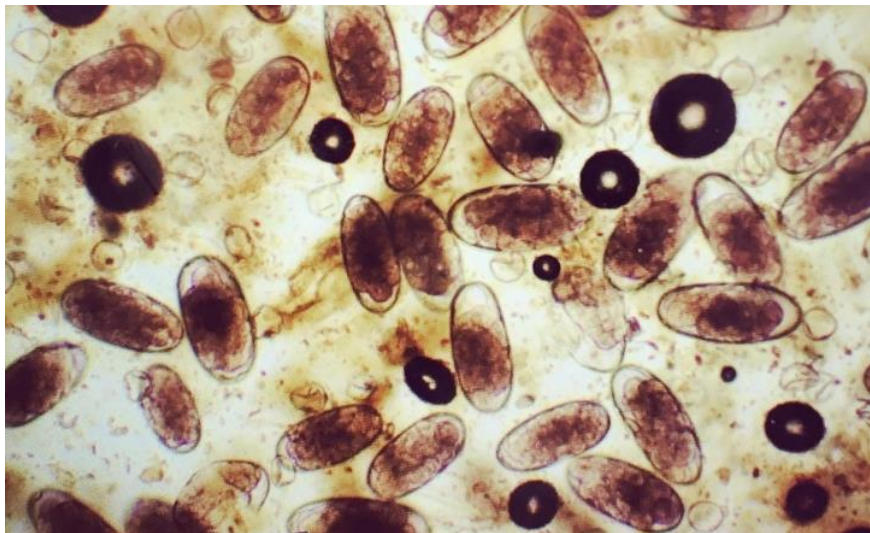


Anthelmintisk effekt av örtblandningen *Equus Mundi* på cyathostominer

Anthelmintic effect of the herbal blend *Equus Mundi* on cyathostomins



Isabella Karlsson

*Uppsala
2019*

Anthelmintisk effekt av örtblandningen *Equus Mundi* på cyathostominer

Anthelmintic effect of the herbal blend *Equus Mundi* on cyathostomins

Isabella Karlsson

Handledare: *Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Examinator: *Giulio Grandi, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

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: *Foto på blodmaskäg, fotograf: Isabella Karlsson*

Nyckelord: *Häst, Equus Mundi, anthelmintika, avmaskning, örter, medicinalväxter, resistens*

Key words: *Horse, Equus Mundi, anthelmintic, deworming, herbs, medicinal plants, resistance*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsa

SAMMANFATTNING

Den vanligaste inälvsparasiten hos häst är små blodmaskar. De senaste 10–15 åren har en världsbredd ökning av resistens mot dagens avmaskningsmedel bevitnats hos hästens små blodmaskar, vilket innebär att färre avmaskningspreparat finns att tillgå och andra metoder krävs för att få bukt med parasitproblemen. För att minska det rutinmässiga användandet av avmaskningsmedel tillämpas idag selektiv avmaskning som baseras på träckprovsanalys och för de hästar som urskiljer minst 200 ägg per gram (EPG) träck rekommenderas avmaskning.

Det finns idag aktörer som förespråkar mer ”naturliga” alternativ till avmaskning än vanliga ”kemiska” preparat. Kommersiella örtpreparat saluförs som alternativ till receptbelagda läkemedel för behandling av parasitinfektion hos häst och även andra djurslag. Ett sådant preparat är örtblandningen *Equus Mundi* som säljs som en avmaskande produkt, dock saknas det studier som kan säkerställa preparatets effekt mot angiven indikation. Syftet med detta examensarbete var att undersöka om örtblandningen *Equus Mundi* har en avmaskande effekt med avseende på små blodmaskar och om det är lämpligt att rekommendera som avmaskande behandling hos djurslaget häst.

Studien genomfördes under våren år 2018 och sex hästar ingick i försöket som samtliga hade över 200 EPG vid försökets början. Hästarna behandlades i 14 dagar med *Equus Mundi* enligt tillverkarens rekommenderade dos och intervall. Träckprover analyserades kontinuerligt under och efter försökets gång för att följa hästarnas EPG-nivåer och på så sätt räkna ut effektiviteten av preparatet.

Fecal egg count reduction test (FECRT) användes för att räkna ut effekten av preparatet. Resultatet visade på en viss reduktion i äggurskiljning 35 dagar efter behandling med örtblandningen *Equus Mundi*, men inte tillräcklig reduktion för att kunna kalla preparatet avmaskande. Den observerade reduktionen var inte statistiskt signifikant och därför bör *Equus Mundi* inte användas utan att effekten av behandling kontrolleras. Det finns evidens för att örtarter i *Equus Mundi* har antiparasitär effekt, men studierna har undersökt effekten av extrakt och ej av torkade örter. På sikt skulle en förebyggande behandling med örtpreparat möjligen kunna bli ett viktigt alternativ eller komplement till traditionell behandling av parasitinfektioner förutsatt att terapeutiska koncentrationer uppnås, utan risk för toxiska effekter med allvarliga biverkningar som följd.

SUMMARY

The most common endoparasites in horses are the small strongyles. Over the past 10 – 15 years there has been an increase of anthelmintic resistance within the small strongyles worldwide, meaning that there are fewer anthelmintics available. It is clear that alternative methods are needed to control the issue with endoparasites. To decrease the routine-based use of anthelmintics selective deworming is applied based on fecal sample analysis, and deworming is recommended for horses that shed at least 200 egg per gram (EPG) feces.

Today, more “natural” alternatives for deworming are promoted over the usual “chemical” deworming agents. These are commercial herbal blends that are marketed as alternatives to prescription drugs for treatment of endoparasites in horses and other species. One of these alternatives is the herbal blend *Equus Mundi* that is marketed as a deworming agent. However, there is a lack of scientific validation that can ensure the effect of the agent against specified indication. The aim of this study was to examine if *Equus Mundi* has anthelmintic properties against small strongyles and if it is suitable to recommend as a deworming agent in horses.

The study was performed in Spring 2018 and six horses were included in the trial. All the horses shed more than 200 EPG in their feces at the beginning of the trial. Within 14 days the horses were treated with *Equus Mundi* according to the manufacturers recommended dosage and interval. Fecal samples were analyzed continuously during and after the trial to monitor the EPG-levels to be able to study the efficacy of the natural dewormer.

Fecal egg count reduction test (FECRT) was used to study the efficacy of *Equus Mundi*. The results indicate a certain reduction in egg shedding 35 days after treatment with the herbal blend *Equus Mundi*, but not enough reduction to call it anthelmintic. The observed reduction was not statistically significant. Therefore, *Equus Mundi* should not be used without its efficacy of treatment being controlled. There is evidence, shown in previous studies, that herb species in *Equus Mundi* express anthelmintic efficacy, but the results show the effect of extracts and not of the dried herbs themselves. The use of herbal based dewormers as prophylactic treatment may in the future become an important alternative or complement to the traditional treatment of endoparasites in horses if therapeutic concentrations can be obtained without reaching toxic concentrations followed with serious side effects.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Inledning.....	1
Litteraturoversikt.....	2
Endoparasiter hos häst.....	2
Avmaskningsrutiner i Sverige.....	2
Resistensläge och hur effekt av avmaskning utvärderas.....	2
Örter/växter som avmaskningsmedel.....	3
Bakgrund.....	3
Tanniner och flavonoider.....	3
Kommersiell örtblandning som avmaskning?.....	4
Dokumenterad anthelmintisk effekt hos utvalda örter.....	4
Vitlök (lat. <i>Allium sativum</i>).....	5
Timjan (lat. <i>Thymus serpyllum</i> , <i>Thymus vulgaris</i>).....	5
Pepparrot (lat. <i>Armoracia rusticana</i>).....	5
Pepparmynta (lat. <i>Mentha piperita</i>).....	6
Bockhornsklöver (lat. <i>Trigonella foenum-graecum</i>).....	6
Senapsfrö (lat. <i>Brassica juncea</i>).....	7
Kanel (lat. <i>Cinnamomum verum</i>).....	7
Nässla (lat. <i>Urtica dioica</i>).....	8
Övriga örter.....	8
Andra örter med anthelmintaktivitet som kan ingå i örtblandningar.....	8
Fänkål (lat. <i>Foeniculum vulgare</i>).....	8
Ålandsrot (lat. <i>Inula helenium</i>).....	8
Material och metoder.....	9
Litteratursökning.....	9
Genomförande.....	9
Studiepopulation och inklusionskriterier.....	9
Örtkur och träckprovsanalys.....	9
Behandlingsintervall och dos.....	9
Kostnad.....	10
Provtagning.....	10
Laborationsarbete – träckprovsanalys.....	10
Äggräkning enligt McMaster.....	10
Detektion av <i>Strongylus vulgaris</i>	10
FECRT – Fecal Egg Count Reduction Test.....	10
Resultat.....	11
EPG-nivåer under studien.....	11
Detektion av <i>Strongylus vulgaris</i>	12
Fecal egg count reduction – Bayesian hierarchical model.....	13
Diskussion.....	13
Preparatet <i>Equus Mundi</i>	13
Begränsningar i att använda växter som ”naturliga” avmaskningsmedel.....	14
Möjliga felkällor.....	14
Torkade örter vs. extrakt.....	15
Toxicitet och eventuella biverkningar.....	16

Konklusion	17
Populärvetenskaplig sammanfattning.....	18
Referenser.....	21
Bilaga 1 – Tillverkarens kommentarer	1

INLEDNING

Användning av växter och växtextrakt för behandling av gastrointestinala parasiter hos både människor och djur har sin grund långt tillbaka i antiken (Waller *et al.*, 2001). Under medeltiden förekom det att växter med påstådd antiparasitär effekt blandades med mineralsalter som till exempel arsenik och koppar, eller mer udda material såsom blod, avföring eller vätskor från reptiler. Blandningarna var ofta väldigt riskabla – både för parasiterna och deras värdjur. Över tid förfinades preparaten för att åtminstone förminska de oönskade effekterna för värdjuret. Med fördelen av säkrare och mer effektiva syntetiska antiparasitära sammansättningar så försvann dessa preparat sedan från marknaden (Gibson, 1980). I artikeln av Waller *et al.* 2001 skriver författarna att det är viktigt att användningen av örter för kontroll av invärtes parasiter baseras på sunt förnuft och vetenskaplig evidens och att örterna samtidigt är oskadliga för värdjuret.

De senaste 10 - 15 åren har vi bevittnat en världsutbredd ökning i både prevalens och spridning av anthelmintikaresistens (Kaplan & Vidyashankar, 2012). Resistens utgör ett hot för oss människor och våra djur. Resistensproblematiken medför att andra metoder krävs för att få bukt med parasitproblemen, till exempel betesstrategier och ytterligare åtgärder för att minska parasittrycket i miljön samt korrekt riktad avmaskning (Matthews, 2014).

Det finns idag aktörer som förespråkar mer ”naturliga” alternativ till avmaskning än vanliga ”kemiska” preparat. Kommersiella örtpreparat saluförs som alternativ till receptbelagda läkemedel för behandling av parasitinfektion hos häst och andra djurslag. Ett sådant preparat är örtblandningen *Equus Mundi* som enligt tillverkaren är en ”avmaskande produkt som tar bort den parasitbörda som finns, samt verkar förebyggande och driver ut parasiterna så att de ej får fäste”. I dagsläget saknas det studier som kan säkerställa örtblandningen *Equus Mundi* effekt mot angiven indikation och djurslag. Syftet med detta examensarbete är att undersöka det kommersiella örtbaserade preparatet *Equus Mundi* som sägs ha anthelmintiska egenskaper och dess effekt med avseende på hästens små blodmaskar. Mer specifikt undersöks om örtpreparatet verkligen har en avmaskande effekt och om det är lämpligt att rekommendera som avmaskande behandling för djurslaget häst. Framförallt är det viktigt att hästar skyddas från sjukdom som kan uppkomma vid inkorrekt avmaskning samt att det är viktigt för konsumenterna som använder eller funderar på att använda *Equus Mundi* som ”avmaskande” kur att veta om preparatet har effekt.

