



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Hippologenheten

K nr 111

Examensarbete på kandidatnivå

2017

VARIATION I UTSÖNDRING AV BLODMASKÄGG HOS HÄST

Michelle Lundqvist & Milly Åkerlund

Uppsala

HANDLEDARE:

Handledare Astrid Borg, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi.

Bitr. handledare Eva Osterman Lind, Statens veterinärmedicinska anstalt.

Hippologiskt examensarbete (EX0497) omfattande 15 högskolepoäng ingår som en obligatorisk del i hippologutbildningen och syftar till att under handledning ge de studerande träning i att självständigt och på ett vetenskapligt sätt lösa en uppgift. Föreliggande uppsats är således ett studentarbete på G2E nivå och dess innehåll, resultat och slutsatser bör bedömas mot denna bakgrund.

SLU
Sveriges lantbruksuniversitet

Variation i utsöndring av blodmaskägg hos häst

Michelle Lundqvist & Milly Åkerlund

*Handledare Astrid Borg, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi.
Examinator Eva Tydén, Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap.*

*Examensarbete inom hippologprogrammet, Flyinge 2017
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi
Hippologenheten
Kurskod: EX0497, Nivå G2E, 15 hp*

Nyckelord: parasitologi, träckprov, equus, strongylid, McMaster

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
Examensarbete Knr Uppsala 2017*

INNEHÅLL

| | |
|---|----|
| INNEHÅLL..... | 3 |
| ABSTRACT | 4 |
| Variation in strongyle egg shedding in horses. | 4 |
| INTRODUKTION | 4 |
| Problem | 6 |
| Syfte..... | 7 |
| Frågeställningar | 7 |
| Hypotes..... | 7 |
| MATERIAL OCH METOD..... | 7 |
| Insamling..... | 7 |
| Äggräkning..... | 8 |
| Urval..... | 8 |
| Dataanalys | 8 |
| RESULTAT | 9 |
| Delstudie 1..... | 9 |
| Delstudie 2..... | 9 |
| Delstudie 3..... | 10 |
| DISKUSSION | 11 |
| Slutsatser och hypotesprövning..... | 12 |
| POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING..... | 13 |
| FÖRFATTARENS TACK | 14 |
| REFERENSER..... | 15 |
| Litteratur..... | 15 |
| Internet..... | 17 |

ABSTRACT

Variation in strongyle egg shedding in horses.

Due to an increased occurrence of resistance towards anthelmintics among equine endoparasites today, it is recommended that selective therapy is performed to minimize the use of anthelmintics. Selective therapy means that only infected individuals will be treated. Faecal samples are collected and analysed to find out whether the horse should receive treatment or not. Today the faecal samples are randomly collected by the owner, which could lead to a variation in the result. The instructions concerning how and when the sample should be collected are very simple and could possibly be more precise. The purpose of this study is to examine if the instructions for faecal sampling could affect the result of the samples. Questions asked were: does the occurrence of parasites change over time; does the occurrence of parasites differ between morning and night and does the occurrence of parasites vary in a pile of dung? The hypotheses were: the occurrence of parasites change over time; the occurrence of parasites do not differ between morning and night and the occurrence of parasites do not vary in a pile of dung. The trial was split up into three sub studies. In sub study one we followed five horses during six weeks, samples were collected once weekly. Sub study two followed two horses, two times a day during fourteen days. Samples were collected both morning and night with a twelve-hour interval. During sub study three we collected three dung balls from each pile of dung, with a total of 30 piles. The dung balls were individually analysed. The modified version of the McMaster-method was used for all egg counting.

The results from sub study one showed a significant difference in egg shedding in 20% of cases (3 of 15 comparisons). The difference was significant only when week one was compared with other weeks. Sub study two showed a significant difference in egg shedding between morning and night during four of fourteen days (28,6%). During three of these four days, the shedding of eggs was higher in the morning than by night. Sub study three showed that there was only a small difference in egg shedding between a dungball and the whole pile of dung.

