



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap

# **Egg reappearance period hos cyathostominer efter behandling med ivermektin**

## **Cyathostomin egg reappearance period following treatment with ivermectin**



*Johanna Fridolf*

*Uppsala  
2019*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*



# Egg reappearance period hos cyathostominer efter behandling med ivermektin

## Cyathostomin egg reappearance period following treatment with ivermectin

*Johanna Fridolf*

**Handledare:** Eva Tydén, institutionen för BVF

**Biträdande handledare:** Giulio Grandi, institutionen för BVF

**Examinator:** Johan Höglund, institutionen för BVF

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0869

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2019

**Elektronisk publicering:** <https://stud.epsilon.slu.se>

**Omslagsillustration:** Fotograf: Johanna Fridolf

**Nyckelord:** anthelmintika, resistens, cyathostominae, små blodmaskar, ivermektin, ERP, egg reappearance period

**Key words:** anthelmintics, resistance, cyathostominae, cyathostomins, ivermectin, ERP, egg reappearance period

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



## SAMMANFATTNING

I princip alla hästar bär eller har någon gång exponerats för parasiter från släktet *cyathostominae* (hästens små blodmaskar), vilka är hästens vanligast förekommande endoparasiter. Infektionen är oftast inte märkbar men kan orsaka symtom i form av avmagring, diarré och kolik hos kraftigt infekterade individer. Larval cyathostominos är ett allvarligt tillstånd förknippat till ett omfattande massutträde av inkapslade *cyathostominae*-larver från tarmväggen som kan vara fatalt för hästen.

Rutinmässig anthelmintikabehandling flera gånger per år har varit hörnstenen i kontrollen av parasitinfektion från 1980 till 2007. Denna överanvändning av läkemedel har resulterat i att hästens parasiter har utvecklat resistens mot avmaskningsmedel. Den befintliga resistensen hos de små blodmaskarna mot fenbendazol och pyrantel är utbredd. Substanserna som finns kvar att tillgå mot infektionen är således ivermektin och moxidektin som ingår i de makrocycliska laktonerna. Den senaste tiden har rapporter från Europa och världen varslat om begynnande resistens även mot ivermektin och moxidektin i form av förkortad egg reappearance period (ERP).

Studiens syfte är att undersöka ivermektins effektivitet genom att utföra en fecal egg count reduction test (FECRT) samt bestämma tidpunkt för ERP. 2007 utfördes en liknande studie i Sverige av Osterman med flera och då kunde ingen resistens mot ivermektin påvisas.

Tre gårdar och totalt 23 hästar deltog i försöket. Resultatet av FECRT visade att ivermektin hade reducerat antalet ägg > 99 % två veckor efter avmaskning. ERP beräknades med tre olika definitioner definition 1.) Veckan för första positiva ägggräkningen efter avmaskning. Definition 2.) Veckan då medelantalet ägg > 10 % av medelantalet ägg innan avmaskning. Definition 3.) Veckan då medelantalet ägg i gruppen överstiger 100 EPG. För definition 1 var ERP 5-6 veckor lång och för definition 2 beräknades ERP från 7 till över 8 veckor på de olika gårdarna. Med definition 3 beräknades ERP från 7 till över 8 veckor. Resultatet ger en antydning om att ERP för ivermektin är förkortad jämfört med de ursprungliga minst 8 veckorna när preparatet först kom ut på marknaden. Detta är en tidig indikation på att resistens håller på att utvecklas mot substansen. Ett FECRT påvisade däremot ingen bristande behandlingseffektivitet för ivermektin och därmed kan ingen befintlig resistens konstateras

Studien bör ses som en motivering till att vidare undersöka och kartlägga resistensläget på svenska hästgårdar för att i ett så tidigt skede upptäcka problemet och därefter utveckla nya riktlinjer och rekommendationer gällande träckprovstagning och avmaskning.

## SUMMARY

All grazing horses have been exposed or infected by parasites from the genera *cyathostominae* (small bloodworms), which are the most prevalent endoparasites in horses. The infection does most commonly not affect the horse but may cause symptoms as weightloss, diarrhea and colic in heavily infected individuals. Larval cyathostominosis is a fatal condition associated with an extensive excystment of incapsulated larvae from the gut wall, which may occur in infected horses.

Routine administration of anthelmintics several times per year have been the corner-stone in control of parasite infections from 1980 to 2007. This overuse of anthelmintic drugs have resulted in anthelmintic resistance in equine parasites. There is widely-spread resistance in *cyathostominae* against fenbendazole and pyrantel. The macrocyclic lactones ivermectin and moxidectin are therefore the substances most commonly used nowadays. Recently several European countries rapport of emerging resistance in form of a shortened egg reappearance period (ERP).

The aim of this study is to evaluate the efficiency of ivermectin by performing a fecal egg count reduction test (FECRT) and determine the ERP for ivermectin. In year 2007 no detection of emerging and existing resistance to ivermectin was made when a similar study was done in Sweden.

Three farms and a total of 23 horses participated in the trial. The FECRT results showed that ivermectin reduced the number of eggs with > 99% two weeks post-treatment. ERP was determined with three different methods. Method 1.) The week for the first positive fecal egg count post-treatment. Method 2.) The week post-treatment when the mean eggnumber > 10% of the mean eggnumber pre-treatment. Method 3.) The week post-treatment when the mean eggnumber exceeds 100 EPG. With method 1 the ERP was calculated to 5-6 weeks and 7 to more than 8 weeks for method 2 on the different farms. With method 3 the period was calculated from 7 to more than 8 weeks. The result indicates that ERP for ivermectin is shortened compared to the least 8 weeks when the substance was first launched. This is an early indication that resistance to ivermectin in *cyathostominae* is emerging. The FECRT on the other hand did not detect insufficient efficacy of ivermectin in reducing the eggnumber.

The conclusion of this study is that suspicion of emerging resistance can be made but further studies on a bigger population is needed for confirmation. It should motivate to further investigate the current situation in Sweden. So, if resistance in *cyathostominae* is truly emerging, new guidelines and recommendations in parasite control can be made as early as possible.

## INNEHÅLL

<b>INLEDNING</b> .....	<b>1</b>
SYFTE .....	1
<b>LITTERATURÖVERSIKT</b> .....	<b>2</b>
HÄSTENS BLODMASKAR – ÖVERFAMILJEN <i>STRONGYLOIDEA</i> .....	2
<i>Cyathostominae</i> .....	2
<i>Strongylus spp.</i> .....	2
ANTHELMINTIKA.....	3
Makrocycliska laktoner .....	3
Tetrahydropyrimidiner .....	4
Bensimidazoler .....	4
Kinolinderivat.....	4
AVMASKNINGSREKOMMENDATIONER .....	4
DETEKTION OCH DEFINITION AV RESISTENS .....	5
<i>Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT)</i> .....	5
<i>Egg reappearance period</i> .....	6
BEFINTLIG RESISTENS MOT ANTHELMINTIKA HOS BLODMASKAR .....	6
FAKTORER SOM PÅVERKAR RESISTENSUTVECKLING.....	7
<b>MATERIAL OCH METODER</b> .....	<b>8</b>
URVAL OCH UTFÖRANDE AV FECAL EGG COUNTS .....	8
FECAL EGG COUNT REDUCTION TEST .....	8
EGG REAPPEARANCE PERIOD FÖR IVERMEKTIN .....	9
<b>RESULTAT</b> .....	<b>9</b>
URVAL OCH UTFÖRANDE AV FECAL EGG COUNTS .....	9
FECAL EGG COUNT REDUCTION TEST .....	12
EGG REAPPEARANCE PERIOD FÖR IVERMEKTIN .....	13
<b>DISKUSSION</b> .....	<b>14</b>
<b>KONKLUSION</b> .....	<b>17</b>
<b>TACK</b> .....	<b>18</b>
<b>POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING</b> .....	<b>19</b>
<b>REFERENSER</b> .....	<b>22</b>
<b>BILAGA 1 – MEJL TILL DJURÄGARE</b> .....	<b>I</b>
<b>BILAGA 2 – INSTRUKTION TILL HÄSTÄGARE</b> .....	<b>II</b>
<b>BILAGA 3 – FÖLJESEDEL FÖR TRÄCKPROV</b> .....	<b>III</b>

## TECKENFÖRKLARINGAR

Anthelmintika	Läkemedel mot helminter
ERP	Egg reappearance period
FEC	Fecal egg count
FECRT	Fecal egg count reduction test
<i>Refugium</i>	Ägg från parasiter som inte exponerats för anthelmintika
RPM	Rotations per minute
SD	Standard deviation/standardavvikelse
SVA	Statens veterinärmedicinska anstalt
WAAVP	World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology



## INLEDNING

Nematoder från släktet *cyathostominae* (små blodmaskar) är hästens vanligaste endoparasiter och kan orsaka symptom i form av avmagring, diarré och kolik hos kraftigt infekterade individer men vanligtvis påverkar inte infektion hästen märkbart. *Strongylus* spp (stor blodmask) anses däremot vara den mest patogena endoparasiten som infekterar hästar och kan orsaka kolik då larvernas migration i blodkärl som försörjer tarmen ger upphov till ischemiska skador i tarmväggen. Hörnstenen för kontroll av parasitinfektion har varit rutinmässig behandling flera gånger per år med anthelmintika (läkemedel mot helminter) men denna överanvändning av läkemedel har resulterat i att flera av hästens parasiter har utvecklat resistens (Lester *et al.*, 2013).

I Sverige finns fyra verksamma substanser registrerade mot infektion med *cyathostominae*: moxidektin, ivermektin, pyrantel och fenbendazol. Substanserna delas in i läkemedelsgrupper baserat på de verksamma ämnenas uppbyggnad. Moxidektin och ivermektin ingår i gruppen makrocycliska laktoner, pyrantel tillhör tetrahydropyrimidinerna och fenbendazol hör till bensimidazolerna. Då resistens mot pyrantel och fenbendazol rapporterats runt om i världen är de makrocycliska laktonerna den grupp av anthelmintika vi har kvar att använda för att kunna behandla hästar med *cyathostominae* infektion (Nareaho *et al.*, 2011).

Egg reappearance period (ERP) är den period räknat i veckor som förlöper från att hästarna blir avmaskade till dess att parasitägg åter börjar urskiljas och kan detekteras i träck. De senaste åren har flera rapporter om en förkortad ERP hos *cyathostominae* efter avmaskning med ivermektin publicerats i olika europeiska länder vilket tolkas som en tidig indikation på att resistens hos maskarna håller på att utvecklas (Geurden *et al.*, 2014; Molena *et al.*, 2018; Von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2007).

## Syfte

Examensarbetets syfte är att undersöka ERP för ivermektin i Sverige för att svara på frågeställningen: finns det en tidig indikation på resistensutveckling mot ivermektin hos hästens små blodmaskar? År 2007 gjordes en liknande studie i Sverige av Osterman (Osterman *et al.*, 2007a) och resultaten visade att ivermektin fortfarande var effektiv och inte hade en förkortad ERP. Det är i dagsläget intressant att undersöka om detta resultat har förändrats under årens gång.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Hästens blodmaskar – överfamiljen *Strongyloidea*

Hästens blodmaskar indelas i två släkten: små blodmaskar eller cyathostominer och stora blodmaskar. I båda grupperna finns ett antal olika arter med relativt lika livscyklar men skiljer sig åt på ett par punkter som är beskrivna nedan.