LITTERATURÖVERSIKT

Endoparasiter hos häst

Att hästar har en viss mängd invärtes parasiter tillhör det normala. De arter som är de viktigaste att belysa är nematoderna av familjen Strongylider, spolmasken *Parascaris equorum* och bandmasken *Anoplocephala perfoliata*. Blodmaskar är den art som ställer till mest problem hos häst (Höglund, 2017). Hästens blodmaskar hör till överfamiljen Strongyloidea som i sin tur delas in i två släkter: små blodmaskar och stora blodmaskar (Nielsen & Reinemeyer, 2018). Små blodmaskar, även kallade strongylider (lat. *Cyathostominae*) är den vanligaste parasiten hos häst. Oftast har hästar liten blodmask utan att visa tecken på sjukdom (SVA, 2018b). Hästens stora blodmask *Strongylus vulgaris* klassas som hästens farligaste parasit (Höglund, 2017).

Avmaskningsrutiner i Sverige

Målet med avmaskning mot olika sorters blodmask är att hålla smittan av små blodmaskar på en låg nivå samt få bort smittan av stora blodmasken, utan att gynna utveckling av resistens (SVA, 2018a). Sedan den 15 oktober år 2007 är avmaskningsmedel till häst receptbelagda (Osterman Lind *et al.*, 2007). Receptbeläggning infördes efter ett beslut på Europainivå genom EG-direktivet 2001/82 med den främsta anledningen att minska rests substanser i animaliska livsmedel (SVA, 2008).

Avmaskning hos häst bör alltid föregås av en träckprovundersökning (Höglund, 2017). Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA) skriver att den viktigaste tiden för träckprovstagning är på våren (april-maj) innan hästarna släpps på bete, samt på hösten (september-oktober) (SVA, 2018a). Avmaskning rekommenderas till individer som urskiljer minst 200 ägg per gram (EPG) träck. I samband med vårens träckprovstagning rekommenderas även diagnostik för *S. vulgaris* (Osterman Lind *et al.*, 2007). SVA anger att det är särskilt viktigt att diagnosticera för *S. vulgaris* hos hästar med låga EPG-värden eftersom de lämnas obehandlade om inte *S. vulgaris* påvisas (SVA, 2018a).

Resistensläge och hur effekt av avmaskning utvärderas

De senaste 10-15 åren har vi bevittnat en världsutbredd ökning i både prevalens och spridning av anthelmintikaresistens (Kaplan & Vidyashankar, 2012). Anthelmintisk resistens definieras som "nedsatt behandlingseffektivitet av valt anthelmintika som tidigare utövade effektivitet mot samma parasitart och stadium, i samma värdjur, vid samma dos och samma administreringsätt" (Nielsen & Reinemeyer, 2018). En tidigare definition av resistens lyder enligt Prichard *et al.* (1980) "Resistens är närvarande när det är större andel individer inom en population som tolererar doser av en förening än i en normal population av samma art och egenskapen är ärftlig" (Prichard *et al.*, 1980). Denna definition beskriver fortfarande resistensens natur (Coles *et al.*, 2006). Efter avmaskning sprids resistensgenerna vidare till nästa generation maskar vilket leder till att problemet eskalerar (Höglund, 2017).

I en reviewartikel från 2014 skriver Matthews att kontrollstrategier generellt har fokuserat på att trycka ned förekomst av nematodägg med hjälp av frekvent avmaskning till alla hästar baserat på "egg reappearance period" (ERP) efter behandling. Den utbredda användningen av sådana program har väsentligt reducerat klinisk sjukdom, speciellt sjukdom som associerats med stora blodmaskar. Dock har hög behandlingsfrekvens lett till betydande selektionstryck för anthelmintikaresistens, framförallt hos de små blodmaskarna. Vidare beskriver Matthews att

fältstudier som publicerats det senaste årtiondet indikerar att bensimidazolresistens är utbredd globalt hos cyatosthominer och det finns också många rapporter om pyrantelresistens hos dessa maskar. Ivermektinresistens är ett ytterligare bekymmer hos tunntarmsnematoder, till exempel spolmasken som är en vanlig patogen hos föl. Resistensproblemen medför att hästens nematoder nu måste kontrolleras med metoder som är mindre beroende av anthelmintiska läkemedel och mer beroende av andra åtgärder och hantering som är utarbetad för att minska infektionskraften i miljön. Sådana strategier involverar ökad betesbearbetning integrerat med riktad anthelmintikabehandling som involverar ”fecal egg count ” (FEC)-baserade behandlingar (Matthews, 2014).

Den främsta metoden för att detektera resistens är ”fecal egg count reduction test” (FECRT) som kan användas för alla anthelmintika (Coles *et al.*, 2006). Nematodägg räknas i faeces vid start av behandling och vid definierade tidpunkter efter behandling, tiden beror på vilken anthelmintisk substans som testas. Metoden mäter egentligen behandlingens effekt snarare än den genetiska resistensen mot olika substanser (Höglund, 2017). Testet är ”gold standard” för att detektera anthelmintikaresistens. Enligt testet föreligger resistens om FECRT en till två veckor efter utförd avmaskning är lägre än ca 90 % (beroende på substans) (Coles *et al.*, 2006).

Örter/växter som avmaskningsmedel

Bakgrund

Användning av örter för behandling av gastrointestinala parasiter har sin grund långt tillbaka i antiken (Waller *et al.*, 2001). Under medeltiden hände det ofta att växter med påstådd antiparasitär effekt blandades med mineralsalter som till exempel arsenik och koppar, eller mer märkliga material såsom blod, avföring och vätskor från reptiler. Blandningarna var väldigt riskabla – både för parasiterna och deras värdjur. Över tid förfinades preparaten för att åtminstone förminska de oönskade effekterna för värdjuret, men med säkrare och mer effektiva syntetiska antiparasitära sammansättningar så försvann preparaten sedan från marknaden (Gibson, 1980).

Än idag härstammar 25 % av dagens läkemedel från plantor och många andra är syntetiska analoger till beståndsdelar isolerade från växtriket (Waller *et al.*, 2001). Trots att det finns en diversitet och bredd av ”örtavmaskningar” världen över, framförallt i asiatiska och afrikanska länder, finns det generellt en brist på vetenskaplig evidens av de påstådda anthelmintiska effekterna av dessa produkter (Waller *et al.*, 2001).

Tanniner och flavonoider

Ordet ”tannin” kommer från franskans ”tanin” (garvande substans) (Römp, Lexikon der Chemie, 1997: se Khanbabaee & van Ree, 2001). Tanniner är en heterogen grupp polyfenoler som per definition ska vara vattenlösliga och ha förmågan att bilda komplex med proteiner och andra makromolekyler (Hedqvist, 2001). Tanniner återfinns i nästan varje del av en växt: bark, stam, blad/löv, frukt och rötter (Scalbert, 1991).

Inom medicin, speciellt inom asiatisk ”natural healing” används tannininnehållande växtextrakt som adstringerande medel mot diarré (Yoshida *et al.*, 1999), diuretika (Hatano *et al.*, 1991: se Khanbabaee & van Ree, 2001), mot tumörer i magtarmkanalen (Saijo *et al.* 1989: se Khanbabaee & van Ree, 2001), och som antiinflammatoriskt, antiseptiskt och hemostatiskt läkemedel (Haslam, 1989: se Khanbabaee & van Ree, 2001). Det blir allt mer klarlagt att tanniner ofta är aktiva beståndsdelar i växtbaserade mediciner (Haslam, 1996). Tanninerna har

fått större uppmärksamhet de senaste åren då det föreslagits att konsumtion av tanninnehållande drycker, speciellt grönt te och röda viner kan bota eller förhindra olika sjukdomar (Serafini *et al.*, 1994). Tanninerna är kopplade till bland annat stimulering av fagocyterande celler och en mängd antiinfektiösa egenskaper hos människa (Haslam, 1996). Tanninernas antimikrobiella funktion kan vara relaterad till deras förmåga att inaktivera mikrobiella adhesiner, enzymer, cellmembran och transportproteiner (Ya *et al.* 1988: se Cowan, 1999).

I reviewartikeln av Waller *et al.* (2001) beskrivs att det har förutsatts att de positiva effekterna av tanninnehållande växter mot invärtes parasiter kan bero på en, eller en kombination av följande faktorer:

- Tanninnehållande växter ökar tillförseln och absorptionen av lättsmälta proteiner hos djur. Detta uppnås då tanninerna bildar icke-nedbrytbara komplex med proteiner i våmmen, vilka separeras vid det låga pH:t i löpmagen för att frisätta mer proteiner för metabolism i tunntarmen hos idisslare. Indirekt så förbättrar detta värdens resistens och motståndskraft mot nematodinfektioner.
- Tanniner har direkt anthelmintisk effekt på maskpopulationer hos djur.
- Tanniner och/eller metaboliter i träck har direkt effekt på livskraften hos de frilevande parasitstadierna (Waller *et al.*, 2001).

I en reviewartikel av Panche *et al.* (2016) belyses flavonoider, en ytterligare grupp naturliga substanser med olika fenolstrukturer. Flavonoiderna återfinns i frukt, grönsaker, sädesslag, bark, rötter, stammar, blommor, te och vin. Substanserna betraktas idag som en nödvändig komponent i en mängd farmaceutiska, medicinska och kosmetiska produkter. Detta på grund av deras antioxidativa, antiinflammatoriska, antimutagena och anticancerogena effekter tillsammans med deras kapacitet att modulera enzymfunktion på cellulär nivå (Panche *et al.*, 2016).

Kommersiell örtblandning som avmaskning?

Det finns kommersiella örtblandningar på marknaden idag, bland annat preparatet *Equus Mundi* som enligt tillverkaren har avmaskande egenskaper hos häst. Örtblandningen innehåller följande örter: anis, dragon, kanel, maskrosblad, maskrosrot, pepparmynta, snärjmåra, vitlök, nässla, timjan, senapsfrö, pepparrot, bockhornsklöver och läkemalva (Olofsson, A., Häst & HusdjursLabbet, pers. medd. 2018).

Vid personlig kontakt med tillverkaren anges att preparatet har anthelmintisk effekt mot lilla och stora blodmasken samt mot bandmask vid en längre kur om 30 dagar vid konstaterad infektion. För effekt mot spolmask behöver *Equus Mundi* enligt tillverkaren kompletteras med ytterligare anis för att få upp koncentrationerna av de verksamma substanserna från denna ört. Ett problem är dock återinfektion av invärtes parasiter om kunden ej har möjlighet att byta hage då äggen finns i markerna i årtal. Tillverkaren anger också att det hjälper till att driva ut springmask hos både häst och katt (Olofsson, A., Häst & HusdjursLabbet, pers. medd. 2018).

Dokumenterad anthelmintisk effekt hos utvalda örter

Nedan följer en sammanställning av tidigare dokumenterad anthelmintisk effekt hos några av örterna som återfinns i örtblandningen *Equus Mundi*.