The conclusion that was made were that the instructions for collecting samples were sufficient. Concerning sub study one, we argue that the variation seen in our result is likely due to methodological errors during the first week's samples. Thereby the hypothesis "the occurrence of parasites change over time" is rejected. Both hypothesis "the occurrence of parasites does not differ between morning and night" and "the occurrence of parasites does not vary in a pile of dung" are assumed.

Keywords: parasitology, selective therapy, faecal samples, McMaster, equus, strongyle eggs

INTRODUKTION

Infektion med blodmask hos häst är ett vanligt förekommande problem. Symptom kan ses vid kraftig infektion, som till exempel avmagring, nedsatt allmäntillstånd, kolik och diarré (Döpfer et al. 2004; Lester et al. 2013; Smith et al. 2015; SVA 2016a). Mängden parasiter varierar mellan olika individer. Föl och unga hästar är känsligast för angrepp och har oftast en högre förekomst

av parasiter än vuxna individer. Därav anpassas parasitkontroll och behandling till hästens ålder (Lester & Matthews 2013; Wood et al. 2013). De mest förekommande parasiterna hos häst är blodmaskar (Geurden et al. 2014; Nielsen, Haaning & Olsen 2005; Nilsson, Lindholm & Christensson 1989).

Under flera decennier gavs avmaskningsmedel med fasta intervaller på sex till åtta veckor, året runt för kontroll av parasiter hos häst. Denna avmaskningsstrategi tillämpades på alla hästar i besättningarna vilket ledde till utveckling av resistens hos vissa parasiter mot avmaskningsmedel. Det blev tydligt att denna avmaskningsmetod behövde förändras (Gomez & Georgi 1991; Nielsen 2015; Scheuerle et al. 2016; Schneider et al. 2014; Smith et al. 2015). De första misslyckade behandlingarna rapporterades på 1960-talet, några få år efter att det första avmaskningsmedlet bensimidazol kom ut på marknaden för häst. Detta orsakade oro som ledde till utvecklande av nya avmaskningsmedel under de kommande två decennierna. I början av 1980-talet lanserades ivermektin, därefter upphörde flödet av nya avmaskningsmedel. Inga avmaskningsmedel med nya verkningsmekanismer har introducerats sedan dess (Nielsen 2015). I början av 1990-talet började parasitologer rekommendera träckprovsbaserad parasitkontroll, ”targeted selective treatment” eller riktad selektiv avmaskning. Denna parasitkontroll går ut på att endast avmaska de individer som utsöndrar över en viss mängd ägg. Selektiv behandling minskar behandlingsintensiteten eftersom majoriteten av den vuxna hästpopulationen, tack vare medfödda mekanismer eller immunitet, håller en måttlig till låg parasitnivå och behöver därmed inte behandlas. Genom att välja ett lämpligt tröskelvärde för vilken individ som behandlas kan den totala äggproduktionen i en besättning minskas (Nielsen 2015; Nielsen, Pfister, & von Samson-Himmelstjerna 2014; Schneider et al. 2014).

Oftast är rekommendationen att avmaska då hästen urskiljer mer än 200 ägg per gram träck, EPG. För att avgöra om en häst behöver avmaskas eller inte ska ett träckprov utföras. Träckprovet utförs via manuell insamling av två till tre färska träckbollar. De förpackas och försluts i plastpåse där luften pressats ut. Leverans till ett laboratorium för analys sker via post. Om provet inte skickas under samma dag som insamling sker ska det förvaras i kylskåp för att behålla det färskt (SVA 2015; Vidilab u.å.). Förutom avmaskning kan förebyggande åtgärder för att minska smittspridning exempelvis vara betesputsning, sambetning med andra djurarter och anläggning av rasthagar med grus eller sand som underlag. Viktigt är även att betet får vara hästfritt vissa säsonger eftersom blodmasklarver inte överlever mer än två år på betet (Lloyd 2009; Hästsverige 2012). Även mockning av rasthagar och beten anses vara en effektiv åtgärd (Herd 1986).

