfört med medelvärdet av gräsproverna från den omockade hagen som var 3480. Därmed bekräftades hypotesen.

SAMMANFATTNING

Så gott som alla hästar är infekterade med endoparasiter. Blodmaskar är de parasiter som är mest frekvent förekommande hos häst. De delas upp i stora (*Strongylus species*) och små (Cyathostominae) blodmaskar. Hästens vanligaste parasit är Cyathostominae. Hästarna smittas när de betar gräs på infekterade beten. Parasiterna ger normalt sett inga symtom men de kan orsaka allvarliga hälsoproblem hos den infekterade hästen, så som avmagring, diarré och kolik, samt *larval cyathostominos*.

Strongylus vulgaris (*S. vulgaris*) är den blodmask som är mest patogen. Larverna vandrar längs blodkärlen hos hästen och orsakar inre skador. Detta ger sedan symptom som kolik hos hästen.

Cyathostominae har en direkt livscykel. Beroende av regn, migrerar de infektiösa L3-larverna från träcken ut i betet och kan intas av en ny betande häst. Även *S. vulgaris* har en direkt livscykel och följer samma mönster men skiljer sig väsentligt åt när det gäller utvecklingen av L4-stadiet i tarmen.

Tidigare avmaskningsrutiner, med huvudsakligt syfte att kontrollera *S. vulgaris*, innebar regelbunden avmaskning av alla hästar var åttonde vecka. Detta resulterade i en kraftigt minskad förekomst av *S. vulgaris*. Emellertid har den intensiva användningen av anthelmintika lett till att flera av hästens parasiter utvecklat resistens mot anthelmintika, däribland Cyathostominae. Sedan år 2007 rekommenderas selektiv avmaskning i Sverige.

Det faktum att hästens parasiter har utvecklat resistens mot anthelmintika innebär ett hot mot hästens hälsa. Nya medel för att bekämpa parasiter hos hästar har inte framkommit sedan 90-talet. Detta innebär att behovet av att utveckla alternativa metoder för parasitkontroll är mycket stort.

Resistent Cyathostominae är ett hot mot hästens välfärd. Alternativa icke kemiska metoder för parasitbekämpning behöver utvecklas på grund av att allt fler arter utvecklat resistens mot befintliga preparat. Beteshygieniska åtgärder så som mockning kan vara en sådan alternativ åtgärd. Syftet med det här arbetet var att undersöka om regelbunden mockning av beteshage två gånger i veckan kan reducera parasitsmitta på betet och på så

sätt utgöra ett effektivt komplement till avmaskning för hållbar parasitkontroll. Frågeställningen arbetet utgick ifrån var hur mockning av beteshage två gånger i veckan påverkar antalet L3-larver i gräset.

Studien utfördes på en gård i Knivsta kommun, utanför Uppsala. Tre hästar med känd äggutskiljning av blodmask släpptes ut på bete och flyttades vartannat dygn mellan de båda hagarna. Den ena hagen mockades manuellt två gånger i veckan. Den andra beteshagen mockades inte. Varannan vecka samlades gräsprover in som sedan analyserades. Baermann- tekniken användes för att anrika parasitlarverna i gräset.

Resultatet visade att medelvärdet för den omockade beteshagen var 3480. För den mockade beteshagen var medelvärdet sju.

De första positiva proverna togs i början av det 15:e dygnet efter att hästarna släpptes ut på betet. Dessa följdes av en torr period, utan nederbörd, med negativa prover från båda hagarna. I augusti inträffade en regnperiod och den 27:e augusti, omkring två veckor efter den nederbörden, beräknades de högsta värdena under studien. Antalet L3-larver per kilo torrsubstans gräs i den omockade hagen beräknades till 12 601 stycken, jämfört med 6 stycken L3-larver per kilo torrsubstans gräs från den mockade hagen. Temperaturen är en faktor som påverkar utvecklingen av infektiösa L3-larver. När dygnsmedeltemperaturen sjönk under 10 grader under den senare delen av försöksperioden, minskade antalet påträffade L3-larver i proverna från den omockade hagen trots att nederbörden ökade, vilket bekräftar de studier som gjorts tidigare. Ett t-test avseende statistiskt signifikant p-värde utfördes med resultatet $p=0,041$, vilket innebär enstjärnig signifikans.

Slutsatsen av studien blev att gräsproverna från beteshagen som mockades två gånger i veckan innehöll färre L3-larver jämfört med beteshagen som inte mockades.

Hypotesen var att beteshagen som mockades två gånger i veckan skulle ha ett lägre antal L3-larver än den beteshage som inte mockades. Medelvärdet av gräsproverna från den mockade hagen var sju jämfört med medelvärdet av gräsproverna från den omockade hagen som var 3480. Därmed bekräftades hypotesen.

FÖRFATTARENS TACK

Ett stort tack till mina handledare Eva Osterman Lind och Nina Roepstorff som har varit ovärderliga med sin hjälp i alla delar av arbetet. Ett särskilt tack till Eva Osterman Lind som har lagt ner mycket tid och engagemang för att introducera mig i den praktiska och teoretiska bakgrunden till detta arbete.