Vitlök (lat. *Allium sativum*)

Vitlöken har av tradition använts i tusentals år för att behandla många olika sjukdomstillstånd. När vitlöken (lat. *Allium sativum*) krossas produceras allicin, en kraftfull antibiotisk och antifungal beståndsdel. Löken innehåller en hög koncentration svavelföreningar där allicinet är den mest verksamma substansen (Tattelman, 2015). Dock är användningen för oral konsumtion begränsad på grund av dålig biotillgänglighet. Vitlöken innehåller även andra beståndsdelar samt vitaminer och mineraler (Garba *et al.*, 2014). Saponiner, tanniner och flavonoider var de mest framträdande fytokemikalierna i vitlöken (4,5 %) (Akeem *et al.*, 2016).

En studie av Tavassoli *et al.* (2018) testade effekten av *A. sativum*-extrakt på stora blodmaskar *in vitro*. Larver odlades fram i laboratoriemiljö och inkuberades i 25°C i 1ml hydroalkoholiskt vitlöksextrakt (*A. sativum*) med stigande koncentrationer (100, 50, 10, 5, 2.5 och 1.25 mg/ml). Överlevnadsantalet av larver beräknades 1, 2, 3, 24 och 48 timmar efter behandling. Kontrollgrupp var larver inkuberade i kranvatten. *A. sativum*-extrakt avdödade mer än 95 % av larverna under de första 24 h när det administrerades vid en koncentration av 50 respektive 100 mg/ml och 90 % av larverna efter 48 h vid koncentrationerna 10 respektive 5 mg/ml (Tavassoli *et al.*, 2018).

Timjan (lat. *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris*)

Timjan består av volatila oljor (0,8 – 2,6 %) med fenoler som huvudsaklig beståndsdel (20 - 80 %), primärt tymol och karvakrol. Örten innehåller också bland annat kaffeinsyra, resiner, saponiner och tanniner (Soni, 2012). Vidare i artikeln av Soni (2012) anges att de dokumenterade farmakologiska effekterna primärt tillskrivs de volatila oljorna och flavonoiderna som timjan innehåller, vilket stödjer några av de traditionella medicinska användningsområdena. Timjan anses vara gaslindrande/gashämmande, anti-astmatiskt, spasmolytiskt, hostdämpande, slemlösande, baktericid, anthelmintisk och adstringerande. Traditionellt har örten använts för dyspepsi, kronisk gastrit, astma, diarré hos barn, urininkontinens hos barn, laryngit, tonsillit och speciellt för kikhosta och bronkit (Ashutosh, 2007; se Soni, 2012).

En studie av Maharramov & Hüseynova (2017) undersökte effekten av två olika timjanarter, *Thymus kotschyanus* och *Thymus collinus*, mot gastrointestinala parasiter hos får både *in vitro* och *in vivo*. Essentiella oljor och extrakt från plantorna användes som anthelmintisk beredning i försöket. Den anthelmintiska effekten studerades *in vitro* mot helminterna (*Trichostrongylus axei*, *Nematodirus abnormalis*, *Trichocephalus ovis* och *Haemonchus contortus*) som samlats från fårens digestionskanal för att undersöka effekten. Jämfört med kontrollgruppen avdödades alla helminter inom en kortare tids exponering. Vidare testades den anthelmintiska effekten *in vivo*. *In vivo* var den anthelmintiska effekten av *Th. Kotschyanus* 88,1 % och av *Th. Collinus* 82,9 % (Maharramov & Hüseynova, 2017).

Pepparrot (lat. *Armoracia rusticana*)

Pepparroten tillhör familjen Brassicaceae. Det är en ört där roten är lång, grov och tjock med ett smakrikt fruktkött (Mossberg & Stenberg, 2003: se Wedelsbäck Bladh & Olsson, 2011). Både pepparrot och wasabi tillhör familjen, vilka är rika på sulfatinnehållande glukosider som kallas glukosinolater. Den huvudsakliga glukosinolaten i den intakta roten hos båda arterna är sinigrin. När cellerna förstörs vid rivning eller tuggning, hydrolyseras sinigrin till allylisotiocyanat (senapsolja) och sulfat, den förstnämnda ger den typiska smaken (Yu *et al.*, 2001). Allylisotiocyanat från pepparrot har också visats ha effekt mot fiskens algsvamps-

patogen *Saprolegnia parasitica*, en parasit som ofta orsakar allvarlig skada på sötvattensfisk. Att använda detta som antifungal behandling mot denna parasit är säkert och även ett mer miljövänligt alternativ än den tidigare behandlingsregimen (Khomvilai *et al.*, 2006). Nyare forskning har även visat att allylisotiocyanat från pepparrot har insekticid aktivitet mot skadedjur såsom ockraboklusen (*Liposcelis entomophila*) och kapucinerbaggen (*Rhizopertha dominicca*) med flera (Wu *et al.*, 2009).

I en indisk studie av Abraham *et al.* (2015) testades den anthelmintiska effekten av pepparrot. Pepparrotsextrakt utvanns och testades *in vitro* på adulta daggmaskar. Den kvalitativa kemiska utvärderingen av pepparrotsextrakten var att det innehöll kolhydrater, fasta oljor, alkaloider, volatila oljor, tanniner, glukosider och flavonoider. Den huvudsakliga effekten av ett anthelmintiskt läkemedel är att orsaka slapp paralys av maskarna så att det resulterar i en expulsion av maskarna via peristaltik. Pepparrotsextraktet påvisade inte enbart paralys utan orsakade också död av maskarna, speciellt vid högre koncentrationer omkring 20 mg/ml på kortare tid jämfört med kontrollgruppen som behandlats med albendazol. Slutsatsen av denna studie av pepparrot som använts av tradition i olika folkstammar för att behandla gastrointestinal maskinfektion, visade signifikant anthelmintisk aktivitet (Abraham *et al.*, 2015).

Pepparmynta (lat. *Mentha piperita*)

En studie av Girme *et al.* (2006) studerade pepparmyntans anthelmintiska effekt *in vitro* på adulta daggmaskar av arten *Pheretima posthuma*. Metanolextrakt av pepparmynta med koncentrationen 20 mg/ml testades och jämfördes med effekten av albendazol vid samma koncentration. Se tabell 1. Studien bevisade att metanolextrakten av olika delar från pepparmyntan visade signifikant anthelmintisk aktivitet vid 20 mg/ml (Girme *et al.*, 2006).

Tabell 1. Anthelmintisk aktivitet av olika extrakt av pepparmynta (koncentration 20 mg/ml)

Behandling	Tid till paralys (min)	Tid till död (min)
Pepparmynta – löv	4.57 ± 0.286	6.20 ± 0.220
Pepparmynta – stam	1.46 ± 0.206	1.60 ± 0.298
Pepparmynta – rot	4.20 ± 0.346	4.31 ± 0.256
Albendazol	3.28 ± 0.200	3.40 ± 0.338

Bockhornsklöver (lat. *Trigonella foenum-graecum*)

Bockhornsklöver är en baljväxt som huvudsakligen odlas i mellanöstern och i Asien. Bockhornsklöverns fröer innehåller en mängd olika komponenter (Roberts, 2011) som har olika terapeutiska egenskaper, till exempel antidiabetiska, kolesterolsänkande, antioxidativa och antiinflammatoriska effekter (Madar & Stark, 2002). De komponenter som är mest intressanta funktionellt är huvudsakligen polysackarider och flavonoider (Roberts, 2011). De hypoglykemiska och hypokolesterola effekterna verkar huvudsakligen vara kopplade till den specifika sammansättningen och biologiska aktiviteten av kolhydrater och det höga saponinnehållet (Madar & Stark, 2002). Det finns ökande evidens att bockhornsklöver kan påverka immunologiska variabler hos människor och djur. Isolerade galactomannaner från bockhornsklöver ökade fagocytoshastigheten av peritoneala makrofager hos råttor i en studie

av Ramesh *et al.* (2002). I samma studie visade även galactomannanerna en aktivering av humana lymfocyter, och en ökad utsöndring av IgM (en sorts antikropp).

En studie av Buchineni & Kondaveti (2016) studerade bockhornsklöverbladextraktens anthelmintiska aktivitet *in vitro* jämfört med albendazol. Den experimentella studien utfördes under en period på tre veckor på indiska vuxna daggmaskar vilka valdes på grund av sina anatomiska likheter med *Ascaris lumbricoides*. Ett vattenbaserat bockhornsklöverextrakt testades och albendazol användes som jämförande läkemedel. Varje grupp av sex stycken daggmaskar exponerades för extrakt av bockhornsklöver i en petriskål. Paralys och död användes som ”endpoints” i studien. Örtextrakten med koncentrationen 200 mg/ml resulterade i tiden 144 ± 15 minuter till paralys och 224 ± 10 min till död. Albendazol (20 mg/ml) resulterade i 90 ± 12 min till paralys och 155 ± 21 min till död. Resultaten visar att bockhornsklöver har en anthelmintisk effekt jämfört med kontrollen (saltlösning), men en sämre anthelmintisk effekt jämfört med albendazol (Buchineni & Kondaveti, 2016).

Senapsfrö (lat. Brassica juncea)

I en studie av Lavanya (2011) studerades effekten av hydroalkoholiska och vattenbaserade extrakt av senapsfrön. Resultaten visas i tabell 2.

Tabell 2. Anthelmintisk aktivitet av olika senapsfröextrakt

Behandling	Koncentration (mg/ml)	Tid till paralys (min)	Tid till död (min)
Vattenextrakt senapsfrö	100	24.30	60
	500	8.8	30
Hydroalkoholextrakt senapsfrö	100	18.6	45
	500	6.4	26
Albendazol	20	35.42	64.9

Ovanstående resultat visar att hydroalkoholiska extrakt hade större anthelmintisk effekt än de vattenbaserade (Lavanya, 2011).

Kanel (lat. Cinnamomum verum)

Barken från olika kanelträd är en av de mest populära kryddorna som används världen över, inte enbart för matlagning utan också i traditionella och mer moderna mediciner (Sangal, 2011). De viktigaste beståndsdelarna av kaneln är kanelaldehyd och trans-kanelaldehyd (CIN), vilka förekommer i den eteriska oljan, således bidrar dessa till doften och till de olika biologiska aktiviteterna hos kanel (Yeh *et al.*, 2013).

En studie på *Cinnamomum osmophloeum* indikerade att den eteriska oljan från kanelblad innehåller höga nivåer av CIN (Chang *et al.*, 2008). Kaneln består även av andra beståndsdelar som till exempel procyanidiner (flavonoider) som innehar antioxidativa effekter (Rao & Gan, 2014).

En studie av Williams *et al.* (2015) påvisade att extrakt från kanelträdet bark hade potent anthelmintisk effekt *in vitro* mot grisens rundmask *Ascaris suum* (Williams *et al.*, 2015). En studie av Ling *et al.* (2015) studerade den anthelmintiska effekten *in vivo* hos de två bioaktiva beståndsdelarna kanelaldehyd och kanelnsyra från kanelarten *Cinnamomum cassia* mot parasiten *Dactylogyrus intermedius* hos guldfisk. Resultaten från studien visar att kanelaldehyd har anthelmintisk effekt mot *D. intermedius* baserat på morfologisk undersökning av parasiterna. Förutom detta observerades även att antalet parasiter som försvunnit från fisken efter 24 h exponering var större än innan exponering (opublicerade data) (Ling *et al.*, 2015).

Nässla (lat. *Urtica dioica*)

Nässlan tillhör familjen Urticaceae och är en allmänt förekommande ört som finns i stora delar av världen. Nässlan innehåller 0,93 mg/100 g (0,93 %) tanniner och har en antioxidantaktivitet på 66,3 % (Adhikari *et al.*, 2015). I en studie av Ezike (2013) exponerades adulta daggmaskar av arten *Nsukkadrilus mbae* för stigande koncentrationer (12.5, 25.0 och 50.0 mg/ml) av rotpulver av *U. dioica in vitro*. Resultaten visar att alla koncentrationerna hade en avdödande effekt (Ezike, 2013).