Vid träckprovsanalys används olika metoder, allt ifrån enklare kvantitativa metoder till mer avancerade kvalitativa metoder. Varje metod varierar i känslighet, tidsåtgång för att utföra testet, vilken typ av laboratorieutrustning som krävs och vilken typ av kompetens som krävs för att utföra testet (Lester & Matthews 2014). McMaster är den vanligast förekommande metoden vid analys av blodmaskägg eftersom den utförs relativt enkelt (Gordon & Whitlock 1939; Levecke et al. 2012; Lester & Matthews 2014; MAFF 1986). Det är även den metod som rekommenderades av World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology för bestämning av behandlingsintensiteten gällande avmaskningsmedel på tamboskap (Coles et al. 1992). Det finns två versioner av McMaster-metoden, den vanliga och den modifierade. I den vanliga McMaster-metoden används en centrifug för att urskilja äggen, medan flotationsprincipen används i den modifierade versionen (Lester & Matthews 2014; MAFF 1986). Vid användande av McMaster-

metoden är det viktigt att träcklösningen blandas väl och inte får stå innan räknekamrarna fylls, eftersom detta får äggen att flyta upp och samlas på ytan. Om detta händer visas ett större antal ägg per gram träck än om provet utförts korrekt. Detta fel är förmodligen relativt vanligt. Det finns en mängd modifikationer av McMaster-metoden där mängden träck, mängden vatten, centrifugering, flotationslösning, flotationstid och multiplikationsfaktor i formeln varierar (Lester & Matthews 2014). Enligt Nielsen, Haaning & Olsen (2006) finns opublicerade data som tyder på att äggräkningar som gjorts med hjälp av McMaster-metoden bör tolkas med en variation på $\pm 50\%$. På grund av en låg känslighet (Lester & Matthews 2014; Presland, Morgan & Coles 2016) rekommenderas att två till sju upprepningar utförs av varje prov (replikat) för att få ett mer tillförlitligt resultat vid användande av McMaster (Mes 2003).

I en studie utförd av Lester et al. (2013) rapporterades det att 15 procent av 928 hästar utsöndrade 80 procent av den totala mängden strongylida ägg. Slutsatsen var att en relativt liten andel av hästbesättningen ansvarar för smittspridningen. Cirka 80 procent av utsöndringen av blodmaskägg härrör från cirka 20 procent av hästarna i en besättning, detta kallas för 80:20 regeln (Kaplan & Nielsen 2010; Lester et al. 2013). Denna kunskap om smittspridning möjliggör en hållbar parasitkontroll via selektiv behandling. De infekterade hästarna identifieras vid lämplig tidpunkt på året via träckprov, därefter behandlas de med effektiva avmaskningsmedel för att minska spridning av ägg och förorening av betesmarker (Kaplan & Nielsen 2010; Lester 2013; Nielsen, Pfister, & von Samson-Himmelstjerna 2014).

Selektiv behandling började rekommenderas för över två decennier sedan, trots detta har genomförandet av denna metod varit långsam (Duncan & Love 1991; Gomez & Georgi 1991; Lester & Matthews 2014). Anledningen till detta kan vara att forskare har varit dåliga på att föra sin kunskap vidare till veterinärer och veterinärer vidare till hästägare. Det kan även bero på att hästägare föredrar att avmaska framför att utföra en träckprovsanalys vilket är arbetskrävande och kostsamt. I det senare avseendet finns en kostnadsjämförande analys av selektiv behandling som har utförts i Storbritannien. Där identifierades att användandet av avmaskningsmedel minskade med 82 procent, samt att det i genomsnitt kunde ge besparingar på €294 per år jämfört med den traditionella metoden för parasitkontroll som innebär regelbunden avmaskning flera gånger per år (Lester & Matthews 2014). I en studie utförd av Nielsen et al. (2014) utvärderades hästägares kunskap och uppfattning avseende parasitkontroll. Frågorna syftade till en beskrivning av det nuvarande användandet av träckprovstagning och behandlingsintensiteten, samt bedömning av respondenternas vilja att betala för rådgivning av veterinär och träckprovstagning. Studien visade att respondenternas tillvägagångssätt för parasitkontroll i princip var densamma på alla hästar, oavsett ålder. De ansåg att förebyggande arbete för parasitkontroll och begränsning av läkemedelsresistens var viktigast. Hela 44 procent av respondenterna var villiga att spendera mer pengar på parasitkontroll än vad de redan gjorde.