#### *Cyathostominae*

Nematoderna i släktet *cyathostominae* är ubikvitära i miljön och prevalensen hos hästar är upp till 100 % på många ställen i världen (Hinney *et al.*, 2011; Mfitilodz & Hutchinson, 1990; Morariu *et al.*, 2016). Det finns över 50 arter beskrivna i gruppen, cirka 30 av dessa 50 finns i vårt svenska klimat (SVA, 2018a). Hästarna är ofta infekterade av flera olika arter samtidigt och bland de vanligaste förekommande arterna i Sverige finns *Cylicostaphanus longibursatus*, *Cylicocyclus nassatus*, *Cyathostomum catinatum*, *Cylicocyclus leptostomum*, *Cylicostephanus minutus* and *Cylicostephanus calicatus* (Osterman *et al.*, 2003).

#### *Livscykel och kliniska sjukdomstecken*

Parasiten har en direkt fekal-oral och icke-migrerande livscykel. Hästen infekteras genom oralt intag av infektiösa L3-larver på betet. Larverna tar sig till cecum och ventrala colon där de invaderar mukosan och submukosan och kapslas in i en fibrös kapsel i tarmväggen (Nielsen & Reinemeyer, 2018). Inuti kapseln mognar L3 till L4. L3-larven har även möjlighet att hamna i vila inuti kapseln, i så kallad hypobios med värdjuret, i upp till 2,5 år innan den fortsätter sin utveckling. L4-larven växer till och tar sig sedan ut genom cystan till tarmlumen. I tarmlumen omvandlas L4-larven till den pre-pubertala L5-larven som med tiden mognar och blir adult med förmåga att reproducera sig (Nielsen & Reinemeyer, 2018). Äggen börjar urskiljas igen 6-14 veckor efter infektion (Escap, 2018). På betet kläcks äggen till L1-larver som genom utveckling till L2 och därefter L3-larver i träcken blir infektiösa på nytt (Nielsen & Reinemeyer, 2018).

Hästar som bär på en lindrig infektion uppvisar oftast inga symtom alls. Vid kraftiga angrepp kan sjukdomstecken som diarré, viktnedgång, och kolik uppstå. En allvarlig och ibland fatal variant av sjukdomen kallas för larval cyathostominos och uppstår när ett stort antal inkapslade larver tar sig till tarmlumen i ett synkroniserat massutträde. Den stora vävnadsdestruktionen som uppstår ger tidiga sjukdomstecken som plötsligt uppkommen kraftig diarré, dramatisk viktnedgång, muskelatrofi och subkutana ödem. Patogenesen bakom sjukdomen är okänd men hästens ålder (under 5 år), säsong (vintertid) och tid sedan senaste avmaskningen (under 2 veckor) är alla viktiga riskfaktorer för att hästen ska drabbas (Giles *et al.*, 1985; Reid *et al.*, 1995).

#### *Strongylus spp.*

I släktet *Strongylus spp.* eller stora blodmaskar, ingår arterna *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus* och *Strongylus edentatus*. Av dessa anses *S. vulgaris* vara den mest patogena och vanligast förekommande (SVA, 2018a). Tidigare i Sverige var prevalensen av *S. vulgaris* väldigt låg men sedan den mer selektiva avmaskningen startades för cirka tio år sedan har

prevalensen ökat markant. I ett tidigare veterinärmedicinskt examensarbete 2017, var prevalensen av *S. vulgaris* 66 % på gårdsnivå och 26 % på individuell nivå (Werell, 2017).

### *Livscykel och kliniska sjukdomstecken*

Precis som de små blodmaskarna har parasiten en direkt fekal-oral livscykel. Infektiösa L3-larver på betet infekterar hästen oralt och tar sig till tarmen där den invaderar mukosan i både jejunum, cecum och colon och utvecklas där till L4-larver som tränger in i närliggande arterioler. Genom att migrera i kärlväggarna når de flesta larverna till slut den främre krösroten cirka två veckor efter infektion. I kärlet utvecklas L4-larver till L5-larver och efter fyra månaders uppehåll i krösroten tar sig larverna tillbaka till tarmväggen där de träder tillbaka ut i tarmlumen och mognar till adulta maskar. Den honliga adulta masken börjar producera ägg i tarmlumen cirka fem och en halv till sju månader efter infektion. Äggen kommer med träcken ut på betet där L1-larverna kläcks och därefter utvecklas till L2 och sedan till den infektiösa L3 (Nielsen & Reinemeyer, 2018).

*S. vulgaris* orsakar en verminös (parasitär) arterit och de trombbildningarna som bildas i blodkärlen av larverna kan leda till att infarkter uppstår i de angripna tarmsegmenten. Sjukdomstecken som uppvisas vid infektion med *S. vulgaris* har beskrivits som varierande grad av kolik, pyrexia, hypermotilitet i tarmen och förhöjd hjärtfrekvens (Drudge, 1979). Hästarna kan dessutom drabbas av nedsatt prestation och i sällsynta fall få intestinala rupturer och dö (Taylor *et al.*, 2016).

## **Anthelmintika**

I Sverige finns fyra olika anthelmintika-klasser som är användbara i bekämpningen av endoparasiter hos häst: makrocycliska laktoner, tetrahydropyrimidiner, bensimidazoler och kinolinderivat. Klasserna har till viss del olika indikationer men samtliga är av bredspektrumkaraktär och finns dessutom i olika kombinationspreparat som innehåller substanser ur flera klasser och därmed utövar en ännu bredare effekt.

### ***Makrocycliska laktoner***

Substanserna ivermektin och moxidektin är godkända till häst i Sverige idag och tillhör klassen makrocycliska laktoner. Substanserna har ett brett spektrum mot nematoder och artropoder och klassificeras därför som endektocider, vilket innebär att de är verksamma både mot endo- och ektoparasiter. Ivermektin introducerades på marknaden 1981 i Frankrike och har sedan dess varit ett anthelmintika som använts i stora mängder. 1990 gjorde moxidektin entré på marknaden i Argentina (Mckellar & Benchaoui, 1996).

Ivermektin och moxidektin är agonister till GABA och glutamatreglerade kloridjonkanaler. Bindningen stimulerar inhibitoriska signaler framförallt i nematodens rörelseapparat och muskulaturen i farynx vilket leder till paralytisk och svält hos parasiterna (Wolstenholme & Rogers, 2005).

Ivermektin har effekt mot adulta cyathostominer medan moxidektin utöver de adulta även är verksamt mot L4-stadier inkapslade i mukosan samt intraluminala larvstadier (Xiao *et al.*, 1994).

Båda substanserna har effekt på adulta och arteriella L4-stadier av *S. vulgaris* (Eysker *et al.*, 1997; Klei *et al.*, 2001).

### **Tetrahydropyrimidiner**

Den enda verksamma substansen ur klassen tetrahydropyrimidiner som är godkänd till häst i Sverige är pyrantel. Substansen utövar sin effekt genom att verka som selektiva agonister på acetylkolin-receptorer på nematodernas muskelceller. Bindning av substansen leder till kontraktion och en spastisk paralys och död hos parasiten (Martin, 1997).

Pyrantel har indikation mot nematoder och i dubbel dos även bandmask (FASS, 2015).

### **Bensimidazoler**

Anthelmintika-klassen bensimidazoler innehåller flera verksamma substanser men endast en, fenbendazol, är godkänd till häst i Sverige. Fenbendazol utövar sin effekt genom att påverka parasiternas metabolism genom att binda till betatubuli vilket hämmar mikrotubulibildning som i sin tur förhindrar parasiternas glukosupptag i tarmen som därmed svälter och dör. Dessutom inhiberas äggproduktionen (Martin, 1997; Plumb, 2011).

Indikationer för fenbendazol är nematoder (dock inte små blodmaskar) och vissa cestoder.

### **Kinolinderivat**

Prazikvantel är den substans ur kinolinderivater som är godkänd till häst. I Sverige finns den bara godkänd i preparat som är kombinationspreparat tillsammans med antingen moxidektin eller ivermektin. Substansen har effekt mot cestoder och utövar sin effekt genom att orsaka skador i parasitens hölje som i sin tur leder till förändrade strömmar av kalcium, natrium och kalium in och ur cestoden, vilket orsakar förstörd metabolism, paralys och död hos parasiten (Plumb, 2011).

## **Avmaskningsrekommendationer**

Ett nytt EU-direktiv som trädde i kraft 2007 ledde till att det samma år i Sverige infördes receptbeläggning av avmaskningsmedel till häst och idisslare med syftet att bättre reglera och minska rutinmässigt användande av avmaskningsmedel och därmed minska resistensutvecklingen hos parasiterna. SVA bedriver ett övervakningsprogram med årliga provtagningar av hästbesättningar, något som dessutom ger myndigheten möjligheter att följa effekten och bevaka resistensutvecklingen mot anthelmintika under svenska förhållanden. Myndigheten ger dessutom ut avmaskningsrekommendationer med mål att:

Hålla smittan av små blodmaskar på en sådan låg nivå att hästarna inte påverkas negativt och få bort smittan av stora blodmasken från hästar och hagar, utan att gynna utveckling av resistens (SVA, 2018b).

För att nå målen rekommenderas selektiv avmaskning. På våren är det lämpligt att ta träckprover för äggräkning samt odling för *S. vulgaris* (Osterman *et al.*, 2007b). Efter analys rekommenderas avmaskning till de individer som bär på mer än en sparsam mängd ägg vilket praktiskt innebär de hästar som urskiljer > 200 EPG (ägg per gram) av blodmask och/eller är

infekterade av *S. vulgaris* (Osterman *et al.*, 2007b). Avmaskning ska ske med preparat som har indikation mot konstaterad infektion.

I den europeiska riktlinjen rekommenderas selektiv avmaskning till vuxna hästar. Riktlinjen är utformad för att uppnå kontroll över de små blodmaskarna. Målet är att öka proportionen av små blodmaskar som inte har varit exponerade för anthelmintikabehandling på betet. På en hästgård är det normalt < 20 % av hästarna som urskiljer 80-90 % av den totala urskiljningen av blodmaskägg och det är denna grupp som behöver identifieras och avmaskas (Relf *et al.*, 2013). Tanken är att de hästar som inte avmaskas (de som urskiljer < 200 EPG) ska vara ett led i det förebyggande och fördröjande arbetet mot resistensutveckling då de kommer urskilja parasitägg från larver som är oexponerade för avmaskningsmedel så kallade *refugium* som ”späder ut” den resistenta populationen på betet (Escap, 2018).