Övriga örter

Preparatet *Equus Mundi* som testats i detta examensarbete innehåller även maskrosblad och maskrosrot (*Taraxacum officinale*), anis (*Pimpinella anisum*), läkemaalvarot (*Althaea officinalis*), dragon (*Artemisia dracuncululus*) och snärjmåra (*Galium aparine*). Dock innehåller litteraturen begränsad information om dessa örter anthelmintiska effekt varpå vidare fördjupning ej redovisas i detta arbete.

Andra örter med anthelmintaktivitet som kan ingå i örtblandningar

Fänkål (lat. *Foeniculum vulgare*)

Fänkål är en väldoftande planta med ursprung i medelhavsområdet och är utbredd i olika delar av världen. Den eteriska oljan i fänkål används som tillsats i mat-, farmaceutiska, kosmetiska och parfymindustrier (Tinoco *et al.* 2007 se: Wakabayashi *et al.* 2015). Den har medicinska egenskaper, som diuretisk, antiinflammatorisk, analgetisk, antioxidativ, antiseptisk, sederande, gasförebyggande och anthelmintiska effekter (He *et al.* 2011, se: Wakabayashi *et al.* 2015).

I en studie av Wakabayashi *et al.* (2015) undersöks effekten mot *Schistosoma mansoni* (bandmask hos människa) och de cytotoxiska effekterna *in vitro* av den eteriska oljan av fänkålen. Studien visade att efter en inkubering i 24 h vid koncentrationen 100 mg/ml avdödades 50 % av både de honliga och hanliga *S. mansoni*-maskarna. Maskarnas motoriska aktivitet minskade signifikant, och den separerade parade maskar. En ytterligare effekt var att oljan påverkade antalet utvecklade ägg i ett dosberoende mönster. Resultatet från studien visar att den eteriska oljan extraherad ur fänkål innehar måttlig anthelmintisk effekt *in vitro* mot vuxna *S. mansoni* och utövar anmärkningsvärd effekt på äggutvecklingen, samtidigt som den har en låg toxicitetsprofil. Fänkålen har fördelarna att den är lätt att kultivera och den innehar relativt högt innehåll av eteriska oljor. Vidare varierar dess kemiska komposition väldigt lite mellan arterna som samlats från olika platser världen över (Wakabayashi *et al.*, 2015).

Ålandsrot (lat. *Inula helenium*)

Ålandsroten finns bland annat brett utspridd i norra Kina (Huo *et al.*, 2012). Roten har använts för att behandla smärta i överkroppen, illamående/kräkningar och diarré samt att avdöda

parasiter inom den traditionella kinesiska medicinen (Jiangsu New Medical College, 1977: se Huo *et al.* 2012). Dessutom har roten i europeiska skrifter listats som diuretika, slemlösande och anthelmintisk (Stojakowska *et al.*, 2005).

En studie av Urban *et al.* (2008) bevisade att ålandsrotsextrakt innehar en inhiberande effekt på ägg-embryogenesen hos *Ascaris suum* och god anthelmintisk effekt mot larver av arten *Trichostrongylus colubriformis*. Den observerade reduktionen var något begränsad och maximal reduktion hos embryonerade ägg var runt 53 %. Även El Garhy och Mahmoud (2002) studerade den anthelmintiska effekten av ålandsroten *in vitro* mot ägg och larver hos spolmaskarten *Ascaris lumbricoides*. De vattenbaserade extrakten av 5 % ålandsrot avdödade infektiösa larver på mindre än 40 dagar och ägg på 20 dagar. Resultaten visade att ålandsroten till en viss del hade lovande anthelmintisk effekt mot *A. lumbricoides* (El Garhy & Mahmoud, 2002). Båda studierna visar att etanolbaserade extrakt och vattenextrakt från ålandsroten uppvisar anthelmintisk effekt *in vitro* mot olika spolmaskarter (Urban *et al.*, 2008; El Garhy & Mahmoud, 2002).

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökning

Litteraturoversikten bygger framförallt på vetenskapliga artiklar som hämtats från databaserna Web of Science, Google Scholar, Science Direct och Pubmed. Sökorden har varit equine, anthelmintics, medicinal plants, anthelmintic resistance, deworming, fecal egg count (FEC) med flera. Litteraturen är även baserad på informationsbroschyrer från myndigheter till exempel Statens Jordbruksverk (SJV), andra aktörer till exempel Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA), lagar och förordningar samt rekommenderad kurslitteratur i parasitologi och annan kurslitteratur från veterinärprogrammet.

Genomförande

Studiepopulation och inklusionskriterier

Studien genomfördes i ett kollektivstall med privatägda hästar i Uppsala under våren 2018 mellan datumen 15 mars – 26 maj. Studiepopulationen utsågs av pragmatiska skäl då 17 stycken hästägare var intresserade att låta deras hästar delta i örtprojektet. Samtliga hästar provtogs för att se om de hade tillräckliga nivåer av EPG för att kunna delta. Inklusionskriteriet för deltagande i studien var minst 200 EPG. Proverna analyserades även för *S. vulgaris*.

Sju stycken hästar i åldrarna 7–22 år uppnådde inklusionskriteriet där majoriteten är tävlingshästar inom disciplinerna dressyr och hoppning. På grund av en behandlingstid på 14 dagar samt att invärtes naturläkemedel har en karenstid för tävling på 96 timmar, föll en individ bort på grund av att detta försök föll samman med vårens tävlingar. Totalt fullföljde och deltog sex stycken hästar i studien.

Örtkur och träckprovsanalys

Behandlingsintervall och dos

Det rekommenderade behandlingsintervallet och dosen av *Equus Mundi* i avmaskande syfte är enligt tillverkaren 20 gram/dag och häst (avser normalstor häst) 1 gång dagligen, 14 dagar i följd. Tillverkaren rekommenderar sedan uppföljande träckprov 3 veckor efter avslutad kur för uppföljning av effekten.

Kostnad

Preparatet kostar 1550 kr/kg = 1,55 kr/g. Med rekommenderad dos och behandlingsintervall → 14 dagar x 20 g = 280 g. 280 g x 1,55 kr/g = 434 kr/häst.

Provtagning

Träckprover är samlade från samtliga hästar enligt följande (även illustrerat i tabell 3 s.11): Initial provtagning för att se vilka hästar som kunde inkluderas i studien; samma dag som örtstart; 7 dagar efter örtstart; 14 dagar efter örtstart; 24 dagar efter örtstart (= 10 dagar efter avslutad kur) och 35 dagar efter örtstart (= 3 veckor efter avslutad kur). Samtliga hästar avmaskades därefter med ivermektin och uppföljande träckprov analyserades 2 veckor efter denna avmaskning för att säkerställa avmaskningens effekt.

Laborationsarbete – träckprovsanalys

Träckproven analyserades med avseende på antal strongylida ägg per gram (EPG) enligt McMastermetoden beskriven nedan.

Äggräkning enligt McMaster

3 gram träck vägdes upp i en glasflaska med skruvkork. 42 ml ljummet vatten tillsattes träcken. Glasflaskan skakades så att innehållet blandades till en homogen blandning. Träckblandningen filtrerades genom en sil (150 µm) ner i en bägare. Därefter hälldes blandningen över i provrör upp till 1 cm under kanten. Rören centrifugerades i 3 minuter på 1500 rpm (varv per minut). Överståndet avlägsnades med en vattensug. Provröret fylldes med mättad NaCl till 1 cm under kanten och bottensatsen blandades upp med hjälp av en pasteurpipett. En del av suspensionen pipetterades upp från rörets centrum för att fylla en McMaster-kammare (viktigt att undvika luftbubblor). Väntade cirka 3 minuter och äggen inom de två markerade områdena (McMaster-kamrarna) räknades därefter. Antalet ägg multiplicerades med 50 för att räkna ut EPG (Kompendium i Parasitologi. Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, Sektionen för parasitologi, 2012).

Detektion av *Strongylus vulgaris*

För att detektera och skilja ut *S. vulgaris* utfördes larvodlingar enligt följande. En plastburk fylldes med träck och cirka en matsked fermikulit tillsattes samt lite kranvatten. Proverna inkuberades i rumstemperatur i 14 dagar i en plastlåda med ett icke tättslutande lock för att bibehålla en fuktig miljö. Därefter fylldes burken med vatten och ställdes uppochner i en petriskål för att få larverna att migrera ut. Efter ett dygn pipetterades vätskan från skålen och hälldes i provrör som centrifugerades i 3 min på 1500 rpm. Överflödigt vätska sögs bort och bottensatsen innehållande larverna pipetterades och några droppar lades på ett objektsglas samt ett täckglas ovanpå. Larverna artbestämdes och identifierades i mikroskop. Om en eller flera *S. vulgaris*-larver påvisas är det ett positivt resultat (Thienpont *et al.*, 1986; se Osterman Lind, 2005).

FECRT – Fecal Egg Count Reduction Test

FECRT utfördes för att bedöma effekten av preparatet *Equus Mundi* med avseende på reduktion i fekal äggräkning. Enligt rekommendation från AAEP Parasite Control guidelines bör åtminstone sex hästar inkluderas i FECRT på varje anläggning (Nielsen *et al.*, 2013).

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

Uträkningen utförd i ett webbaserat program

<http://shiny.math.uzh.ch/user/furrer/shinyas/shiny-eggCounts/> och beskrivet i litteraturen enligt Torgerson *et al.* (2014). I programmet användes ingen zero-inflation, proverna analyserades parade och korrektionsfaktorn sattes till 50.

RESULTAT

EPG-nivåer under studien

Totalt deltog sex stycken hästar i åldrarna 7–22 år i studien. EPG-nivåerna hos samtliga hästar har kontrollerats inför studien (inklusionskriteriet = >200 EPG), samma dag som örtkuren påbörjats (0-prov) och därefter 7, 14, 24 och 35 dagar efter örtstart och redovisas i tabell 3 nedan. Örtpreparatet doserades peroralt med 20 gram/dag och häst 1 gång dagligen i totalt 14 dagar.

Tabell 3. EPG-nivåer under och efter behandling med örtpreparatet *Equus Mundi* samt EPG efter avmaskning med ivermektin

Häst	EPG- Inkl*	EPG - 0	EPG - 7	EPG - 14	EPG - 24	EPG - 35	Medelvärde	SD**	EPG - efter avmaskning
1	500	850	550	750	950	650	708	159,2	0
2	200	50	0	0	150	50	75	75	0
3	800	2350	800	1600	1250	1050	1308	541,2	0
4	400	600	400	500	650	750	550	129,1	0
5	1050	1250	1050	700	1000	1150	1033	170,0	0
6	350	350	250	250	200	50	242	101,7	0

* Inkl = Inklusionsträckprov

** SD = Standard Deviation/standardavvikelse

Resultatet visar att häst nr 1 vid örtkurens början hade 850 EPG. 7 dagar senare hade detta minskat till 550 EPG för att sedan stiga igen till 750 EPG efter 14 dagar. 24 dagar senare, vilket innebär 10 dagar efter avslutad kur hade individens EPG stigit igen till 950. 3 veckor efter avslutad kur, vilket är tidpunkten enligt tillverkaren att bedöma om *Equus Mundi* har haft effekt, hade individen 650 EPG. Resultatet 3 veckor efter avslutad örtkur för häst nr 1 visar på en minskning med 200 EPG.