Problem

Problemet som ligger till grund för denna studie är dagens slumpmässigt insamlade träckprov som utförs av hästägaren i kombination med relativt enkla anvisningar för hur provinsamlingen ska gå till. Denna insamlingsmetod skulle kunna medföra en stor variation i provresultatet. I denna studie ville vi undersöka ett par variabler som skulle kunna påverka resultatet vid en

träckprovtagning. De variabler vi undersöker närmre är om hästens utsöndring av parasitägg förändras över tid, om förekomsten av parasitägg i träck skiljer sig mellan morgon och kväll, samt om förekomsten av parasitägg varierar inom en och samma träckhög. Denna studie skulle kunna bidra till ett underlag för att formulera mer specifika anvisningar för träckprovstagning av häst.

Syfte

Syftet var att undersöka om de provtagningsanvisningar som finns idag är tillräckliga eller om de behöver modifieras.

Frågeställningar

1. Förändras utsöndringen av parasitägg över sex veckor?
2. Skiljer sig förekomsten av parasitägg mellan morgon och kväll?
3. Varierar förekomsten av parasitägg inom samma träckhög?

Hypotes

1. Utsöndringen av parasitägg från hästar förändras över sex veckor.
2. Förekomsten av parasitägg i träck skiljer sig ej mellan morgon och kväll.
3. Förekomsten av parasitägg skiljer sig ej inom samma träckhög.

MATERIAL OCH METOD

Insamling

Försöket utföres under oktober-december månad. Insamling av träck skedde enligt tre olika metoder, en för varje delstudie. Vid samtliga insamlingar togs tre slumpvis utvalda träckbollar upp i en plastpåse som förslöts med en knut och märktes med hjälp av en spritpenna. Dessa förvarades i kylskåp i max 48 timmar. Det som skiljde sig åt mellan de olika delstudierna var antalet hästar prover samlades in från, vid vilken tidpunkt samt hur ofta prover samlades in.

Delstudie 1: Prover togs en gång i veckan från fem hästar under sex veckors tid. Insamling av prover inföll på samma veckodag och vid samma tidpunkt samtliga veckor. Tre träckbollar samlades in och blandades ihop, tre prover utfördes från varje insamling.

Delstudie 2: Prover togs dagligen morgon och kväll, med tolv timmars intervall, i fjorton dagar från två olika hästar. Från varje prov blandades tre träckbollar ihop, tre prover utfördes från varje insamling.

Delstudie 3: Prover togs på totalt 30 slumpvis utvalda träckhögar som lämnats från hästar ur delstudie ett och två. I denna metod samlades proverna inte in vid någon speciell tidpunkt. Tre träckbollar från varje hög analyserades och på varje enskild träckboll togs tre prover.

Äggräkning

Vid all äggräkning användes en modifierad McMaster-metod beskriven av Monrad et al. (1999). Den utfördes enligt följande. En bägare märktes med provnummer, bägaren ställdes sedan på en hushållsvåg och vågen tarerades. Fyra gram träck vägdes upp i bägaren med 0,1 grams noggrannhet, till detta användes en pincett. Femtiosex ml mättad saltlösning (specifik vikt 1,2) mättes upp i ett mätglas och hälldes sedan i bägaren med träcket. Träckblandningen omrördes ordentligt med hjälp av den andra pincetten. En bit gasväv (ca 20 cm) klipptes av och veks på mitten två gånger så det blev fyra lager på varandra. Gasväven lades sedan över en ren bägare och träckblandningen silades genom gasväven ned i en ren bägare. En McMaster räknekammare fylldes sedan direkt med det silade träckvattnet med hjälp av en pasturpipett. Båda kamrarna fylldes och inga luftbubblor fick förekomma innanför den gröna markeringen. Vid uppsugningen av träckvattnet rörde provet om noggrant och pipetten hölls mitt i bägaren. Innan mikroskopering skedde stod kammaren i vila under två minuter. Vid mikroskopering användes ljusmikroskop Motic B1 series med okularmikrometer. Antalet blodmaskäggs i de båda kamrarna summerades och applicerades sedan in i formeln $(n*100)/2$, där n var antalet ägg, för att få fram antalet ägg per gram träck i provet. Varje prov gjordes från början tre gånger om med anledning att försöka få ett så tillförlitligt resultat som möjligt, dessa benämns i arbetet som bedömning 1, 2 och 3.