SVA menar också på att hänsyn till hästarnas ålders ska tas vid parasitbekämpning, att profylaktiska åtgärder genom betesplanering och beteshygien ska kombineras med korrekt riktad avmaskning (SVA, 2018b). För att skaffa sig en bra uppfattning om det parasitära smittläget i en besättning rekommenderas att ett uppföljande träckprov tas igen på hösten (september-oktober) de första åren då aktiv övervakning utförs. När smittläget är kartlagt efter några år behövs i regel inte det andra årliga träckprovet (Osterman *et al.*, 2007b).

### **Detektion och definition av resistens**

Ett fundamentalt problem i forskningen om resistensutvecklingen mot anthelmintika är att det inte finns en global överenskommelse och definition om hur vi mäter och definierar resistens. Studierna som är gjorda och refereras till i detta arbete värderar sina resultat olika och använder många olika sätt att mäta resistens vilket gör det svårt att dra slutsatser och jämförelser dem sinsemellan.

### ***Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT)***

1992 gav World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) ut metoder för detektion av resistens hos nematoder och beskriver då FECRT som den metod som ska användas *in vivo* för att påvisa klinisk resistens (Coles *et al.*, 1992). Metoden går enkelt beskrivet ut på att jämföra antalet parasitägg som utskiljs före och efter avmaskning.

Testet utförs genom att jämföra en äggräkning eller FEC (fecal egg count) utförd samma dag som avmaskning med en ny FEC 10-14 dagar efter behandling. De olika anthelmintika har separata gränsvärden för när de anses vara effektiva eller inte. För ivermektin har följande två kriterier satts upp, uppfylls dessa två anses resistens finnas mot substansen:

1. Den procentuella minskningen av FEC, före jämfört med efter avmaskning, är mindre än 95 %.
2. Det 95 % konfidensintervallet är mindre än 90 %.

Uppfylls bara det ena kravet ska resistens däremot bara misstänkas (Coles *et al.*, 1992).

### **Egg reappearance period**

ERP definieras som tidsintervallet mellan den senaste effektiva avmaskningen till att en signifikant mängd blodmaskägg urskiljs igen och används som en indikation på att resistens är på väg att utvecklas. Intervallet mäts genom att varje vecka efter avmaskning utföra en äggräkning på träcken hos de avmaskade hästarna. Det stora problemet är att det inte finns en tydlig gräns och global definition på vad en signifikant mängd ägg praktiskt innebär.

American Association of Equine Practitioners subkommitté för Parasitkontroll har tagit fram riktlinjer för parasitkontroll där ERP definieras som den vecka efter avmaskning då reduktion av blodmaskägg vid äggräkning sjunker under 90 % effektivitet för ivermektin och moxidektin jämfört med antalet ägg som förekom före avmaskning. Vilket praktiskt innebär den vecka efter avmaskning som äggantalet har återgått till > 10 % av äggantalet innan avmaskning. För ivermektin var ERP 9 veckor när läkemedlet funnits cirka 10 år på marknaden (Borgsteede *et al.*, 1993).

Anledningen till en minskning av ERP efter ivermektin behandling antas vara att läkemedlet har en minskad effekt mot omogna luminala cyathostominer. De omogna larverna kan därför fullfölja sin livscykel och börja reproducera sig innan en hel prepatensperiod har förlöpt. Detta resulterat i en förkortad ERP (Lyons & Tolliver, 2013).

För fenbendazol och pyrantel används istället < 80 % minskning av ägg efter jämfört med före avmaskning (Nielsen *et al.*, 2013).

### **Befintlig resistens mot anthelmintika hos blodmaskar**

Som tidigare nämnt förekommer det anthelmintika-resistenta blodmaskar runt om i världen. Den mest utbredda resistensen hos de små blodmaskarna är mot fenbendazol med > 90 % resistens hos gårdarna i en studie i Frankrike (Traversa *et al.*, 2012). Hög andel resistenta cyathostominer har också setts i flera andra länder såsom USA, Tyskland och Storbritannien (Bellaw *et al.*, 2018; Traversa *et al.*, 2009). Sverige är inget undantag. I en svensk studie från 2007, räknades 72 % av grupperna som resistenta mot fenbendazol (Osterman *et al.*, 2007a).

Den andra gruppen anthelmintika, tetrahydropyrimidiner, innehåller den verksamma substansen pyrantel och även mot denna substans har resistens påvisats om än inte lika utbredd som den mot fenbendazol. I en studie från Frankrike hittades resistens på 10 % av de undersökta gårdarna (Traversa *et al.*, 2012). I Storbritannien, Tyskland och Nederländerna hittades resistens mot pyrantel hos var fjärde gård (Traversa *et al.*, 2009). Även i Sverige har sviktande effekt av pyrantel uppmärksammats. I en studie från 2011 undersöktes effekten på två hästgårdar och resultatet bekräftade anthelmintika-resistens på en av gårdarna och misstanke om resistens upptäcktes på den andra gården (Höglund *et al.*, 2011).

Med tanke på ovanstående befinner vi oss i ett läge där vi till mycket stor del måste förlita oss på effekten av de makrocycliska laktionerna: moxidektin och ivermektin för att vi ska kunna skydda våra hästar mot de sjukdomar som kan framkallas av blodmaskarna.

Dessvärre så har det börjat rapporteras om resistensutveckling även mot ivermektin runt om i världen. Rapporterna har främst visat på en förkortad ERP efter avmaskning med ivermektin

vilket som tidigare nämnt är en indikator på resistensutveckling hos parasiterna. För att vi ska anse att ivermektin har en fullgod effekt ska ERP vara minst 8 veckor lång (Boersema *et al.*, 1996; Borgsteede *et al.*, 1993).

I Storbritannien och Nederländerna har ERP reducerats till så kort som två respektive fyra veckor (Molena *et al.*, 2018; Relf *et al.*, 2014). I en studie från Tyskland var ERP minskad till fem veckor och avmaskningen ledde inte till en 100 % reduktion av äggen vid det första FECRT (Von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2007). Problematiken är likadan i Nordamerika och i en studie från Kentucky 2011, hade ERP i princip halverats jämfört med den ursprungliga perioden för ivermektin (Lyons *et al.*, 2011). Som tidigare nämnts så har vi i Sverige inte kunnat påvisa denna typ av resistensutveckling än. I studien som Osterman med flera utförde 2007 var den kortaste ERP 8 veckor och de menade på att ivermektin fortsatt hade en väldigt god effekt mot hästens blodmaskar (Osterman *et al.*, 2007a).

Det är intressant att veta om alla de olika arterna i släktet *cyathostominae* bidrar lika mycket till den förkortade ERP efter ivermektinbehandling. En studie utförd i Nederländerna fastställde att arter inom genuset *Cylicocyclus* var de som bidrog mest till den förkortade ERP. *Cylicocyclus*-arterna befinner sig en längre tid i submukosan under deras utveckling jämfört med andra arter. Författarna diskuterar om att den längre "vävnadsfasen" medför att deras sårbara period i tarmlumen blir kortare kan vara en orsak till att de återkommer först efter avmaskning (Van Doorn *et al.*, 2014).

Även för moxidektin, den andra verksamma substansen i anthelmintika klassen makrocycliska laktoner, har liknande upptäckter gjorts. Moxidektin skiljer sig från ivermektin i och med dess anthelmintiska effekt även på inkapslade L4-larver. ERP var förkortad i en studie från Belgien, Italien och Nederländerna (Geurden *et al.*, 2014). I en annan studie från USA var ERP så kort som fyra veckor för moxidektin (Bellaw *et al.*, 2018).

Sammanfattningsvis finns det alltså sviktande effekt i olika grad hos alla substansgrupper som idag används vid avmaskning mot hästens blodmaskar. Dessa resultat är oroväckande eftersom det inte heller finns någon ny substans på väg ut på marknaden för oss att använda mot blodmaskarna i dagsläget.

### **Faktorer som påverkar resistensutveckling**

Anthelmintika-resistens är en förmåga hos parasiterna att överleva behandling med anthelmintika som generellt är effektiva mot den typen av infektion. Resistensen ärvs från en generation till nästa och utvecklingshastigheten påverkas av selektionstrycket av de resistenta generna. Med en kontinuerlig selektion och reproduktion av resistenta maskar kommer prevalensen av resistenta gener till slut vara så pass hög att behandlingen misslyckas i att eliminera parasiterna (Sangster, 1999)

Det finns inte så mycket vetenskapliga försök på hur hästens små blodmaskar utvecklar resistens men i en review av Sangster, (1999), jämförs dem med fårens nematoder som på flera sätt liknar cyathostominerna. Följande faktorer anses selektera för resistens: behandlingsfrekvens, effektivitet av behandlingen (rätt dosering, substans och tidpunkt), *refugium*, överlevnad till nästa generation och parasitens biologi samt gårdens management. En

minskning av behandlingsfrekvensen anses vara den viktigaste faktorn för att reducera selektionstrycket för de resistenta maskarna. Vid avmaskningsmomentet kan flera faktorer som bidrar till ökat selektionstrycket uppstå. Hästen kan bli underdoserad om vikten uppskattas för lågt eller om hästen helt enkelt spottar ut avmaskningsmedlet efter givan. *Refugium*, inkluderat parasiter från obehandlade hästar, inkapslade stadium av parasiter i tarmväggen och de parasiter på betet som inte exponeras för anthelmintika är viktiga då de späder ut den resistenta populationen av parasiter (Brady & Nichols, 2009).

## **MATERIAL OCH METODER**

### **Urval och utförande av fecal egg counts**

Följande inklusionskriterier användes för att välja ut studiematerialet:

- Naturligt infekterade hästar som urskiljer  $\geq 200$  EPG vid Dag 0.
- Möjlighet för djurägarna att en gång per vecka i åtta veckor plocka ut och skicka träckprover för analys.
- Ingen annan administrering av avmaskningsmedel under studiens gång.
- Max 12 hästar/gård.

59 hästar från fem gårdar skickade in träckprover för analys. Antalet blodmaskägg bestämdes med äggräkning enligt McMaster som har en lägsta detektionsnivå på 50 EPG. 25 hästar från tre olika gårdar klarade inklusionskriterierna och valdes ut till studien.

All äggräkning enligt McMaster har utförts av undertecknad enligt följande metod:

1. Väg upp 3 g träck i en glasflaska med skruvkork.
2. Tillsätt 42 ml ljummet vatten till träcken.
3. Blanda röret till en homogen blandning.
4. Sila blandningen genom en sil med maskstorlek 150  $\mu\text{m}$  ner i en bägare.
5. Häll över blandningen i Clayton-Lanerör till 1 cm under kanten.
6. Centrifugera rören i 3 min på 1500 RPM (rotations per minute).
7. Sug av överståndet med en vattensug.
8. Fyll röret med mättad NaCl till 1 cm under kanten och skaka upp bottenkammaren med hjälp av en pasteurpipett.
9. Blanda väl. Sug med Pasteurpipett upp från rörets centrum en del av suspensionen och fyll en McMaster-kammare. Undvik luftbubblor.
10. Vänta ca 3 min och räkna sedan äggen inom de två markerade områdena (McMaster-kammarna) och multiplicera antalet ägg med 50 för att räkna ut EPG.