Häst nr 2 uppnådde inklusionskriteriet på 200 EPG vid den initiala provtagningen. Vid örtkurens början (EPG-0) hade den enbart 50 EPG, vilket reducerades under de två första provtagningarna till 0, för att sedan stiga till 150 EPG 24 dagar efter örtstart och sedan sjunka till 50 EPG 35 dagar efter örtstart. Resultat 3 veckor efter avslutad örtkur för häst nr 2 visar på

oförändrad mängd EPG. Denna häst togs med i studien då den initialt uppnådde inklusionskriterierna och för att studera örtpreparatets effekt på en häst med lägre parasitbörda.

Häst nr 3 visade en större variation i EPG än övriga hästar i studien, med en standardavvikelse på 541. 7 dagar efter örtstart hade individens EPG-värden sjunkit från 2350 till 800. Veckan därpå, 14 dagar efter örtstart steg värdet till 1600 EPG. Resultat 3 veckor efter avslutad örtkur för häst nr 3 visar på en minskning med 1300 EPG.

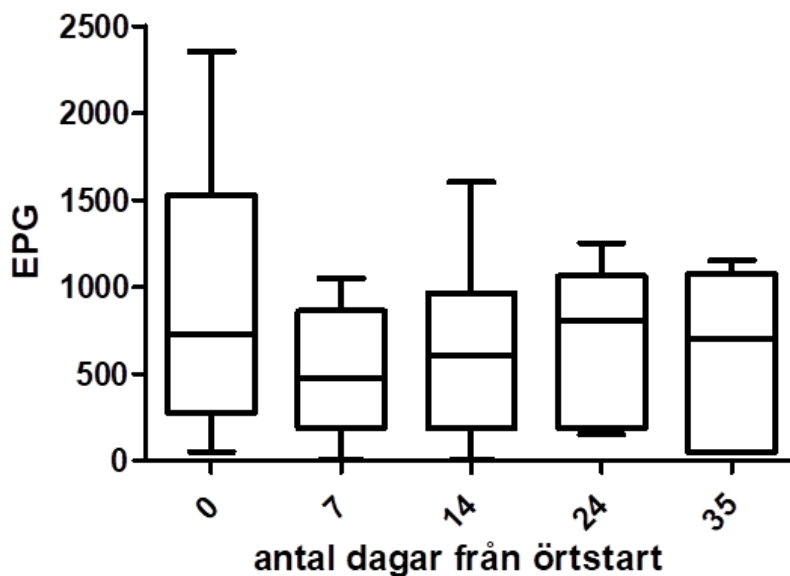
Häst nr 4 låg på jämnare EPG-nivåer under samt efter örtkuren med en standardavvikelse på 129. Resultat 3 veckor efter avslutad örtkur för häst nr 4 visar på en ökning med 150 EPG.

Häst nr 5 låg även den relativt jämt under och efter örtkuren. Resultat 3 veckor efter avslutad örtkur för häst nr 5 visar på en minskning med 100 EPG.

Resultatet för häst nr 6 visade på en minskning med 300 EPG 3 veckor efter avslutad örtkur.

Sammanfattningsvis visar resultaten att det finns en viss reduktion i EPG där 3 av 6 individer har sjunkit mellan 100–300 EPG och 1 av 6 individer har sjunkit 1300 EPG 3 veckor efter avslutad örtkur med preparatet *Equus Mundi*.

Nedan redovisas medelvärdena i EPG vid respektive provtagningstillfälle i ett låddiagram. Se figur 1.



Figur 1. EPG-nivåer under och efter behandling med örtpreparatet *Equus Mundi*. Strecket inuti boxen representerar medianvärdet och max och min-värde vid respektive provtagningstillfälle redovisas med de vågräta strecken som utgår från boxen.

EPG dag 0 och dag 35 jämfördes med varandra. P-värdet = 0,69 vilket innebär att det inte är någon signifikant skillnad mellan dag 0 och dag 35. Då P-värdet inte understiger 0,05 är EPG-variationerna i studien inte statistiskt signifikanta. Det betyder att den observerade reduktionen i äggurskiljning mellan dag 0 och 35 dagar efter behandling med örtblandningen *Equus Mundi* inte är statistiskt säkerställd.

Detektion av *Strongylus vulgaris*

Samtliga 17 prover (inklusionsträckproverna) var negativa vid odling av *S. vulgaris*.

Fecal egg count reduction – Bayesian hierarchical model

Fecal egg count reduction test (FECRT) påvisar att preparatet *Equus Mundi* har en reduktion på 24,1 % samt 33,7 %, 24 dagar respektive 35 dagar efter örtstart. Detta har jämförts med reduktionen på samtliga hästar efter avmaskning där reduktionen uppgår till 99,6 %. Se tabell 4.

Tabell 4. Fecal egg count reduction av *Equus Mundi* samt efter avmaskning med ivermektin

FECR (24 dagar efter örtstart)	0,241 = 24, 1 %
FECR (35 dagar efter örtstart)	0,337 = 33,7 %
FECR (14 dagar efter avmaskning med ivermektin)	0,996 = 99, 6 %

DISKUSSION

Alla hästar har en viss mängd invärtes parasiter där den stora blodmasken är den parasit som anses ställa till mest problem hos häst (Höglund, 2017). I och med de senaste 10–15 årens ökning av anthelmintikaresistens världen över (Kaplan & Vidyashankar, 2012) krävs andra metoder för att få bukt med parasitproblemen. Hästens små blodmaskar är i dagsläget globalt resistent för bensimidazol (Matthews, 2014) och har varit det i snart 30 år hos svenska hästar (Höglund, 2017) och det finns även många rapporter om pyrantelresistens (Matthews, 2014). Det har även uppmärksamats utebliven effekt av ivermektinbehandling mot hästens spolmask (Matthews, 2014). Med tanke på den globala resistensproblematiken som ökar hos tillgängliga avmaskningsmedel och även för andra läkemedel så kan tilliten till ”vanliga” mediciner sjunka hos en del människor och alternativ till dagens läkemedel blir förmodligen mer attraktiva för gemene man.

Som tidigare nämnts finns det aktörer som förespråkar mer ”naturliga” alternativ till avmaskning än vanliga ”kemiska” preparat. Kommersiella örtpreparat saluförs som alternativ till receptbelagda läkemedel för behandling av parasitinfektion hos häst och andra djurslag. Aktörerna trycker på att det är ”giftigt” att använda registrerade ”vanliga läkemedel” och förespråkar istället sina ”naturliga” alternativ, förmodligen för att det ska låta hälsosammare och mindre skadligt för djuret samt att det inte finns någon ännu bevisad resistens mot örter. I artikeln av Waller *et al.* (2001) skriver författarna att det är viktigt att användningen av örter för kontroll av invärtes parasiter baseras på sunt förnuft och vetenskaplig evidens och att örterna samtidigt är oskadliga för värdjuret (Waller *et al.*, 2001). Trots att det finns en diversitet och bredd av ”örtavmaskningar” världen över, framförallt i asiatiska och afrikanska länder, finns det generellt en brist på vetenskaplig validering av de påstådda anthelmintiska effekterna av dessa produkter (Waller *et al.*, 2001).

Preparatet *Equus Mundi*

Syftet med detta examensarbete var att undersöka det kommersiella örtbaserade preparatet *Equus Mundi* som sägs ha anthelmintiska egenskaper och dess effekt med avseende på hästens små blodmaskar. Mer specifikt undersöktes om örtpreparatet har en avmaskande effekt och om det är lämpligt att rekommendera som avmaskande behandling för djurslaget häst.

Resultaten talar för en viss reduktion i EPG hos ett par individer, men inte tillräcklig effekt för att kunna kalla preparatet avmaskande. Studien påvisade enbart en liten reduktion i EPG efter en ”avmaskande” kur med örtblandningen. Det anges dock i litteraturen att EPG har en tendens att pendla naturligt (Smith, 2014). Vidare skriver Smith (2014) att äggräkningsmetoder generellt är associerade med höga nivåer av variabilitet och det har uppskattats att varje äggräkning med McMaster-metod skall tolkas med en $\pm 50\%$ felmarginal (Uhlinger, 1993; se Smith, 2014). Med andra ord, en äggräkning på 400 EPG representerar egentligen räckvidden mellan 200–600 EPG. Denna variabilitet är viktig vid tolkning av FECRT (Smith, 2014). Det kan alltså vara så att de pendlande EPG-nivåerna i studien beror på variabiliteten som kan uppstå vid äggräkning med McMaster (Smith, 2014).

FECRT dag 24 och 35 efter örtstart visar på 24,1 % respektive 33,7 % reduktion i EPG. P-värdet var 0,69 vilket innebär att studiens resultat inte är statistiskt signifikant vilket betyder att resultaten kan bero på slumpen. Det betyder att det inte är statistiskt säkerställt att det är *Equus Mundi* som har orsakat variationerna i EPG-nivåer.

Samma hästar som deltagit i studien avmaskades med ivermektin efter försöket. Ivermektinbehandlingen hade i denna studie en FECR på 99,6 %. Enligt testet föreligger resistens om FECRT en till två veckor efter utförd avmaskning är lägre än ca 90 % beroende på substans (Coles *et al.*, 2006). Det föreligger således ingen resistens mot ivermektin i denna studiepopulation. Sett till FECR i denna studiepopulation uppnår örtblandningen *Equus Mundi* inte tillräckliga procent i reduktion för att ha bevisat avmaskande effekt.

Begränsningar i att använda växter som ”naturliga” avmaskningsmedel

I reviewartikeln ”Plants as de-worming agents of livestock in the Nordic countries: Historical perspective, popular beliefs and prospects for the future” av Waller *et al.* (2001) skriver författarna att det inte är en enkel sak att bara odla växter och förvänta sig att dessa ska kunna ingå i ett naturligt parasitkontrollsystem. I ett större perspektiv är det många faktorer som måste tas i beaktande. Till exempel faktorer som smaklighet, stabilitet samt om örterna eller växterna ska användas behandlande eller förebyggande behöver funderas på. Förekomsten av toxiska biverkningar samt att dosen kan vara svår att kontrollera måste också övervägas (Waller *et al.*, 2001).

Apropå smaklighet nämnt ovan så var det i denna studie en individ som var svår att få i örterna, det lämnades kvar i krubban och gick väldigt motvilligt ned efter mycket muta. Att preparatet består av torkade och krossade örter, samt innehåller den saliga blandningen av örter gör det förmodligen väldigt svårt att använda på kräsna individer. Andra problem med den ”avmaskande örtkuren” förutom att den var svår att applicera på samtliga individer så var även den långa behandlingstiden ett hinder för att kunna använda preparatet som ”avmaskande kur”. Ett preparat avsett för avmaskning som tar 14 dagar, plus att det sedan är 4 dagars tävlingskarens eftersom att det är ett invärtes naturläkemedel gör det svårt att få in en avmaskning under våren då det är många hästar som tävlar vid tidpunkten. Att preparatet var svåradministrerat till en individ under försöket kan vara en mindre felkälla i denna studie.

Möjliga felkällor

Viktigt att poängtera är att studiepopulationen i den här studien var liten, enbart sex individer inkluderades. Ju större population som undersöks desto mer tillförlitligt blir P-värdet. En liten studiepopulation innebär också att studien blir mindre tillförlitlig att applicera på hästpopulationen i stort.

I informationen från tillverkaren av preparatet rekommenderas även andra åtgärder som mockning och hagar och hagbyte för att minska risken för återinfektion från betet. Denna aspekt har inte tagits i beaktande under denna studie varpå det kan vara en felkälla. Om användarna av preparatet mockar hagar kan hästarnas EPG reduceras på grund av detta och att det istället är mockningens effekt som tillverkaren ser i träckproverna och inte en effekt av örtblandningen.