Urval

I studien användes de av Flyinge AB:s skolhästar som inte hade blivit avmaskade på minst tre månader. Samtliga hästar var av halvblodstyp och mellan 4-13 år gamla. Urvalet skedde med hjälp av en vanlig äggräkning innan delstudierna påbörjades och endast de hästar som hade ett provresultat mellan 300–500 EPG (ägg per gram träck) deltog i delstudierna. I delstudie 1 och 2 användes inte samma hästar, men i delstudie 3 användes samma hästar som i övriga två delstudier.

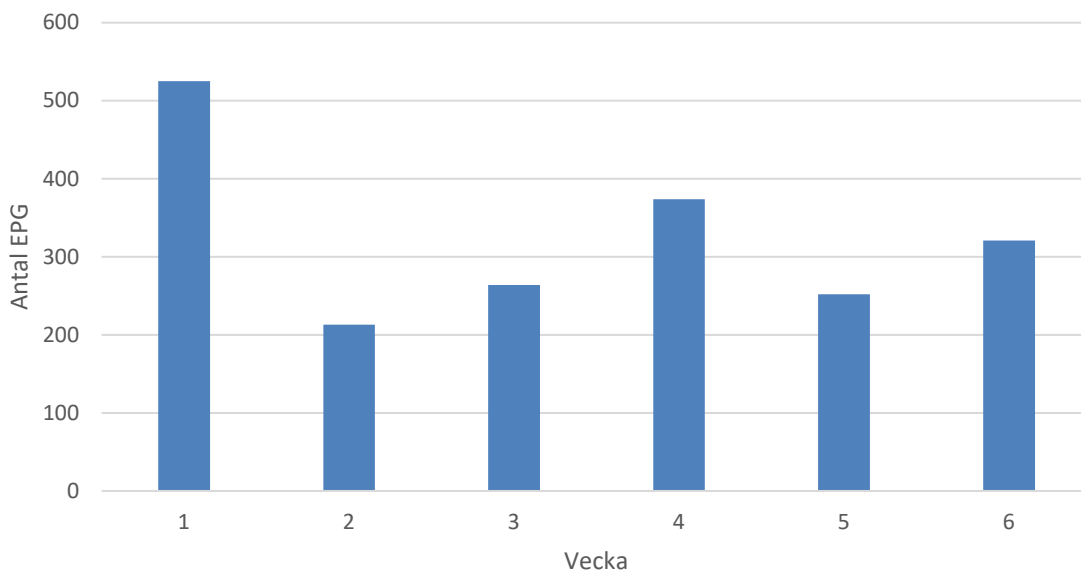
Dataanalys

Variansanalysen gjordes med PROC MIXED (SAS 9.4, Institute Inc., Cary, NC). Den statistiska modellen för delstudie 1 inkluderade de fixa effekterna dag och bedömning. För delstudie 2 inkluderade modellen de fixa effekterna dag, tid och bedömning och interaktionen mellan dem. Skillnader ansågs statistiskt signifikanta vid $P < 0,05$. För delstudie 3 räknades ett medelvärde ut för respektive träckboll samt för hela träckhögen, inklusive \pm standardavvikelse. Medelvärdet för hela träckhögen beräknades utifrån de prover som tagits på de enskilda träckbollarna. Dessa medelvärden jämfördes sedan mot varandra för att beräkna hur mycket en träckboll skiljde sig från hela högen.