(Kompendium i Parasitologi. Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, Sektionen för parasitologi, 2012).

### **Fecal egg count reduction test**

Djurägarna administrerade ivermektin, oral pasta (Eraqvell vet. Virbac, Kolding, Danmark) 18,7 mg/g, dosering enligt tillverkarna: 0,2 mg/kg kroppsvikt på Dag 0. Vikt uppskattades med hjälp av ett viktband och avrundades uppåt till närmaste femtiotal kg.



En FECRT utfördes Dag 14 och räknades ut enligt nedan:

$$\frac{EPG(\text{före avmaskning}) - EPG(14 \text{ dagar efter avmaskning})}{EPG(\text{före avmaskning})} \times 100 = FECRT$$

Uträkningen gjordes i ett web-baserat program

<http://shiny.math.uzh.ch/user/furrer/shinyas/shiny-eggCounts/>

beskriven i litteraturen (Torgerson *et al.*, 2014). I programmet användes ingen zero-inflation, proverna analyserades parade och korrektionsfaktorn sattes till ett.

### **Egg reappearance period för ivermektin**

Träckprover samlades sedan en gång per vecka och skickades för analys hos undertecknad vid vecka 2, 3, 4, 5, 6, 7 och 8 efter avmaskning.

Äggräkning utfördes en gång per vecka upp till åtta veckor efter behandling. ERP räknades ut på tre olika sätt: 1.) ERP definierades till den vecka som den första positiva äggräkningen påträffades efter behandling med anthelmintika och 2.) Den vecka efter avmaskning när den procentuella minskningen i FEC sjunker under ett cut-off på 90 % och 3.) Den vecka efter avmaskning när medelantalet ägg > 100 EPG.

## **RESULTAT**

### **Urval och utförande av fecal egg counts**

Av de fem gårdar som skickade in träckprover inför urval deltog tre av gårdarna i försöket. Gård 1 består av totalt 30-40 hästar i varierande åldrar, både unghästar och äldre individer. Gård 2, en ridskola, med totalt 40 hästar. Gård 3, ett naturbruksgymnasium med både avels- och lektionsverksamhet, bestående av cirka 90 hästar. De andra två gårdar uteslöts eftersom det var för få hästar per gård som klarade inklusionskriterierna beskrivna nedan.

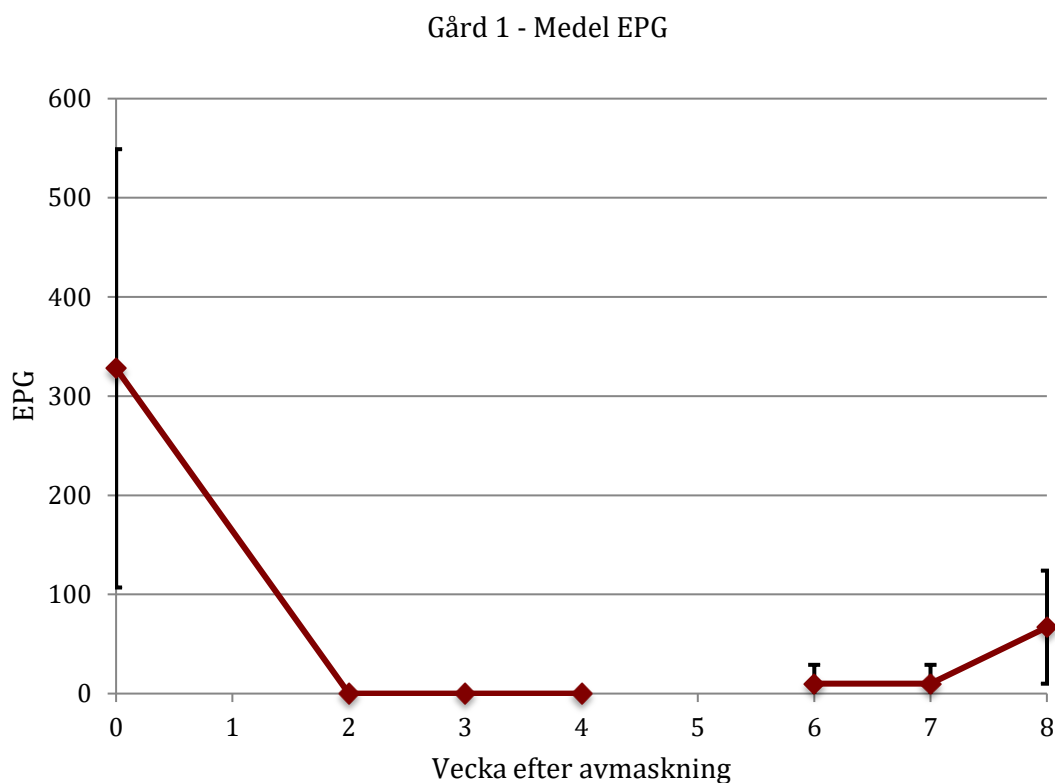
- Naturligt infekterade hästar som urskiljer  $\geq 200$  EPG vid Dag 0.
- Möjlighet för djurägarna att en gång per vecka i åtta veckor plocka ut och skicka träckprover för analys.
- Ingen annan administrering av avmaskningsmedel under studiens gång.
- Max 12 hästar/gård.

Hästarna som deltog var 2-26 år gamla. Medelåldern var 11 (SD  $\pm 5$ ) år för Gård 1, 12 (SD  $\pm 6$ ) år för Gård 2 och 6 (SD  $\pm 1$ ) år för Gård 3. Vikterna varierade mellan 250-750 kg och ingen av hästarna hade blivit avmaskad inom 4 månader innan studiens start. Totalt 24 hästar ingick vid försökets början. En av gårdarna (Gård 1) missade att skicka in prov under en av veckorna, från samma gård föll också två hästar bort under studiens gång.

Resultaten som erhöles redovisas i tabell 1-3. Ett medelvärde på hästarnas äggutskiljning på de respektive gårdarna visas i figur 1-3.

Tabell 1. Gård 1, Antal ägg per gram, räknade vecka 0, innan avmaskning, och därefter en gång per vecka från 2 till 8 veckor efter avmaskning. - = träckprov saknas

Individ	År	Vecka efter avmaskning							
		0	2	3	4	5	6	7	8
1:1	10	200	0	0	0	-	0	0	150
1:2	8	200	0	0	0	-	0	50	50
1:3	15	600	0	0	0	-	-	-	-
1:4	10	700	0	0	0	-	50	0	0
1:5	2	200	0	0	0	-	0	0	-
1:6	19	200	0	0	0	-	0	0	-
1:7	14	200	0	0	0	-	-	-	-

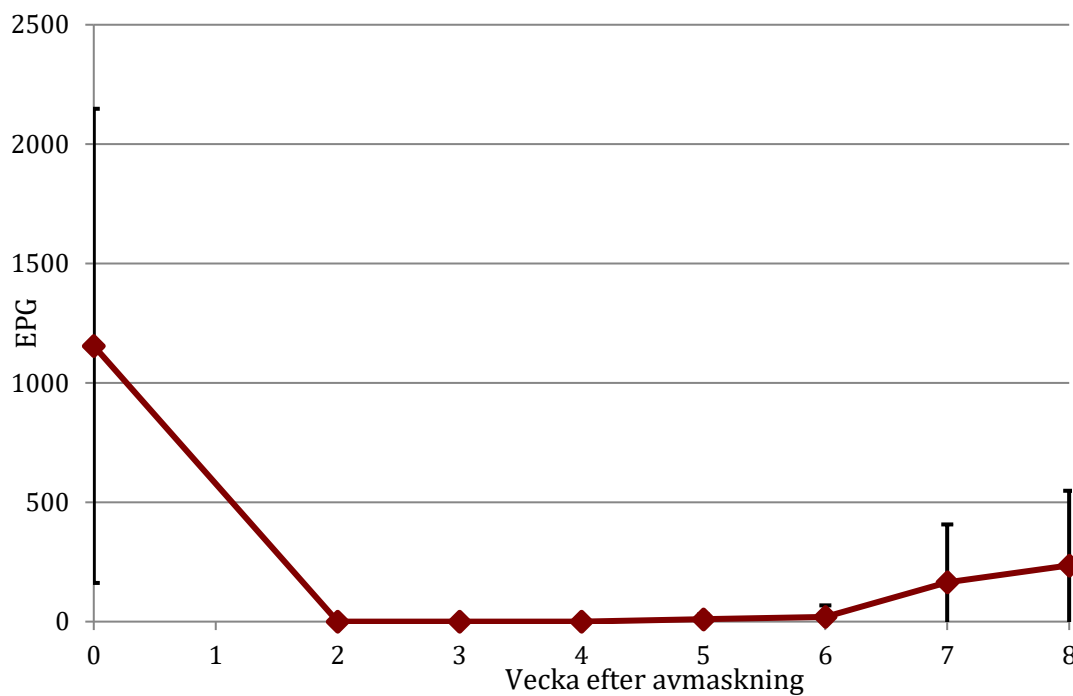


Figur 1. Gård 1, medelvärdet av äggräkningarna med standardavvikelser räknade vecka 0, innan avmaskning, och därefter en gång per vecka från 2 till 8 veckor efter avmaskning.

Tabell 2. Gård 2, Antal ägg per gram, räknade vecka 0, innan avmaskning, och därefter en gång per vecka från 2 till 8 veckor efter avmaskning

Individ	År	Vecka efter avmaskning							
		0	2	3	4	5	6	7	8
2:1	7	2900	0	0	0	50	50	700	1000
2:2	7	1450	0	0	0	0	150	350	400
2:3	7	550	0	0	0	50	0	400	450
2:4	19	200	0	0	0	0	0	0	50
2:5	16	200	0	0	0	0	0	0	50
2:6	26	200	0	0	0	0	0	0	50
2:7	12	650	0	0	0	0	0	0	0
2:8	10	2400	0	0	0	0	0	0	150
2:9	8	2050	0	0	0	0	0	150	200
2:10	7	950	0	0	0	0	0	50	0