Vid personlig kommunikation med tillverkaren nämner hon att när *Equus Mundi* ej har effekt på individnivå beror det på något annat hos individen som påverkar effekten, mest troligen någon bakomliggande orsak som trycker ned individens immunsvär. Ofta ligger dessa hästar som har en annan underliggande problematik över tusen EPG enligt hennes erfarenhet. Eftersom tillverkaren menar att örterna hjälper/"boostar" kroppens egna immunförsvar fungerar inte detta när individens immunförsvar redan från början är nedsatt (Olofsson, A., Häst & HusdjursLabbet, pers. medd. 2018). De flesta hästarna som deltog i studien var i full tävlingskondition vid tidpunkten för studien. Det är möjligt att örtblandningen kan ha effekt på längre sikt om det är så att immunförsvaret hos individen förstärks av behandlingen, men det går inte att använda preparatet som ett traditionellt avmaskningsmedel. Som nämnt nedan rekommenderar tillverkaren vid personlig kommunikation att man bör arbeta med örterna mer förebyggande, för att hålla parasittrycket nere istället för att behandla när parasitinfektionen redan är manifesterad (Olofsson, A., Häst & HusdjursLabbet, pers. medd. 2018). Dock marknadsförs *Equus Mundi* som en avmaskande örtblandning enligt tillverkarens hemsida. Det är möjligt att på sikt kombinera behandling med örtblandningen *Equus Mundi* som en ytterligare åtgärd i det förebyggande arbetet att minska äggurskiljning för att hålla smittrycket på en lägre nivå, men detta har inte studerats närmare inom ramen för detta arbete.

Torkade örter vs. extrakt

Enligt många studier i litteraturgenomgången finns det evidens för anthelmintisk effekt hos flertalet av örterna som ingår i *Equus Mundi* (Girme *et al.*, 2006; Abraham *et al.*, 2015; Maharramov & Hüseynova, 2017; Tavassoli *et al.*, 2018). Dessa studier är dock baserade på noggrant extraherade och preparerade extrakt vid relativt höga koncentrationer medan *Equus Mundi* enbart är en blandning av torkade örter där koncentrationen är okänd. Majoriteten av dessa studier är utförda *in vitro* och vid litteratursökning har enbart ett fåtal *in vivo*-studier hittats. Baserat på ovanstående går det därför inte att säga att *Equus Mundi* har samma effekt som örtextrakten.

De flesta örtextrakt, till exempel från pepparrot och senapsfrön, som testades *in vitro* uppvisade anthelmintisk effekt men slutsatsen i samtliga studier är att det krävs vidare studier för att avgöra vad som utgör den anthelmintiska effekten och hur dessa substanser bör extraheras och prepareras för bästa effekt. Till exempel skriver Abraham *et al.* (2015) att vidare studier krävs för att isolera och få fram de aktiva beståndsdelarna som står för den anthelmintiska aktiviteten i pepparrotsextrakt. Detsamma anges i studien av Urban *et al.* (2008), att ålandsroten kan vara material som möjlig källa för utveckling av nya antiparasitära örtpreparat. Dock krävs vidare fytokemiska studier för att avgöra vilka typer av beståndsdelar som står för de anthelmintiska egenskaperna (Urban *et al.*, 2008). Fänkål uppvisade också anthelmintisk effekt, dock anser Wakabayashi *et al.* (2015) att det krävs vidare eftertanke och forskning innan fänkål kan användas som alternativ till traditionell antiparasitär behandling. Även i studien gällande anthelmintisk aktivitet hos senapsfrön anger författaren att vidare studier krävs för att isolera de aktiva beståndsdelarna (Lavanya, 2011). I studien av Williams *et al.* (2015) studerades den anthelmintiska effekten *in vivo* av kanel mot grisens rundmask *Ascaris suum*. Trans-

kanelaldehyd administrerades dagligen i fodret eller mer målinriktat i en inkapslad dos. Oavsett administrationssätt blev infektionen inte signifikant reducerad. Det föreslås att den snabba absorptionen eller metabolismen av trans-kanelaldehyden *in vivo* kan hindra den från att uppnå terapeutiska koncentrationer *in situ* för att få effekt. Därför anser författaren att vidare studier bör fokusera på om trans-kanelaldehydens effektivitet mot gastrointestinala parasiter kan förbättras (Williams *et al.*, 2015).

Toxicitet och eventuella biverkningar

Den administrerade dosen av örtblandning var 20 gram/dag och häst (normalstor) vilket är ca ½ dl av örtblandningen. Studien visade ingen avmaskande effekt vid denna dos. Dock är det möjligt att en högre dos eventuellt hade varit förenat med bieffekter. I en reviewartikel skriver Waller *et al.* (2001) att hänsyn måste tas till växters toxicitet och att det finns begränsad kunskap om det toxiska innehållet i många växter samt att de giftiga effekterna hos en växt kan orsakas av ett flertal substanser. Därför är det viktigt att användningen av örter för kontroll av invärtes parasiter baseras på sunt förnuft och vetenskaplig evidens, och att de samtidigt är oskadliga för djuren (Waller *et al.*, 2001). Ett urval av plantor som använts för att motverka invärtes parasiter historiskt i de nordiska länderna är bland annat: nässla, vitlök, timjan, fänkål, pepparrot och ålandsrot (Waller *et al.*, 2001). Kummin, timjan och mynta har i ryska studier från 80-talet visat sig ha effekt mot *Trichostrongylus*larver *in vitro* och även hos får (Gadzhiev & Eminov, 1986: se Waller *et al.*, 2001).

Vitlök är en av örterna som ingår i örtblandningen *Equus Mundi*. I litteraturen beskrivs att det finns en risk för akut eller kronisk vitlöksförgiftning vid konsumtion av vitlök (Pearson *et al.*, 2005). Oxidation av röda blodkroppar har rapporterats hos hund (Lee *et al.*, 2000) och får som ätit vitlök (Stevens, 1984). Andra bieffekter av vitlök inkluderar retning i magtarmkanalen när vitlökspulver appliceras direkt till magtarmkanalens mukosa (Hoshino *et al.*, 2001), inhibering av cecums mikroflora vid konsumtion av vitlöksextrakt (Shashikanth *et al.*, 1986: se Pearson *et al.*, 2005), kontaktdermatit från topikal exponering av färska klyftor (Eming *et al.*, 1999), ansträngningsastma (Lybarger *et al.*, 1982), minskad spermatogenes till följd av hög-dos sondmätning av vitlökspulver (Dixit & Joshi, 1982) och interaktioner med konventionella läkemedel (Izzo & Ernst, 2001). Pearson *et al.* (2005) kom i en studie fram till att hästar kan äta tillräckliga mängder vitlök för att orsaka en blodbrist. Sammanfattningsvis finns det en risk att hästar drabbas av vitlöksförgiftning om de kontinuerligt fodras med vitlök. Vidare studier krävs för att fastställa vad som är en säker dos vitlök att tillsätta i hästens dagliga foder (Pearson *et al.*, 2005). Risken för vitlöksförgiftning vid användning av *Equus Mundi* är dock mycket liten pga låg dos i örtblandningen. Att fokus ovan ligger på vitlöakens toxicitet är på grund av att vitlök är allmänt känt att vara giftigt för djur och för att jag ville poängtera att det absolut finns toxiska doser även av örter.

Toxicitet och bieffekter av örter belyses i en artikel av Soni (2012). Soni beskriver brister gällande information om klinisk säkerhet och toxicitetsdata för timjan och att det krävs vidare utredning av dessa aspekter. Timjanolja är retande för hud och slemhinnor. Toxiska symtom som dokumenterats gällande tymol inkluderar illamående, kräkningar, magsmärter, huvudvärk, yrsel, kramper, koma och hjärt- och andningsuppehåll (Soni, 2012). Vidare fördjupning i övriga örter toxicitet har ej utförts i detta examensarbete.

Vid personlig kontakt med tillverkaren av *Equus Mundi* diskuterades möjliga biverkningar av preparatet. Olofsson anger att urin och avföring under kurens gång kan få förändrat utseende, färg och konsistens. Avvikelserna beror enligt tillverkaren på kroppens utrensning av slagg-

produkter. Även ökat tårflöde anger tillverkaren att vissa individer kan få som en bieffekt. Biverkningarna brukar vara övergående och ej allvarligare än så enligt hennes erfarenhet (Olofsson, A., Häst & HusdjursLabbet, pers. medd. 2018).

Vid samtal med tillverkaren menar Olofsson att vi är individer i allt, både i immunförsvar och hur vi svarar på behandling. Det kan vara annat på individnivå som påverkar effekten av behandling. Samt att de behandlingar som rekommenderas av tillverkaren ser till helhetshälsan och Olofsson menar att hälsa inte är en "quick fix", vilket innebär att inte heller avmaskning är en "quick fix". Tillverkaren rekommenderar att jobba förebyggande med örterna för att hålla parasittrycket nere istället för att låta nivåerna stiga tills en "avmaskande kur" blir nödvändig. Tillverkaren menar att FECRT är mer applicerbar på kemiska behandlingar varpå FECRT ej har använts för att bedöma effekten av preparatet då naturprodukten inte går att jämföra med kriterierna för ett läkemedel enligt ovan. Enligt Olofssons erfarenhet reduceras EPG-nivåerna generellt med 50 % de första 10 dagarna vid behandling med *Equus Mundi*. Om individen inte har sjunkit i EPG på 3 veckor rekommenderas utredning för bakomliggande orsak till exempel sänkt immunsvaret av annan anledning eller stress (t.ex. ston kan stressa varandra) för att nämna några saker (Olofsson, A., Häst & HusdjursLabbet, pers. medd. 2018).

KONKLUSION

Sammanfattningsvis visade studien på en viss reduktion i äggurskiljning 35 dagar efter en 14-dagars behandling med örtblandningen *Equus Mundi*, men inte tillräcklig reduktion för att kunna kalla preparatet avmaskande. Dock är den observerade reduktionen inte statistiskt signifikant och därför bör *Equus Mundi* inte användas utan att effekten av behandling kontrolleras. Det finns evidens för att örtarter i *Equus Mundi* har antiparasitär effekt, men studierna har undersökt effekten av extrakt och ej av torkade örter samt på diverse djurslag. På sikt skulle en förebyggande behandling med örtpreparat möjligen kunna bli ett viktigt alternativ eller komplement till traditionell behandling av parasitinfektioner förutsatt att terapeutiska koncentrationer uppnås utan risk för toxiska effekter med allvarliga biverkningar som följd.

Baserat på resultaten bör avmaskning med örter inte rekommenderas för att behandla en konstaterad parasitinfektion hos djurslaget häst med $EPG > 200$. Med tanke på att studieresultaten ej är statistiskt signifikanta kan det inte uteslutas att preparatet innehar en viss anthelmintisk effekt, dock krävs vidare studier för att undersöka och fastställa *Equus Mundi*'s potentiella anthelmintiska effekt.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Hästar kan som alla andra djur ha ”mask i magen”. Det är naturligt för hästar att ha en liten mängd mask, men det är viktigt att de inte har för mycket eftersom de då kan bli sjuka av det. Om de blir sjuka av sina maskar, även kallade invärtes parasiter eller endoparasiter, kan de få symtom som ont i magen (kolik), viktnedgång, nedsatt aptit och liknande. De vanligaste endoparasiterna hos häst är små blodmaskar och den farligaste för hästen är den stora blodmasken.

För att få reda på om en häst har endoparasiter, mer specifikt blodmask, och hur mycket de har tar man avföringsprov som också kallas träckprov, vilket sedan analyseras på ett labb. På labbet undersöks hur många maskägg som kommer ut per gram avföring, det är ett mått som kallas egg per gram (EPG).