RESULTAT

Delstudie 1

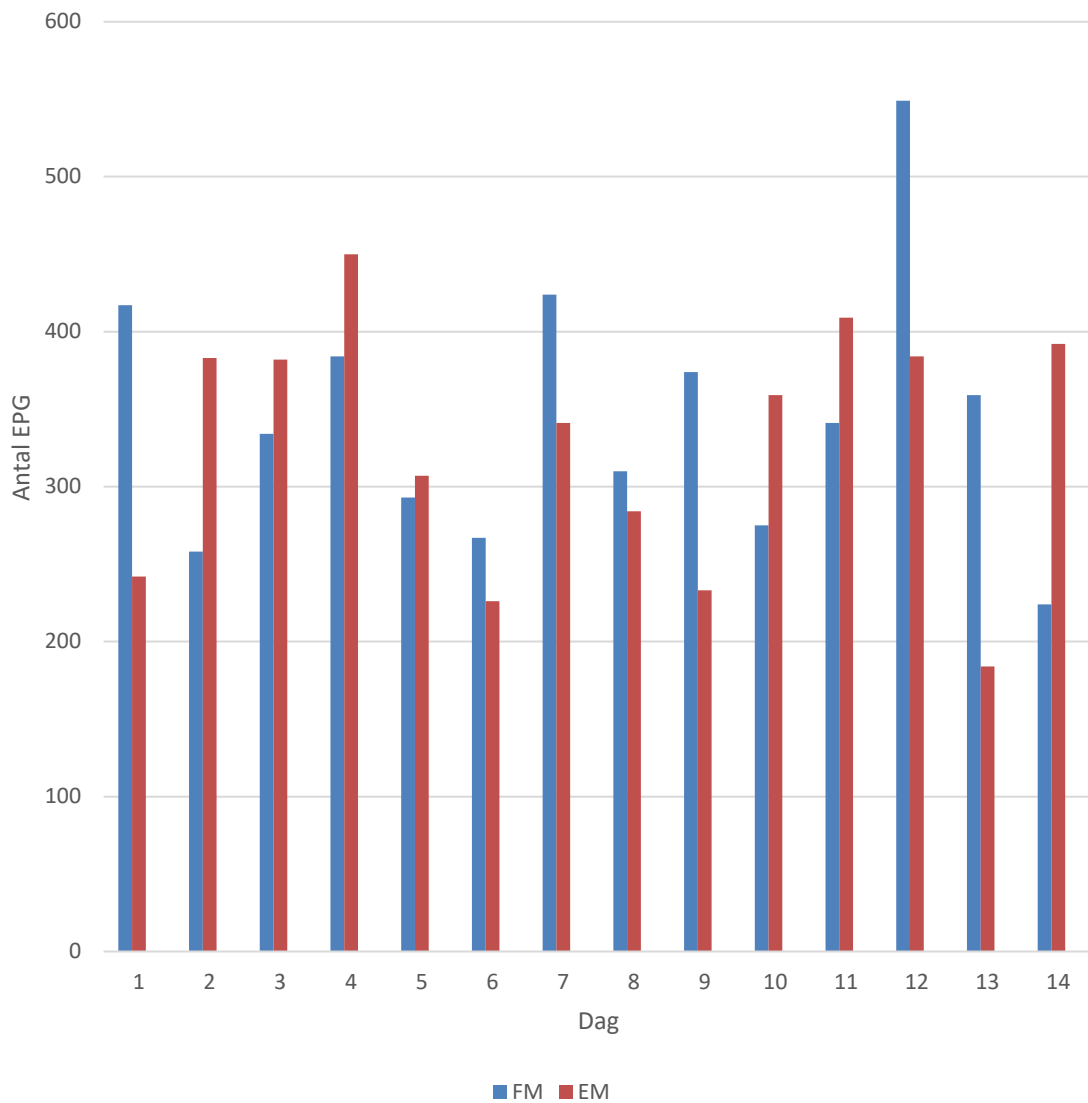
Prover togs en gång i veckan från fem hästar under sex veckors tid vilket blev totalt 30 prover. Varje prov analyserades i tripliket. Under sista veckan föll en av hästarna bort, varpå det blev totalt 29 prover istället för 30. Figur 1 visar ett gemensamt medelvärde för antalet EPG per vecka hos samtliga hästar. Alla veckorna jämfördes med varandra, av dessa jämförelser var skillnaden signifikant i tre av fallen. Detta var i jämförelse av vecka ett och två ($P=0,0009$), ett och tre ($P=0,0089$) samt ett och fem ($P=0,0115$). I jämförelse mellan övriga veckor sågs ingen signifikant skillnad. I figur 2 ses variationen i äggutsöndringen över veckorna i ett linjediagram.