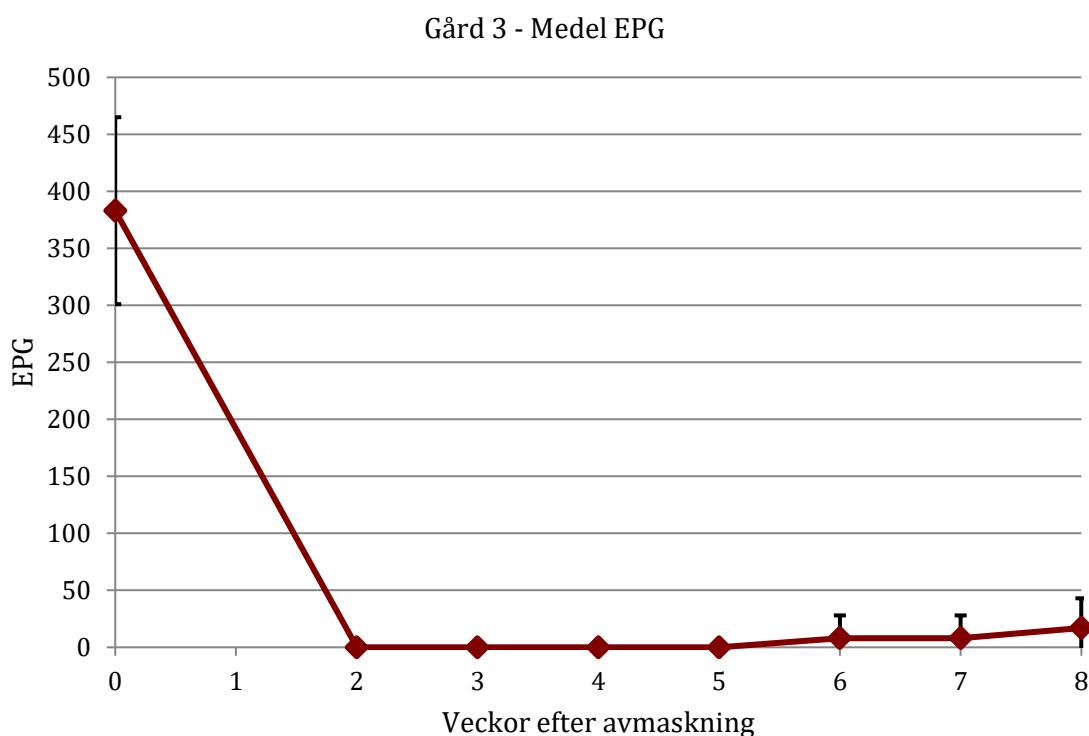
Gård 2 - Medel EPG



Figur 2. Gård 2, medelvärdet av äggräkningarna med standardavvikelse räknade vecka 0, innan avmaskning, och därefter en gång per vecka från 2 till 8 veckor efter avmaskning.

Tabell 3. Gård 3, Antal ägg per gram, räknade vecka 0, innan avmaskning, och därefter en gång per vecka från 2 till 8 veckor efter avmaskning. - = träckprov saknas

Individ	År	Vecka efter avmaskning							
		0	2	3	4	5	6	7	8
3:1	3	300	0	0	0	-	0	0	0
3:2	6	400	0	0	0	0	0	0	0
3:3	7	450	0	0	0	0	0	0	0
3:4	7	500	0	0	0	0	0	0	50
3:5	7	350	0	0	0	0	0	0	0
3:6	7	300	0	0	0	0	50	50	50



Figur 3. Gård 3, medelvärdet av äggräkningarna med standardavvikelse räknade vecka 0, innan avmaskning, och därefter en gång per vecka från 2 till 8 veckor efter avmaskning.

### Fecal egg count reduction test

Hästarnas individuella äggutskiljning dag 0 jämfördes med utskiljningen 14 dagar efter avmaskning. Proverna analyserades med McMaster-teknik med en lägsta detektionsnivå på 50 EPG.

Gård 1 hade en procentuell medelreduktion på 99,5 % och det lägre värdet i 95 % konfidensintervall bestämdes till en minskning av äggen med 93,1 %. Inga ägg kunde upptäckas vid analys efter avmaskning.

Inte heller hos gård 2 kunde några ägg påvisas hos hästarna efter avmaskning. Medelreduktionen räknades ut till 99,9 % och det lägre konfidensintervallet till 98,7 %.

Även hos gård 3 var resultaten likartade, ingen häst utskilde ägg efter avmaskning. Medelreduktionen bestämdes till 99,6 % och det lägre konfidensintervallet till 92,3 %.

Sammantaget hade samtliga tre gårdar en FECRT på > 99 % vid provtagning 14 dagar efter avmaskning. Det lägre konfidensintervallet på 95 % var också > 90 % hos de tre gårdarna. Ingen resistens mot ivermektin kunde därmed varken konstateras eller misstänkas hos de deltagande gårdarna.

I tabell 1-3 redovisas de individuella äggräkningarna före och efter avmaskning.

### **Egg reappearance period för ivermektin**

Med hänsyn till avsaknaden av konsensus över hur ERP beräknas valde jag att räkna på tre olika sätt för att lättare göra det möjligt att jämföra resultaten med andra liknande studier. ERP bestämdes till 1.) den vecka när den första positiva äggräkningen utförs, 2.) veckan då medelantalet ägg återgår till > 10 % av medelantalet ägg innan avmaskning (Dag 0) och 3.) veckan då medelantalet ägg i gruppen överstiger 100 EPG.

Medelantalet ägg innan behandling var 329 (SD = 205) EPG på Gård 1, 1155 (SD = 942) EPG på Gård 2 och 383 (SD = 75) EPG på Gård 3.

Hos Gård 1 observerades de första positiva äggräkningarna hos två hästar redan vecka 6. Vid vecka 8 var medelantalet ägg > 10 % av medelvärdet innan behandling. Medelantalet ägg hade inte överstigit 100 EPG innan försöket var slut. Hänsyn måste dock tas till att endast 3/7 hästar provtogs och analyserades vecka 8.

Gård 2 vars hästar hade den absolut största urskiljningen innan behandling var också den gård där äggutskiljning uppstod tidigast igen efter avmaskning. Redan vid vecka 5 var två hästar åter positiva vid äggräkning. Vecka 7 var medelvärdet > 10 % av det medelvärdet Dag 0 innan avmaskning. Vecka 7 hade också medelantalet ägg överstigit 100 EPG. Anmärkningsvärt är också att nästan hälften av hästarna (4/10) hade > 200 EPG vecka 8, (en individ hade så mycket som 1000 EPG,) vilket innebär att de skulle rekommenderas avmaskning igen.

Den första positiva äggräkningen på Gård 3 sågs hos en individ vecka 6. Denna häst hade fortsatt 50 EPG studiens längd ut. Ytterligare en häst hade en positiv äggräkning vecka 8 vilket innebär att medelantalet ägg inte återgick till > 10 % av det ursprungliga innan avmaskning innan försöket tog slut. Inte heller medelantalet ägg översteg 100 EPG innan försöket var slut.

ERP för de tre gårdarna redovisas i tabell 7.

Tabell 7. ERP för de tre gårdarna bestämd med två olika definitioner

	Första positiva äggräkningen	Medelantalet ägg > 10 % av medelantalet ägg innan avmaskning	Medelantalet ägg > 100 EPG
Gård 1	6 veckor	8 veckor	> 8 veckor
Gård 2	5 veckor	7 veckor	7 veckor
Gård 3	6 veckor	> 8 veckor.	>8 veckor

## DISKUSSION

Alla betande hästar världen runt exponeras och infekteras av gastro-intestinala parasiter. De mest prevalenta parasiterna är nematoder från släktet *cyathostominae*, det vill säga de små blodmaskarna (Hinney *et al.*, 2011; Mfitedze, & Hutchinson, 1990; Morariu *et al.*, 2016). För att hästarna inte ska drabbas av sjukdom på grund av parasitinfektion har det länge använts behandlingsprotokoll som har gynnat resistensutveckling hos de små blodmaskarna. I dagsläget finns utbredd resistens mot substanserna pyrantel och fenbendazol hos *cyathostominae*-släktet och dessvärre publiceras också artiklar som indikerar att resistens är under utveckling även mot ivermektin, den tredje och en av de sista verksamma substanserna vi har mot små blodmaskar (Bellaw *et al.*, 2018; Höglund *et al.*, 2011; Lyons *et al.*, 2011; Molena *et al.*, 2018; Relf *et al.*, 2014; Traversa *et al.*, 2012; Traversa *et al.*, 2009; Von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2007).

Studien hade följande syften; 1.) undersöka hur effektiv ivermektin är på att reducera antal blodmaskägg genom att utföra en FECRT 14 dagar efter avmaskning och 2.) fastställa ERP för ivermektin, det vill säga undersöka hur lång tid det dröjde innan blodmaskägg återkom i hästarnas träck efter avmaskning. Frågeställningen som skulle besvaras var om det finns befintlig resistens eller tidiga indikationer på resistensutveckling mot ivermektin hos hästens små blodmaskar. Tre gårdar deltog i försöket. Ingen av hästarna hade avmaskats på mindre än fyra månader innan försökets start och därmed kan påverkan från tidigare avmaskning uteslutas.

Kriterierna för resistens är 1.) den procentuella minskningen av FEC, före jämfört med efter avmaskning är < 95 % och 2.) det 95 % konfidensintervallet är < 90 % (Coles *et al.*, 1992). Resultaten i FECRT-studien visade att ivermektin reducerar antalet blodmaskägg i genomsnitt > 99 %. Reduktionen vid det lägre konfidensintervallet (95 %) var > 90 %. Kriterierna för resistens möts inte och slutsatsen att det inte finns befintlig resistens hos blodmaskarna mot ivermektin på de deltagande gårdarna kan konstateras.

Resultaten för ERP-studien beräknades med tre olika definitioner av ERP. Den första definitionen var att ERP är den vecka efter avmaskning då den första positiva äggräkningen observerades, den andra var att ERP är den vecka efter avmaskning då medelantalet ägg > 10 % av medelantalet ägg innan avmaskning och den tredje den vecka efter avmaskning då medelantalet ägg översteg > 100 EPG. För samtliga gårdar varierade resultatet beroende på vilken definition som användes. Alla tre gårdarna hade en kortare ERP om första definitionen användes, den kortaste beräknades till endast fem veckor (Gård 2). För Gård 1 och 3 var samma period sex veckor. Med den andra definitionen som tog hänsyn till medelvärdet kunde en förkortning av ERP ses hos Gård 2 som hade en ERP på sju veckor. Gård 1 och 3 hade ERP på

$\geq$  åtta veckor vilket är det antal veckor som anses ska förlöpa för att begynnande resistensutveckling inte ska misstänkas. Med den tredje definitionen kunde en förkortad ERP på Gård 2 observeras vilken bestämdes till 7 veckor. För Gård 1 och 3 beräknades samma ERP till över 8 veckor.

Flera jämförelser avseende FECRT och ERP kan göras med den svenska studien från 2007 med samma syften (Osterman *et al.*, 2007a). Deras studiepopulation för FECRT var större än vår och bestod av hästar från 26 olika gårdar, hästarna hade inte blivit behandlade med anthelmintika tidigare än åtta veckor före studiens start. Samma metod, McMaster, med en detektionsnivå på 50 EPG användes för att kvantifiera antalet ägg i träckproverna. Individerna som ingick i studien inkluderades om de utsöndrade  $\geq 200$  EPG innan avmaskning. Till skillnad från den här studien, där djurägarna avmaskade hästarna själv, administrerade en lokal veterinär avmaskningsmedlet i Ostermans studie. Båda använde ett viktband för att estimeras hästarnas vikt. Samma kriterier för resistens användes i FECRT. Reduktionen var  $> 99$  % i Ostermans studie och det lägre konfidensintervallet bestämdes till 95 %. Kriterierna för resistens nåddes inte precis som i den här studien.