För att hästarna ska slippa bli sjuka rekommenderas att deras ägare skickar in träckprover till labbet varje år för analys, åtminstone en gång på våren och en gång på hösten. Om hästen då har över 200 EPG eller mer (de kan ha uppåt ett par tusen EPG) så behöver den avmaskas. Att avmaska innebär att man ger hästen ett avmaskningsmedel via munnen. Det tar sig igenom magtarmkanalen där det avdödar parasiterna som finns där så att de döda parasiterna med hjälp av tarmarnas innehåll och rörelser transporteras ut. Efter en avmaskning är hästen fri från parasiter ett tag tills den infekteras på nytt igen. Hästen infekteras då den får i sig maskägg via munnen när den äter gräs från marken. Maskäggen färdas sedan vidare till magtarmkanalen där de utvecklas till vuxna maskar som i sin tur producerar ägg. Äggen utsöndras i avföringen och som sedan kan intas från betet igen.

Dock har det varit ett problem de senaste 10 – 15 åren att endoparasiterna har utvecklat ett skydd mot avmaskningsmedlen som gör att de inte längre, eller i mindre utsträckning, dör av avmaskningen. Detta ”skydd” kallas för resistens. Det finns idag resistens mot flera av avmaskningsmedlen som används, vilket gör att det blir svårare att bli av med maskarna och tyvärr ökar resistensen fortfarande vilket kan göra att de ännu verksamma avmaskningsmedlen kan i framtiden bli överksamma. Därför är det viktigt att andra åtgärder vidtas som kan hjälpa till att motverka att hästar smittas från betet, till exempel att ägaren måste ta bort avföringen ur hästhagen.

Det finns idag aktörer som tycker att mer ”naturliga” alternativ bör användas som avmaskning än vanliga ”kemiska” läkemedel. Ett av dessa alternativ består av kommersiella örtblandningar som saluförs som alternativ till de vanliga receptbelagda avmaskningsmedlen. Ett sådant preparat är örtblandningen *Equus Mundi* som enligt tillverkaren är en ”avmaskande produkt”.

Ända sedan antiken har örter använts för behandling av invärtes parasiter, dock var dessa blandningar väldigt farliga både för parasiterna och för djuret som behandlades med örterna. Med tiden utvecklades säkrare avmaskningsmedel vilket gjorde att örtpreparaten försvann från marknaden. 25 % av dagens läkemedel härstammar från plantor och många läkemedels-substanser har likheter med kemiska molekyler som ursprungligen kommer från växtriket. Det finns mycket ”örtavmaskningar” världen över, framförallt i Asien och Afrika, men trots detta så finns det generellt dåliga bevis för att dessa produkter faktiskt fungerar som avmaskningsmedel.

För att kunna använda örter eller ett nytt läkemedel som avmaskning är det viktigt att försäkra sig om att preparatet faktiskt fungerar och att hästen blir av med sina endoparasiter. Risken om preparatet inte fungerar är att hästen kan bli väldigt sjuk och att den fortsätter sprida parasitägg

ut i miljön vilket gör att parasitsmittan sprids vidare. Det finns i dagsläget inga vetenskapliga studier som säger att örtblandningen *Equus Mundi* fungerar att använda som avmaskningsmedel till hästar. Syftet med detta examensarbete är därför att undersöka *Equus Mundi* för att se om det har avmaskande effekt mot hästens små blodmaskar och om det är lämpligt att rekommendera som avmaskningsmedel till häst.

För att ta reda på detta samlades träckprover som analyserades på labb från 17 stycken hästar för att ta reda på hur många EPG respektive häst hade. Det var 6 stycken hästar som hade >200 EPG vilket är gränsen för avmaskning, så dessa kunde vara med i studien. Hästarna behandlades med 20 gram *Equus Mundi* per häst och dag i totalt 14 dagar enligt rekommendation från tillverkaren. Örtblandningen blandades i hästarnas mat. Träckprover samlades in, innan, under och efter behandlingen med *Equus Mundi* och analyserades på labb för att följa om EPG-nivåerna sjönk vid behandlingen.

Resultatet av studien visade att antal ägg som kom ut med avföringen hade minskat en aning tre veckor efter avslutad avmaskningskur med *Equus Mundi*. Dock var den observerade minskningen inte statistiskt signifikant, vilket betyder att resultatet lika gärna kan bero på slumpen och därför bör *Equus Mundi* inte användas utan att effekten av behandling kontrolleras. För att ett avmaskningsmedel ska ha effekt krävs det att antalet EPG 1–2 veckor efter avmaskning ska ha minskat med minst cirka 90 % (lite olika procent beroende på vilket avmaskningsmedel som testas). För att mäta effekten som ”avmaskande” läkemedel beräknades hur mycket EPG hade minskat i procent med 10 dagar respektive tre veckor efter avslutad behandling. 10 dagar efter behandlingen hade antal ägg minskat med 24, 1 %. Tre veckor efter behandlingen hade antalet ägg minskat med 33,7 %. Alla hästar som var med i studien avmaskades efter försöket med ett vanligt receptbelagt avmaskningsmedel som heter ivermektin. Effekten av ivermektin var på dessa hästar 99,6 % vilket betyder att alla hästar blev upp till 99,6 % fria från mask med det vanliga läkemedlet.

Det finns vetenskapliga studier som säger att vissa av örterna som finns i preparatet har en avmaskande effekt, men dessa studier har undersökt effekten av extrakt från växterna och inte baserat på torkade örter. Det går därför inte att jämföra och anta att örtpreparatet *Equus Mundi* som är pulveriserade och hackade örter har samma effekt som enstaka noggrant extraherade örtextrakt. På sikt skulle en förebyggande behandling med örtpreparat möjligen kunna bli ett viktigt alternativ eller komplement till traditionell behandling av parasitinfektioner. Men först behöver sätt att uppnå tillräckliga nivåer i individen utarbetas utan att uppnå giftiga koncentrationer med allvarliga biverkningar.

Behandling med örtblandningen *Equus Mundi* hade en liten effekt i minskning av EPG hos ett par hästar i studien, men inte tillräcklig minskning för att kunna kalla örtblandningen avmaskande. Baserat på resultaten i studien bör inte avmaskning med örtpreparatet *Equus Mundi* rekommenderas för att behandla hästar som har mer än 200 EPG vid träckprovsanalys. Med tanke på att resultaten inte är statistiskt signifikanta kan det med säkerhet inte uteslutas att preparatet har en viss avmaskande effekt.

Förhoppningen med den nya kunskapen från denna studie är att hästägare som använder preparatet som avmaskning skall få upp ögonen och förstå att det är viktigt att de följer upp sin häst efter behandling. Framförallt då en obehandlad, eller en otillräckligt behandlad blodmaskinfektion kan orsaka stort lidande och allvarliga konsekvenser för hästen i fråga. Det är viktigt att konsumenterna informeras om den bristande avmaskande effekten av örtpreparatet *Equus Mundi* både för att bespara hästägaren pengar men framförallt för att minska spridningen

av parasitinfektion och minimera risken för lidande som en obehandlad parasitinfektion kan ge upphov till. Resultaten i studien visar på en viss minskning i äggutsöndring. Vidare studier krävs för att utvärdera den avmaskande effekten av *Equus Mundi* med förhoppning om att örtblandningar på sikt skulle kunna användas som alternativ eller komplement för att förebygga parasitinfektioner hos hästar och andra djurslag.

REFERENSER

- Abraham, M., Abraham, A., Biju, C. R. & Babu, G. (2015). Anthelmintic activity of horse radish. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(01), pp 1028–1034.
- Adhikari, B. M., Bajracharya, A. & Shrestha, A. K. (2015). Comparison of nutritional properties of Stinging nettle (*Urtica dioica*) flour with wheat and barley flours. *Food Science & Nutrition*, 4(1), pp 119–124.
- Akeem, S., Joseph, J., Kayode, R. & Kolawole, F. (2016). Comparative phytochemical analysis and use of some Nigerian spices. *Biotechnology and Nutrition*, p 7.
- Buchineni, M. & Kondaveti, S. (2016). In-vitro anthelmintic activity of fenugreek leaves (aqueous extract) in Indian earthworms. *The Pharma Innovation Journal*, 70, pp 70–72.
- Chang, C.-W., Chang, W.-L., Chang, S.-T. & Cheng, S.-S. (2008). Antibacterial activities of plant essential oils against *Legionella pneumophila*. *Water Research*, 42(1), pp 278–286.
- Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M. A. & Vercruyse, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 136(3–4), pp 167–185.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, pp 569–582.
- Dixit, V. P. & Joshi, S. (1982). Effects of chronic administration of garlic (*Allium sativum* Linn) on testicular function. *Indian Journal of Experimental Biology*, 20(7), pp 534–536.
- El Garhy, M. & Mahmoud, L. (2002). Anthelmintic efficacy of traditional herbs on *Ascaris lumbricoides*. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, pp 893–900.
- Eming, S. A., Piontek, J. O., Hunzelmann, N., Rasokat, H. & Scharffetter-Kachanek, K. (1999). Severe toxic contact dermatitis caused by garlic. *The British Journal of Dermatology*, 141(2), pp 391–392.
- Ezike, A. C. (2013). In vitro evaluation of the anthelmintic and antibacterial activities of three nigerian medicinal plants. *Journal of Pharmacy Research*, (3), p 4.
- Garba, I., Umar, A., Abdulrahman, A., Tijjani, M., Aliyu, M., Zango, U. & Muhammad, A. (2014). Phytochemical and antibacterial properties of garlic extracts. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 6(2), p 45.
- Gibson, T. E. (1980). Factors influencing the application of anthelmintics in practice. *Veterinary Parasitology*, 6(1–3), pp 241–254.
- Girme, A. S., Bhalke, R. D., Ghogare, P. B., Tambe, V. D., Jadhav, R. S. & Nirmal, S. A. (2006). Comparative in vitro anthelmintic activity of *Mentha piperita* and *Lantana camara* from Western India. *ResearchGate* [online]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/228677001_Comparative_In_vitro_Anthelmintic_Activity_of_Mentha_piperita_and_Lantana_camara_from_Western_India. [Accessed 2018-11-25].
- Hedqvist, H. (2001). Kondenserade tanniner och deras effekt på proteinmetabolismen i våmmen. *Proceedings of Ekologiskt lantbruk*, Ultuna, Uppsala, november 2001. Ultuna, Uppsala.
- Hoshino, T., Kashimoto, N. & Kasuga, S. (2001). Effects of garlic preparations on the gastrointestinal mucosa. *The Journal of Nutrition*, 131(3), pp 1109S–1113S.
- Huo, Y., Shi, H., Guo, C. & Li, X. (2012). Chemical constituents of the roots of *Inula helenium*. *Chemistry of Natural Compounds*, 4857838457286833000, pp 468–470.
- Höglund, J. (2017). *Avmaskning - FASS Djurläkemedel*. [online] (2017-11-24). Available from: <https://www.fass.se/LIF/menydokument?userType=1&menyrubrikId=2190>. [Accessed 2018-09-16].
- Izzo, A. A. & Ernst, E. (2001). Interactions between herbal medicines and prescribed drugs. *Adis International Limited*, p 13.