REFERENSER

Litteratur

Bredtmann, M. C., Krücken, J., Murugaiyan, J., Kuzmina, T. & von Samson-Himmelstjärna, G. (2017). Nematode Species Identification-Current Status, Challenges

and Future Perspectives for Cyathostomins, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 7:283, ss. 1-8.

Corbett, J. C., Love, S., Moore, A., Burden, A. F, Jacqui B., Matthew, B. J & J Denwood, J. M. (2014). The effectiveness of faecal removal methods of pasture management to control the cyathostomin burden of donkeys, *Parasites and vectors*, vol.7:48, ss.1-7.

Hugot, J-P., Baujard, P. & Morand, S. (2001). Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview, *Nematology*, vol. 3, ss. 199-208.

Ihler, C. F. (2010). Anthelmintic resistance. An overview of the situation in the Nordic countries, *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol.52:524.

Kaplan, R. M. (2002). Anthelmintic resistance in nematodes of horses, *Veterinary Research*, vol. 33, ss. 491-507.

Kaplan, R. M. (2004). Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report, *TRENDS in parasitology*, vol. 20, ss. 477-481.

Kaplan, R. M. & Nielsen, M. K. (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore, *Equine Veterinary Education*, vol.22, ss. 306-316

Khan, M. A., Roohi, N. & Rana, M. A. A. (2015). Strongylosis in equines: A review, *The Journal of Animal & Plant Sciences*, vol. 25, ss.1-9.

Love, S., Burden., A. F., McGirr, C. E., Gordon, L. & Denwood, J. M. (2016). Equine Cyatostominae can develop to infective third-stage larvae on straw bedding, *Parasites and vectors*, vol. 9:478, ss. 1-7.

Matthews, B, J. (2014). Anthelmintic resistance in equine nematodes, *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, vol. 4, ss.310-315.

Molento, M. B., Nielsen, M. K & Kaplan, R. M. (2012). Resistance to avermectin/milbemycin anthelmintics in equine cyathostomins – Current situation, *Veterinary Parasitology*, vol. 185, ss. 16-24.

Monrad, J., Bjørn, H., Craven, J., Perman, M & Eiersted, L. (1999). Parasitologisk diagnostik i stordyrpraksis: kvantitativ gødningsundersøgelse med henblik på involdsorm hos heste, *Dansk Veterinaertidsskrift*

Morariu, S., Darabus, G. H., Oprescu, I., Mederle, N., Ilie, M., Stepanescu, D. & Mihailovici, S. (2008). The Cyathostamine larvae pollution degree on pasture from Radmina village, Caras-Severin county, *Lucrari Stiintifice medicina veterinara Timisoara*, vol. XLI, ss. 395-401.

Nielsen, M. K., Kaplan R. M., Thamsborg, S. M., Monrad J. & Olsen, S. M. (2007). Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine

strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance, *The Veterinary Journal*, vol. 174, ss. 23-32.

Nielsen, M. K., Reinemeyer, C. R., Donecker, J.M., Leathwick, D. M., Marchiondo, A. A. & Kaplan, R. M. (2014). Anthelmintic resistance in equine parasites-Current evidence an knowledge gaps, *Veterinary Parasitology*, vol.204, ss.55-63.

Osterman Lind, E., Eysker, M., Nilsson, O., Uggla, A. & Höglund, J. (2003). Expulsion of small strongyle nematodes (cyathostamin spp) following dewarming of horses on a stud farm in Sweden. *Veterinary Parasitology*, vol. 115, ss. 289-299.

Osterman Lind, E. (2005). Prevalence and Control of Strongyle Nematode Infections of Horses in Sweden. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*, vol. 29.

Osterman Lind, O., Kuzmina, T., Uggla, A., Waller, P. J. & Höglund, J. (2007). A Field Study on the Effect of Some Anthelmintics on Cyathostamins of Horses in Sweden, *Veterinary Research Communications*, vol. 31, ss. 53-65.

Peregrine, S. A., McEwen, B., Bienzle, G. T. & Weese, J. S. (2006). Larval cyathostaminosis in horses in Ontario: An emerging disease?, *Canadian Veterinary Journal*. vol. 47. ss.80-82.

von Samson-Himmelstjerna, G. (2012). Anthelmintic resistance in equine parasites- Detection, potential clinical relevance and implications for control, *Veterinary Parasitology*, vol. 185, ss. 2-8.

Internet

Sveriges meteorologiska och hydrologiska institut (2017). *Nederbörd*.
<https://www.smhi.se/klimatdata/meteorologi/nederbord> [Hämtad 2017-11-06]

Sveriges meteorologiska och hydrologiska institut (2017). *Temperatur*.
<https://www.smhi.se/klimatdata/meteorologi/nederbord> [Hämtad 2017-11-06]

Statens veterinärmedicinska anstalt (2016). *Invärtes parasiter (endoparasiter) hos häst*.
<http://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/invartes-parasiter-endoparasiter-hast>
[Hämtad 2017-09-07]

Personliga meddelanden från

Eva Osterman Lind, Legitimerad veterinär och parasitolog på Statens veterinärmedicinska anstalt, 2017-11-30.

DISTRIBUTION:

**Sveriges Lantbruksuniversitet
Hippologenheten
Box 7046 750 07 UPPSALA
Tel: 018-67 21 43**

**Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Equine Studies
Box 7046 750 07 UPPSALA
Tel: +46-18 67 21 43**