Osterman analyserade ERP på endast två gårdar till skillnad från de tre gårdar vi undersökte. Osterman använde sig av en definition som löd: antalet veckor från avmaskning till dess att medelvärdet av blodmaskägg överstiger 100 EPG. Alltså samma som vår tredje definition. Deras resultat var att ERP var  $\geq$  åtta veckor. I vårt försök beräknades ERP till  $>$  åtta veckor för Gård 1 och 3 men endast sju veckor för Gård 2. Jämförelsen ger en antydning om att det föreligger skillnader i resistensläget då och nu men det är omöjligt att säga eftersom olika definitioner använts och endast en liten studiepopulation har deltagit. En framtida studie på en större population skulle möjligtvis verifiera att ERP för ivermektin fortsatt är  $\geq$  åtta veckor. Det skulle vara ett fantastiskt bra resultat som konstaterar att de förebyggande åtgärder samt den selektiva avmaskning som i stor utsträckning praktiseras av svenska veterinärer sedan 2007 har bromsat utvecklingen av resistens i Sverige!

Den viktigaste analysen och diskussionen är kring hur de nya resultaten står sig mot resultaten i det liknande försöket från Sverige för över 10 år sedan (Osterman *et al.*, 2007a) men det är även intressant att göra jämförelser med trenderna från andra delar av Europa.

I en studie från Storbritannien utfördes en FECRT och beräkning av ERP på 179 hästar uppdelad i 18 grupper. De använde sig av en metod som hade en lägsta detektionsnivå på 1 EPG istället för 50 EPG som vår metod hade. I en av deras grupper urskiljde två hästar 207 respektive 107 EPG vardera vid provtagningen efter avmaskning. Den procentuella minskningen beräknades således till 85,7 % och det 95 % konfidensintervallet till 65 %. Gruppens resultat mötte kriterierna för resistens men författarna vågade inte med säkerhet dra slutsatsen att de upptäckt sann anthelmintika-resistens utan att utföra testet igen. De misstänkte snarare att en underdosering av avmaskningsmedel till de två hästarna kunde förklara resultatet. Samtliga övriga grupper hade en reduktion  $> 95$  % (Relf *et al.*, 2014). Våra FECRT-resultat indicerar att hästarna inte blivit underdoserade vilket också är ett viktigt steg för att kunna utvärdera ERP. Hade inte hästarna avmaskats korrekt, det vill säga haft en reduktion  $< 95$  % 14 dagar efter avmaskning hade ERP med största sannolikhet blivit falskt förkortad.

Författarna i den brittiska studien använde sig av samma två ERP definitioner som i det här försöket. Dessutom överensstämde resultaten. En kortare ERP räknades ut om definition ett användes. I deras grupper upptäcktes de första äggen efter avmaskning redan efter två veckor medan sex veckor förlöpte innan medelantalet ägg > 10 % av antalet innan avmaskning enligt den andra definitionen (Relf *et al.*, 2014). Det spelar alltså stor roll vilken metod och definition som används och det är också detta som gör det osäkert att jämföra ERP från liknande studier eftersom de ofta använt sig av olika metoder.

En annan studie från Storbritannien undersökte ERP på en grupp ettåriga hästar. Hästarna som ingick utskilde > 75 EPG innan avmaskning och de använde sig av en äggräkningsmetod med lägsta detektionsnivå på 1 EPG. Med definitionen att ERP är den vecka efter avmaskning då medelantalet ägg > 10 % av det ursprungliga antalet beräknades perioden till fem veckor. Att ta i beaktande är att hästgården inte praktiserade sig av selektiv avmaskning utan använde sig en regelbunden administrering av ivermektin och moxidektin (substanserna användes varannan gång) till individer med  $\geq 50$  EPG (Molena *et al.*, 2018). Deras och vår studiepopulation skiljer sig åt på flera punkter. I vårt försök deltog hästar som urskilde  $\geq 200$  EPG innan avmaskning, åldersvariationen var större och fler gårdar analyserades. Användningen av en metod som detekterar 1 EPG jämfört med 50 EPG innebär att positiva äggräkningar upptäcks tidigare och att sannolikheten att få falska negativa resultat är mindre jämfört med en metod med högre detektionsgräns. Speciellt när proverna innehåller ett litet antal ägg som i situationen efter avmaskning är det alltså större risk att tolka sant positiva prover som falskt negativa om metoden har låg sensitivitet. För att beräkna ett sant ERP är det därför fördelaktigt att använda en metod med så låg detektionsnivå som möjligt, för att påvisa positiva äggräkningar så tidigt som möjligt (Lester & Matthews, 2014).

En dansk studie från 2011 ingick 96 hästar från nio gårdar. Alla gårdarna hade använt sig av en selektiv avmaskningsstrategi de senaste två åren och enbart avmaskat hästar med  $\geq 200$  EPG med ivermektin. Effektiviteten av ivermektin på äggreduktion i ett FECRT beräknades till 100 % vilket överensstämmer med resultatet i denna studie. ERP beräknades genom att analysera prover fram till sex veckor efter avmaskning. Ingen förkortning av ERP kunde påvisas men eftersom studien endast pågick sex veckor efter avmaskning hade den behövt fortgå i minst ett par veckor till för att fastställa den sanna ERP i Danmark vid tidpunkten (Larsen *et al.*, 2011).

Det finns inga standardiserade och gemensamma metoder för hur resistens ska utvärderas eller beräknas vid analys av hästens blodmaskar. Dessutom finns det många variabler som påverkar resultatet vid äggräkningar i träckprov från hästar. Variablerna finns längs hela prov- och analyskedjan från provtagen individ till ett färdigt resultat. På individnivå kan resultatet påverkas av att äggen inte är jämnt fördelade utan snarare lokalt aggregerade i träcken (Denwood *et al.*, 2012). Provtransport och förvaring av provet är viktigt för att förhindra att äggen kläcks eller genomgår biologisk nedbrytning innan analysen utförs. Faktorer som temperatur, tid mellan provtagning och analys och provets syremiljö påverkar det räknade äggantalet vid analys (Nielsen *et al.*, 2010). Den mänskliga faktorn är också ett faktum att ta hänsyn till. Personen som utför analysen påverkar resultatet genom provpreparering och avläsning. Dessutom finns det flera metoder med olika detektionsnivå som används vid äggräkningar. Det finns tekniker som har detektionsnivå på 1 EPG vilket är fördelaktigt



eftersom prover efter avmaskning som ofta innehåller små mängder ägg troligtvis tidigare hade upptäckts.

Datainsamlingen pågick mellan april och maj 2018. En av gårdarna, Gård 1, lyckades tyvärr inte med att skicka in träckprover för alla hästar enligt den förutbestämda instruktionen. Den femte veckan efter avmaskning dök dessvärre inga prover från Gård 1 upp och veckorna därefter föll två hästar bort. Den åttonde och sista veckan saknades prov från fyra av hästarna. Avsaknaden av prover från denna gård gör deras resultat svårberäknade och några starka slutsatser går inte att dra från dessa resultat tyvärr då medelvärdena beräknas med olika antal hästar under försökets gång.

Gård 2 lyckades med att skicka in samtliga prover för alla hästar och vid rätt tidpunkt. Gård 3 missade att skicka in prov för en häst vecka fem efter avmaskning. Den hästen hade 0 EPG vid samtliga äggräkningar, med största sannolikhet även den vecka då provet inte analyserades, vilket betyder att resultatet inte bör ha påverkats av avsaknaden av prov från denna individ.

Med detta sagt är det alltså och kanske inte så förvånande grundstommen i hela studien som sammanfattningsvis är det mest komplicerade och det stora hindret i att dra slutsatser och komma vidare i den gemensamma förståelsen kring resistens mot anthelmintika. FECRT är det som anses vara guldstandarden i att detektera resistens men ändå har metoden så många variabler och svagheter. För att komma närmare svaret på hur vi ska förebygga och hindra resistensutveckling krävs en säkrare metod som dessutom ska användas i konsensus forskare och länder emellan.

Som författare till arbetet vill jag att studien och resultaten ska användas som en motivering till att vidare undersöka och kartlägga resistensläget mot ivermektin på svenska hästgårdar. Det finns flera områden som kan förbättras för att föra oss vidare i förståelsen i ämnet. Förslag på förbättringar är: större studiepopulation, användning av en äggräkningsmetod med lägre detektionsnivå än 50 EPG samt artbestämning av påvisade strongyloider. Optimalt hade studiepopulationen varit av sådan storlek och utbredning att resultaten blivit representativa för alla hästar i landet. Det hade även varit intressant att undersöka hur gårdarnas tidigare avmaskningsrutiner och förebyggande åtgärder påverkat ERP.

## **KONKLUSION**

Resultatet av studien skapar en misstanke om att resistensutveckling mot ivermektin hos hästens små blodmaskar är under utveckling i Sverige. Ingen befintlig resistens mot substansen kan däremot konstateras. Studien bör ses som en motivering till att vidare undersöka och kartlägga resistensläget på svenska hästgårdar för att i ett så tidigt skede upptäcka problemet och därefter utveckla nya riktlinjer och rekommendationer gällande träckprovstagning och avmaskning. Möjligheten att en större studie kan bekräfta att ERP fortsatt  $\geq$  åtta veckor i Sverige finns också. Det hade bekräftat att de förebyggande åtgärder samt den selektiva avmaskning som i stor utsträckning praktiseras av svenska veterinärer sedan 2007 har gjort att resistensutvecklingen inte är skenande i Sverige som i så många andra länder i Europa och världen!

## **TACK**

Jag vill rikta ett stort tack till min handledare Eva Tydén som bistått med snabb och konstruktiv kritik under arbetets gång samt handledning och upplärning i parasitlabbet innan försöket började. Jag vill även tacka de deltagande gårdarna som skickat in träckprover och därmed gjort detta arbete möjligt!

## POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Hästar precis som alla andra husdjur kan bli infekterade av parasiter i mag-tarmkanalen. Den vanligaste parasiten som infekterar hästar kallas för små blodmaskar. De är ryggradslösa maskar i mikroskopisk storlek och kan förekomma i väldigt stora mängder i hästens tarm.

Definitionen av en parasit är en organism som lever i eller på en annan organism och får sin föda från den. Parasiternas liv brukar förklaras med hjälp av livscyklar. De små blodmaskarna utnyttjar hästen som värd under en del av sin livscykel, för att möjliggöra sin förökning och överlevnad. Resterande tid befinner sig maskarna på betet där hästarna äter och det är också där hästen blir smittad. En förenklad beskrivning av livscykeln är att larver som har möjlighet att smitta hästen finns i betesgräset. Larverna tas in genom munnen när hästen äter betesgräset, tar sig ner i magsäcken och vidare ut i tarmen. I grovtarmen tar larverna sig in i tarmens vägg och utvecklas till ett nytt larvstadium, inkapslad i tarmens vävnad. I den cysta som bildas växer larven till och utvecklas med tiden till en vuxen mask som lämnar cystan och tar sig ut i tarmen igen.