- Kaplan, R. M. & Vidyashankar, A. N. (2012). An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*, 186(1–2), pp 70–78.
- Khanbabaee, K. & van Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. *The Royal Society of Chemistry*, pp 641–649.
- Khomvilai, C., Kashiwagi, M. & Yoshioka, M. (2006). Fungicidal activities of horseradish extract on a fish-pathogen oomycetes, *Saprolegnia parasitica*. *ResearchGate* [online], Available from: https://www.researchgate.net/publication/37674641_Fungicidal_activities_of_horseradish_extract_on_a_fish-pathogen_oomycetes_Saprolegnia_parasitica. [Accessed 2018-11-29].
- Lavanya, B. (2011). In-vitro comparative study of anthelmintic activity of Brassica juncea and Brassica oleracea. *Journal of Pharmacy Research*, (9), p 3.
- Lee, K. W., Yamato, O., Tajima, M., Kuraoka, M., Omae, S. & Maede, Y. (2000). Hematologic changes associated with the appearance of eccentrocytes after intragastric administration of garlic extract to dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 61(11), pp 1446–1450.
- Ling, F., Jiang, C., Liu, G., Li, M. & Wang, G. (2015). Anthelmintic efficacy of cinnamaldehyde and cinnamic acid from cortex cinnamon essential oil against *Dactylogyrus intermedius*. *Cambridge University Press, Parasitology*, 142(14), pp 1744–1750.
- Lybarger, J. A., Gallagher, J. S., Pulver, D. W., Litwin, A., Brooks, S. & Bernstein, I. L. (1982). Occupational asthma induced by inhalation and ingestion of garlic. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 69(5), pp 448–454 (Thirty-ninth Annual Meeting).
- Madar, Z. & Stark, A. H. (2002). New legume sources as therapeutic agents. *British Journal of Nutrition*, 88(S3), p 287.
- Maharramov, S. & Hüseyinova, A. (2017). Investigation of anthelmintic effects of some thyme species (*Thymus kotschyanus* and *Thymus collinus*) against gastrointestinal parasites. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* [online], Available from: http://vetdergikafkas.org/uploads/pdf/pdf_KVFD_L_2130.pdf. [Accessed 2018-11-05].
- Matthews, J. B. (2014). Anthelmintic resistance in equine nematodes. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 4(3), pp 310–315.
- Nielsen, M. K., Mittel, L., Grice, A., Erskine, M., Graves, E., Vaala, W., Tully, R. C., French, D. D., Bowman, R. & Kaplan, R. M. (2013). *AAEP Parasite Control Guidelines*. American Association of Equine Practitioners.
- Nielsen, M. K. & Reinemeyer, C. R. (2018). *Handbook of Equine Parasite Control*. Second edition. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Osterman Lind, E. (2005). *Prevalence and Control of Strongyle Nematode Infections of Horses in Sweden*. Diss. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet. [online]. Available from: <https://pub.epsilon.slu.se/799/>. [Accessed 2018-09-16].
- Osterman Lind, E., Christensson, D. & Nyman, G. (2007). Förhållningssätt för kontroll av parasiter hos häst. *Svensk Veterinärtidning*, p 3.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* [online], 5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5465813/>. [Accessed 2018-11-12].
- Pearson, W., Boermans, H., J Bettger, W., McBride, B. & Lindinger, M. (2005). Association of maximum voluntary dietary intake of freeze-dried garlic with Heinz body anemia in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 66, pp 457–65.
- Prichard, R. K., Hall, C. A., Kelly, J. D., Martin, I. C. A. & Donald, A. D. (1980). The problem of anthelmintic resistance in nematodes. *Australian Veterinary Journal*, 56(5), pp 239–250.
- Ramesh, H. P., Yamaki, K. & Tsushida, T. (2002). Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) galactomannan fractions on phagocytosis in rat macrophages and on proliferation and IgM secretion in HB4C5 cells. *Carbohydrate Polymers*, 1(50), pp 79–83.

- Rao, P. V. & Gan, S. H. (2014). Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM* [online], 2014. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4003790/>. [Accessed 2018-09-27].
- Roberts, K. T. (2011). The potential of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) as a functional food and nutraceutical and its effects on glycemia and lipidemia. *Journal of Medicinal Food*, 14(12), pp 1485–1489.
- Sangal, A. (2011). Role of cinnamon as beneficial antidiabetic food adjunct: a review. *Pelagia Research Library*, pp 440–450.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), pp 3875–3883.
- Serafini, M., Ghiselli, A., Ferro-Luzzi, A. & Melville, C. A. S. (1994). Red wine, tea, and antioxidants. *The Lancet*, 344(8922), p 626 (Originally published as Volume 2, Issue 8922).
- Smith, B. P. (2014). Parasite control programs. *Large Animal Internal Medicine*. Fifth edition, p 1501.
- Soni, N. R. (2012). To study the herbalism of thyme leaves. *International Journal of Pharmacy and Industrial Research*, pp 252–258.
- Statens veterinärmedicinska anstalt (2018a). *Avmaskning av häst - SVA*. [online] (2018-03-16). Available from: <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/avmaskning-av-hast>. [Accessed 2018-09-26].
- Statens veterinärmedicinska anstalt (2018b). *Invärtes parasiter (endoparasiter) - SVA*. [online] (2018-03-15). Available from: <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/invartes-parasiter-endoparasiter-hast#smablodmaskar>. [Accessed 2018-09-26].
- Statens veterinärmedicinska anstalt (2008). *Receptbeläggning av anthelmintika - SVA*. [online] (2008). Available from: <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/receptbelaggnings-av-anthelmintika-hast>. [Accessed 2018-10-09].
- Stevens, H. (1984). Suspected wild garlic poisoning in sheep. *The Veterinary Record*, 115(14), p 363.
- Stojakowska, A., Kedzia, B. & Kisiel, W. (2005). Antimicrobial activity of 10-isobutyryloxy-8,9-epoxythymol isobutyrate. *Fitoterapia*, 76(7–8), pp 687–690.
- Tattelman, E. (2015). Health effects of garlic. *American Family Physician*, pp 103–106.
- Tavassoli, M., Jalilzadeh-Amin, G., Fard, V. R. B. & Esfandiarpour, R. (2018). The in vitro effect of *Ferula asafoetida* and *Allium sativum* extracts on *Strongylus* spp. *Annals of Parasitology*, 64(1), pp 59–63.
- 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), pp 299–303.
- Urban, J., Kokoska, L., Langrova, I. & Matejkova, J. (2008). In vitro anthelmintic effects of medicinal plants used in Czech Republic. *Pharmaceutical Biology*, 46(10–11), pp 808–813.
- Wakabayashi, K. A. L., de Melo, N. I., Aguiar, D. P., de Oliveira, P. F., Groppo, M., da Silva Filho, A. A., Rodrigues, V., Cunha, W. R., Tavares, D. C., Magalhães, L. G. & Crotti, A. E. M. (2015). Anthelmintic effects of the essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill., Apiaceae) against *Schistosoma mansoni*. *Chemistry & Biodiversity*, 12(7), pp 1105–1114.
- Waller, P., Bernes, G., Thamsborg, S., Sukura, A., Richter, S., Ingebrigtsen, K. & Höglund, J. (2001). Plants as de-worming agents of livestock in the Nordic countries: historical perspective, popular beliefs and prospects for the future. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 42(1), pp 31–44.
- Wedelsbäck Bladh, K. & Olsson, K. M. (2011). Introduction and use of horseradish (*Armoracia rusticana*) as food and medicine from antiquity to the present: emphasis on the Nordic countries. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 17(3), pp 197–213.
- Williams, A. R., Ramsay, A., Hansen, T. V. A., Ropiak, H. M., Mejer, H., Nejsum, P., Mueller-Harvey, I. & Thamsborg, S. M. (2015). Anthelmintic activity of trans-cinnamaldehyde and A- and

- B-type proanthocyanidins derived from cinnamon (*Cinnamomum verum*). *Scientific Reports* [online]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/282840037_Anthelmintic_activity_of_trans-cinnamaldehyde_and_A-_and_B-type_proanthocyanidins_derived_from_cinnamon_Cinnamomum_verum. [Accessed 2018-11-24].
- Wu, H., Zhang, G.-A., Zeng, S. & Lin, K. (2009). Extraction of allyl isothiocyanate from horseradish (*Armoracia rusticana*) and its fumigant insecticidal activity on four stored-product pests of paddy. *Pest Management Science*, 65(9), pp 1003–1008.
- Yeh, H.-F., Luo, C.-Y., Lin, C.-Y., Cheng, S.-S., Hsu, Y.-R. & Chang, S.-T. (2013). Methods for thermal stability enhancement of leaf essential oils and their main constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(26), pp 6293–6298.
- Yoshida, T., Nakata, F. & Okuda, T. (1999). Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants. VIII. Nobotanins, L, M and N, trimeric hydrolyzable tannins from *Tibouchina semidecandra*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47(6), pp 824–827.
- Yu, E. Y., Pickering, I. J., George, G. N. & Prince, R. C. (2001). In situ observation of the generation of isothiocyanates from sinigrin in horseradish and wasabi. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1527(3), pp 156–160.

BILAGA 1 – TILLVERKARENS KOMMENTARER

Här kommer input till ditt examensarbete.

Som jag påpekat förut är det inte lämpligt att beräkna en effektivitet av örter med samma metod som för kemiska preparat av den enkla anledningen att funktionen av örterna är en process över tid och inte en momentan verkan som sker på några timmar.

När man gör en undersökning på biologiska varelser behövs ett stort antal individer samt parallella prov vid varje provtagningstid. Det framgår inte av arbetet hur många parallellprov som utfördes vid varje tidpunkt för träckanalys. Speciellt viktigt sedan metoden har stora varianser. Häst nr 2 är därför inte lämplig att ta med i studien.

Hur lång var tiden mellan inklusionsanalys och start av försöket? Häst nr 3 har mångdubblat sitt värde under denna tid vilket tyder på en pågående obalans med sänkt immunförsvar. Man kan tänka sig att detta värde möjligen ökade ändå mer om inte Equus Mundi getts, ändå minskade epg värdena mest hos just denna individ som uppenbarligen har problem. Till denna individ hade vi rekommenderat en 30 dagars kur.

Att göra en total sammanslagning som gjorts i tabell 3 är inte representativt för produkten eftersom vi arbetar på individbasis som just häst nr 3 är ett bra exempel på. För häst nr 5 hade vi rekommenderat en sammanhängande kur på 21 dagar eftersom vi av erfarenhet har sett att om hästen inte svarar nedåt efter denna kurlängd finns där en bakomliggande orsak, tex pågående inflammation, infektion annan diagnos etc.

Både häst nr 1 och 4 har även de ökat i epg värde sedan inklusionsträckprov och man kan spekulera kring att värdet är påväg uppåt vilket då kan förklara att Equus Mundi i dessa fall inte haft så stor verkan.

Häst nr 6 som låg stabilt fram till start hade värden som gick ned efter kuren. Det hade även varit intressant att se ett värde ca 3 månader efter kemisk avmaskning för dessa hästar.

Hoppas att med denna förklaring att ni kan se mer tydligt hur produkten fungerar och att den jobbar långsiktigt. Hälsa är långsiktig ingen quick-fix och man behöver förstå hur det fungerar. Man ska komma ihåg att i de fall vi och kunder sett mycket mask komma ut med träcken är merparten av dessa maskar levande inte döda eller paralyserade.

Ni skriver även att produkten inte är avmaskande. Det anser jag att den är om epg värdet går ned. Det finns ingen definition på vad kriteriet är för avmaskning. Det står ingenstans att epg värdet ska gå ned till 0 på en viss tid eller liknande. Om värdet minskar och det tar två månader är ju Equus Mundi avmaskande eftersom värdet minskar, eller parasitreducerande eller parasitminskande eller vad man nu vill kalla det.

Ett exempel, kund med nyinköpt islandshäst (hösten 2018) visade vid träckanalys 5500 egg blodmask. Hästen rekommenderades en 30 dagars kur med Equus Mundi, varje vecka gjordes analys för att se hur den svarade. Den gick nedåt. 3 veckor efter avslutad kur hade hästen 325 egg.

Bästa Hälsningar A. Olofsson, Häst & HusdjursLabbet