Äter i tarmen börjar maskarna föröka sig genom att lägga ägg. Äggen tar sig vidare genom tarmsystemet och följer slutligen med avföringen och hamnar på betet igen. Vid rätt väderförhållanden kommer äggen i avföringen att kläckas. Snart därpå utvecklas de till ett smittsamt larvstadium och kan infektera hästen på nytt. Livscykeln är därmed fullbordad.

I princip alla hästar anses någon gång ha varit infekterad med små blodmaskar. De flesta hästar som endast bär på en liten mängd maskar brukar inte märkbart påverkas av dem men vid väldigt kraftiga infektioner kan hästen insjukna och visa symtom som kolik (ont i magen), diarré och avmagring. Infektionen diagnosticeras med hjälp av att räkna antalet ägg som kommer ut med avföringen. Antalet anges i ägg per gram eller EPG (eggs per gram). Beroende på hur många ägg som räknas graderas infektionen. Vårt svenska veterinärmedicinska referenslaboratorium, Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA), använder sig av en sexgradig skala från ej påvisad förekomst  $\leq 49$  EPG till massförekomst.

Beroende på förekomsten väljer djurägaren i samråd med veterinär om hästen ska behandlas med avmaskningsmedel eller inte. Generellt rekommenderas avmaskning av hästar med måttlig förekomst  $\geq 200$  EPG.

Avmaskning leder till att hästen blir ”fri” från parasiter då medlen genom olika mekanismer avdödar de larverna som finns i tarmen. Eftersom hästarna kan bli kraftigt sjuka av infektionen är det av yttersta vikt att vi har avmaskningsmedel som är verksamma mot parasiterna.

Det finns fyra olika grupper av avmaskningsmedel som generellt används för avmaskning av hästar. Vi har idag endast kvar en av de ursprungliga grupperna att använda mot små blodmaskar eftersom resistens mot avmaskningsmedel är utbredd hos dem. Resistens innebär att larverna överlever avmaskningen och fortsätter föröka sig i tarmen. Gruppen vi har kvar att använda mot små blodmaskar kallas för makrocykliska laktoner och i denna finns substanserna ivermektin och moxidektin som är godkända att använda till häst.

Resistensen har till stor del uppstått som följd av en kraftig överanvändning av avmaskningsmedel. Förr avmaskades i princip alla hästar upprepade gånger varje år för att hålla nere parasitmittan på gårdarna. Dessutom togs det vanligtvis inga prover innan behandling sattes in. Fram till 2007 var avmaskningsmedel också receptfritt vilket gjorde att ansvaret över avmaskningen helt och hållet låg på djurägaren. Det nya EU-direktivet 2007 var ett steg i att försöka minska och hindra resistensutvecklingen och innebär att avmaskningsmedel receptbelagdes i EU. SVA ger ut riktlinjer och rekommendationer till djurägare och veterinärer om hur hantering och behandling av hästens parasiter ska ske. Att avmaska hästar utan föregående avföringsprov anses idag vara förlegat och rekommenderas inte. De råder till att hästar ska avmaskas selektivt vilket innebär att en avföringsundersökning och gradering ska föregå behandling.

Förutom avmaskning finns det flera förebyggande åtgärder som rekommenderas att använda för att minska larvantalet och smittan på betet. Exempel på metoder är att ta bort avföring från betena, låta betet vila från betande djur och låta olika djurarter, t ex. häst och får, växelbeta i hagarna. Att låta plöja upp marken och så in nytt gräs är en metod för att få det nya betet helt parasitfritt. Metoderna är betydelsefulla eftersom de hjälper till att minska användandet av avmaskningsmedel och därmed anses bidra till att förebygga vidare resistensutveckling.

Syftet med detta arbete är att undersöka om det finns tecken befintlig resistens eller att resistens är under utveckling mot substansen ivermektin hos hästens små blodmaskar. Ivermektin är den vanligaste substansen som används vid avmaskning av hästar idag och det är viktigt att ta reda på hur resistensläget ser ut i Sverige så att nya rekommendationer och riktlinjer skapas i ett led att försöka hindra vidare resistensutveckling.

Försöket gick ut på att tre grupper av hästar med minst en måttlig infektion  $\geq 200$  EPG avmaskades och därefter fick sin avföring undersökt en gång per vecka fram tills åtta veckor efter behandling. Försöket bestod av två delar, 1.) hur stor minskning av ägg som skett två veckor efter avmaskning och 2.) bestämma egg reappearance period (ERP) för ivermektin. Den första undersökningen utförs för att kontrollera så att det inte finns några tecken på befintlig resistens och den andra undersökningen används snarare för se om det finns antydning till att resistens är under utveckling. Att just dessa undersökningar valdes är på grund av att det under de senaste åren har kommit flera illavarslande rapporter från olika länder i Europa och världen om att ERP för ivermektin har förkortats vilket tolkas som att resistens håller på att utvecklas mot substansen.

Studiens resultat visade på att ivermektin minskade äggen från före avmaskning till två veckor efter avmaskning med  $> 99$  %. Resultat visar att det inte förekommer en befintlig resistens hos maskarna på de undersökta gårdarna vilket är mycket bra. I den andra delen av studien, ERP-undersökningen, var resultaten mer oroväckande. ERP beräknades på tre olika sätt och med alla tre sätt kunde en förkortning av perioden påvisas, vilket innebär att resistens mot substansen är under utveckling.

Kunskapen som framkommit med detta arbete ska motivera till fler och större studier inom samma område. Eftersom endast tre gårdar blivit provtagna behöver ett större antal undersökas för att hela det svenska resistensläget ska kunna kartläggas. Parasiterna kommer inte att

försvinna av sig själv och för att vi ska kunna säkerställa hästarnas hälsa och välbefinnande behöver vi avmaskningsmedel som är effektiva i att bota och förebygga sjukdomar som uppstår till följd av parasitinfektioner.

## REFERENSER

- Bellaw, J. L., Krebs, K., Reinemeyer, C. R., Norris, J. K., Scare, J. A., Pagano, S., & Nielsen, M. K. (2018). Anthelmintic therapy of equine cyathostomin nematodes - larvicidal efficacy, egg reappearance period, and drug resistance. *International Journal for Parasitology*, 48(2), 97-105. doi:10.1016/j.ijpara.2017.08.009
- Boersema, J. H., Eysker, M., Maas, J., & van der Aar, W. M. (1996). Comparison of the reappearance of strongyle eggs on foals, yearlings and adult horses after treatment with ivermectin or pyrantel. *The Veterinary Quarterly*, 18(1), 7-9. doi:10.1080/01652176.1996.9694602
- Borgsteede, F. H., Boersma, J. H., Gaasenbeek, C. P., & van der Burg, W. P. (1993). The reappearance of eggs in faeces of horses after treatment with ivermectin. *The Veterinary Quarterly*, 15(1), 24-26. doi:10.1080/01652176.1993.9694363
- Brady, H. A., & Nichols, W. T. (2009). Drug resistance in equine parasites: an emerging global problem. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29(5), 285-295. doi:10.1016/j.jevs.2009.04.186
- Coles, C. G., Bauer, C., Borgsteede, M. H. F., Geerts, S., Klei, R. T., Taylor, A. M., & Waller, J. P. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44, 35-44.
- Denwood, M. J., Love, S., Innocent, G. T., Matthews, L., McKendrick, I. J., Hillary, N., . . . Reid, S. W. J. (2012). Quantifying the sources of variability in equine faecal egg counts: Implications for improving the utility of the method. *Veterinary Parasitology*, 188(1-2), 120-126. doi:10.1016/j.vetpar.2012.03.005
- Drudge, J. H. (1979). Clinical aspects of *Strongylus vulgaris* infection in the horse: emphasis on diagnosis, chemotherapy, and prophylaxis. *Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice*, 1(2), 251-265. doi:10.1016/s0196-9846(17)30183-0
- ESCCAP. (2018). A guide to the treatment and control of equine gastrointestinal parasite infections. *ESCCAP Guideline 08*, First Edition - August 2018, 2-29.
- Eysker, M., Boersema, J. H., Grinwis, M. C. G., Kooyman, N. J. F., & Poot, J. (1997). Controlled dose confirmation study of a 2% moxidectin equine gel against equine internal parasites in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 70, 165-173.
- FASS (2015). Banminth vet. Tillgänglig: <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19790223000014> [2015-07-27]
- Geurden, T., van Doorn, D., Claerebout, E., Kooyman, F., De Keersmaecker, S., Vercruyssen, J., . . . Traversa, D. (2014). Decreased strongyle egg re-appearance period after treatment with ivermectin and moxidectin in horses in Belgium, Italy and The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 204(3-4), 291-296. doi:10.1016/j.vetpar.2014.04.013
- Giles, C. J., Urquhart, A. J., & Longstaffe, J. A. (1985). Larval cyathostomiasis (immature trichonema-induced enteropathy): A report of 15 clinical cases. *Equine Veterinary Journal*, 17(3), 196-201.
- Hinney, B., Wirtherle, N. C., Kyule, M., Miethe, N., Zessin, K. H., & Clausen, P. H. (2011). Prevalence of helminths in horses in the state of Brandenburg, Germany. *Parasitology Research*, 108(5), 1083-1091. doi:10.1007/s00436-011-2362-z
- Höglund, J., Ljungström, B., & Gustafsson, K. (2011). Sviktande avmaskningseffekt av pyrantelpamoat hos häst. *Svensk Veterinärtidning*, 6, 19-21.
- Klei, R. T., Rehbein, S., Visser, M., Langhoff, W. K., Chapman, M. R., Frencha, D. D., & Hansond, P. (2001). Re-evaluation of ivermectin efficacy against equine gastrointestinal parasites. *Veterinary Parasitology*, 98, 315-320.

- Larsen, M. L., Ritz, C., Petersen, S. L., & Nielsen, M. K. (2011). Determination of ivermectin efficacy against cyathostomins and *Parascaris equorum* on horse farms using selective therapy. *Veterinary Journal*, 188(1), 44-47. doi:10.1016/j.tvjl.2010.03.009
- Lester, H. E., & Matthews, J. B. (2014). Faecal worm egg count analysis for targeting anthelmintic treatment in horses: points to consider. *Equine Veterinary Journal*, 46(2), 139-145. doi:10.1111/evj.12199
- Lester, H. E., Spanton, J., Stratford, C. H., Bartley, D. J., Morgan, E. R., Hodgkinson, J. E., . . . Matthews, J. B. (2013). Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. *Veterinary Parasitology*, 197(1-2), 189-196. doi:10.1016/j.vetpar.2013.06.009
- Lyons, E. T., & Tolliver, S. C. (2013). Further indication of lowered activity of ivermectin on immature small strongyles in the intestinal lumen of horses on a farm in Central Kentucky. *Parasitology Research*, 112(2), 889-891. doi:10.1007/s00436-012-3098-0
- Lyons, E. T., Tolliver, S. C., Collins, S. S., Ionita, M., Kuzmina, T. A., & Rossano, M. (2011). Field tests demonstrating reduced activity of ivermectin and moxidectin against small strongyles in horses on 14 farms in Central Kentucky in 2007-2009. *Parasitology Research*, 108(2), 355-360. doi:10.1007/s00436-010-2068-7
- Martin, J. R. (1997). Modes of action of anthelmintic drugs. *The Veterinary Journal*, 154, 11-34.
- McKellar, A. Q., & Benchaoui, A. H. (1996). Avermectin and milbemycin. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19, 331-351.
- Mfifilodze, W. M., & Hutchinson, W. G. (1990). Prevalence and abundance of equine strongyles (Nematoda: Strongyloidea) in tropical Australia. *The Journal of Parasitology*, 76(4), 487-494.
- Molena, R. A., Peachey, L. E., Di Cesare, A., Traversa, D., & Cantacessi, C. (2018). Cyathostomine egg reappearance period following ivermectin treatment in a cohort of UK Thoroughbreds. *Parasites & Vectors*, 11(1), 61. doi:10.1186/s13071-018-2638-6
- Morariu, S., Mederle, N., Badea, C., Darabus, G., Ferrari, N., & Genchi, C. (2016). The prevalence, abundance and distribution of cyathostomins (small strongyles) in horses from Western Romania. *Veterinary Parasitology*, 223, 205-209. doi:10.1016/j.vetpar.2016.04.021
- Nareaho, A., Vainio, K., & Oksanen, A. (2011). Impaired efficacy of ivermectin against *Parascaris equorum*, and both ivermectin and pyrantel against strongyle infections in trotter foals in Finland. *Veterinary Parasitology*, 182(2-4), 372-377. doi:10.1016/j.vetpar.2011.05.045
- Nielsen, K. M., & Reinemeyer, R. C. (2018). Biology and life cycles of equine parasites. In *Handbook of Equine Parasite Control* (Second ed., pp. 1-23): John Wiley & Sons, Inc.
- Nielsen, M. K., Mittel, L., Grice, A., Erskine, M., Graves, E., Vaala, W., Kaplan, R. M. (2013). *AAEP Parasite Control Guidelines*. AAEP Parasite Control Subcommittee of the AAEP Infectious Disease Committee.
- Nielsen, M. K., Vidyashankar, A. N., Andersen, U. V., DeLisi, K., Pilegaard, K., & Kaplan, R. M. (2010). Effects of fecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. *Veterinary Parasitology*, 167(1), 55-61. doi:10.1016/j.vetpar.2009.09.043
- Osterman, L. E., Eysker, M., Nilsson, O., Uggla, A., & Höglund, J. (2003). Expulsion of small strongyle nematodes (cyathostomin spp) following deworming of horses on a stud farm in Sweden. *Veterinary Parasitology*, 115(4), 289-299. doi:10.1016/s0304-4017(03)00200-0
- Osterman, L. E., Christensson, D., & Nyman, G. (2007b). Förhållningssätt för kontroll av parasiter hos häst. *Svensk Veterinärtidning*, 15, 17-19.
- Osterman, L. E., Kuzmina, T., Uggla, A., Waller, P. J., & Höglund, J. (2007a). A field study on the effect of some anthelmintics on cyathostomins of horses in Sweden. *Veterinary Research Communications*, 31(1), 53-65. doi:10.1007/s11259-006-3402-5

- Plumb, C. D. (2011). *Plumbs Veterinary Drug Handbook*, 7th ed. Wiley-Blackwell.
- Reid, J. W. S., Mair, S. T., Hillyear, H. M., & Love, S. (1995). Epidemiological risk factors associated with a diagnosis of clinical cyathostomiasis in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 27(2), 127-130.
- Relf, V. E., Lester, H. E., Morgan, E. R., Hodgkinson, J. E., & Matthews, J. B. (2014). Anthelmintic efficacy on UK Thoroughbred stud farms. *International Journal for Parasitology*, 44(8), 507-514. doi:10.1016/j.ijpara.2014.03.006
- Relf, V. E., Morgan, E. R., Hodgkinson, J. E., & Matthews, J. B. (2013). Helminth egg excretion with regard to age, gender and management practices on UK Thoroughbred studs. *Parasitology*, 140(5), 641-652. doi:10.1017/S0031182012001941
- Sangster, C. N. (1999). Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectin/milbemycins. *Veterinary Parasitology*, 85, 189-204.
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (2018a) Tillgänglig: <https://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiterhos-hast/invarter-parasiter-endoparasiter-hast> [2018-03-15]
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (2018b) Tillgänglig: <https://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiterhos-hast/avmaskning-av-hast> [2018-03-16]
- Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall R. L. (2016). *Veterinary Parasitology*, 4th ed. Wiley-Blackwell.
- Torgerson, P. R., Paul, M., & Furrer, R. (2014). Evaluating faecal egg count reduction using a specifically designed package "eggCounts" in R and a user friendly web interface. *International Journal for Parasitology*, 44(5), 299-303. doi:10.1016/j.ijpara.2014.01.005
- Traversa, D., Castagna, G., von Samson-Himmelstjerna, G., Meloni, S., Bartolini, R., Geurden, T., . . . D'Espois, M. (2012). Efficacy of major anthelmintics against horse cyathostomins in France. *Veterinary Parasitology*, 188(3-4), 294-300. doi:10.1016/j.vetpar.2012.03.048
- Traversa, D., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Milillo, P., Schurmann, S., Barnes, H., . . . Cobb, R. (2009). Anthelmintic resistance in cyathostomin populations from horse yards in Italy, United Kingdom and Germany. *Parasites & Vectors*, 2 Suppl 2, S2. doi:10.1186/1756-3305-2-S2-S2
- van Doorn, D. C., Ploeger, H. W., Eysker, M., Geurden, T., Wagenaar, J. A., & Kooyman, F. N. (2014). Cylicocyclus species predominate during shortened egg reappearance period in horses after treatment with ivermectin and moxidectin. *Veterinary Parasitology*, 206(3-4), 246-252. doi:10.1016/j.vetpar.2014.10.004
- von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schurmann, S., Rohn, K., Schnieder, T., & Epe, C. (2007). Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. *Veterinary Parasitology*, 144(1-2), 74-80. doi:10.1016/j.vetpar.2006.09.036
- Werell, E. (2017). *Prevalens av Strongylus vulgaris*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2017:49)
- Wolstenholme, A. J., & Rogers, A. T. (2005). Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. *Parasitology*, 131 Suppl, S85-95. doi:10.1017/S0031182005008218
- Xiao, L., Herd, P. R., & Majewski, A. G. (1994). Comparative efficacy of moxidectin and ivermectin against hypobiotic and encysted cyathostomes and other equine parasites. *Veterinary Parasitology*, 53, 83-90.



## BILAGA 1 – MEJL TILL DJURÄGARE

Kära hästägare,

Jag kontaktar er eftersom ni deltar i My Perssons examensarbete gällande förekomst av stora blodmasken hos häst. Mitt namn är Johanna Fridolf, jag är kurskamrat med My, läser alltså sista året på veterinärprogrammet och nu är det min tur att komma igång med mitt examensarbete.

Syftet med mitt arbete är att undersöka effekten av de avmaskningsmedel som idag rekommenderas att använda mot lilla och stora blodmasken samt att fånga upp om tidiga tecken på resistens hos maskarna kan påvisas. I flera länder i Europa har resistensproblemet ökat och det är viktigt att vi i Sverige också bildar oss en uppfattning om läget så att åtgärder mot utvecklingen av resistens kan sättas in i ett tidigt skede. Detta för att vi i längden ska ha fungerande avmaskningsmedel till våra hästar.

Studien kommer utföras i vår med start vecka 11 och en överskådlig plan presenteras här:

- Vecka 9-11 – Träckprov skickas in för att ett urval av lämpliga hästar ska kunna göras (hästarna som deltar måste ha mask vid studiens start för att effekten ska kunna mätas).
- Vecka 12 – Avmaskning.
- Vecka 14 – 20 – Träckprov skickas in en gång/vecka från varje häst.

Totalt skickas alltså 8 träckprov/häst in för analys.

Vi har begränsat antal hästar som deltar till max 12 st/gård.

Mot deltagande i studien kommer följande ersättning lämnas ut:

- Avmaskningsmedel (Eraquell vet.) till alla hästar som deltar.
- Ett viktband till varje deltagande gård.
- EPG-räkning på varje insänt träckprov.
- Odling av stora blodmasken före och efter avmaskning.
- Allt material som behövs för provtagning inkl. frakt.
- Ett stort tack för att ni bidrar till viktig forskning!

Det hade varit väldigt roligt om ni vill vara med! Hör gärna av er så fort som möjligt om ni vill ställa upp eller inte samt om ni har några frågor eller funderingar. Ytterligare instruktioner kommer skickas till er som vill delta.

Med vänlig hälsning,

Johanna Fridolf  
Veterinärstudent år 5

## **BILAGA 2 – INSTRUKTION TILL HÄSTÄGARE**

### **Instruktioner**

Här kommer lite instruktioner inför avmaskning och träckprovtagningen av era hästar.

Paketets innehåll ska användas under veckorna studien pågår:

- Viktband
- Avmaskningsmedel
- Provtagningspåsar
- Följesedlar, en för varje vecka
- Förpackningsmaterial

### **Avmaskning**

Utförs måndag vecka 13.

1. Mät hästens vikt med viktbandet.
2. Dosera avmaskningsmedlet enligt vikt, avrunda uppåt till närmaste 50-tal kg.
3. Se till så att munnen är tom och ren och ge därefter sprutan i hästens mun så långt bak på tungan som möjligt. Se till att hela dosen sprutas ut.
4. Håll koll på hästen 5 minuter efter givan så att avmaskningsmedlet inte spottas ut.

### **Träckprovstagning**

Utförs varje måndag vecka 15-21.

- Tänk på att plocka så färsk träck som möjligt, lagom mängd är 2-3 träckbollar (storlek från stor häst), dvs. har du små ponnyer kan du behöva skicka med några extra träckbollar.
- Märk upp påsarna med hästarnas namn.
- Använd fraktsedlarna uppmärkta med veckonummer som ni fått hemskickat.

Det är viktigt att hästarna inte avmaskas fler gånger förrän studien är slut!

Välkomna att kontakta mig närsomhelst om ni har några funderingar.

Vänliga hälsningar,

Johanna Fridolf  
Veterinärprogrammet årskurs 5

## BILAGA 3 – FÖLJESEDEL FÖR TRÄCKPROV

# FÖLJESEDEL FÖR TRÄCKPROV

Djurägaren/ombudets namn:.....

Ort:.....

Postnr:.....

Mobilnr:.....

Ifylles av lab



Hästens namn	Hur gammal är hästen?	Senaste avmaskning (månad/år)	Vilket preparat användes vid senaste avmaskningen?	EPG blodmask	Förekomst stor blodmask
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					

TRÄCKPROV SKICKAS TILL:

Sveriges Lantbruksuniversitet  
VHC godsmottagningen  
BVF/Parasitologi  
Eva Tydén/Johanna Fridolf  
Almas Allé 4C  
75651 Uppsala