Figur 1. De gemensamma medelvärdena för äggutsöndringen från samtliga hästar under de sex veckorna .

Delstudie 2

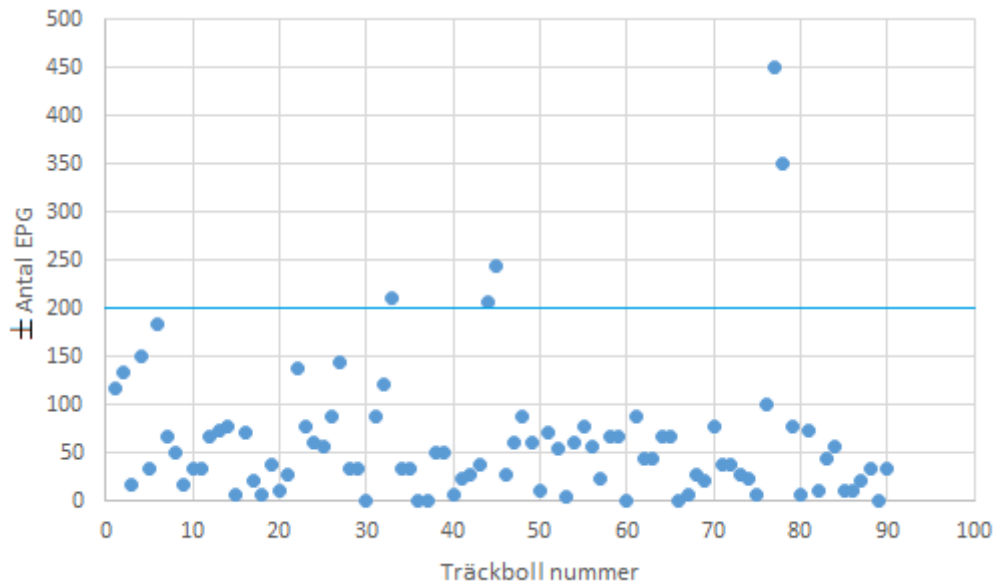
I delstudie 2 samlades totalt 56 prover in och analyserades i tripliket. Då $P < 0,05$ är det en signifikant skillnad mellan äggutsöndringen på förmiddagen (FM) och eftermiddagen (EM). Värdena var signifikant skilda mellan FM och EM under fyra av fjorton dagar (dag 1, 12, 13 och 14) vilket representerar 28,6 procent. Övriga tio dagar fanns ingen signifikant skillnad, vilket ses i figur 2. Under dag ett, tolv och tretton urskildes det signifikant mer ägg under förmiddagen jämfört med eftermiddagen, medans det under dag fjorton urskildes signifikant fler ägg under eftermiddagen jämfört med förmiddagen. Det var alltså signifikant mer ägg under förmiddagen gentemot eftermiddagen vid tre av fjorton dagar (21,4 procent) samt signifikant mer ägg under eftermiddagen gentemot förmiddagen vid en av fjorton dagar (7,1 procent).



Figur 2. Medelvärdet för de båda hästarnas äggutsöndring under förmiddagen och eftermiddagen grupperade för varje enskild dag.

Delstudie 3

I delstudie 3 samlades totalt 90 prover in och analyserades i triplikat. Det vi undersökte var hur mycket en enskild träckboll skilde sig från medelvärdet i hela högen, vilket ses i figur 3. I fem av 90 (5,5 procent) fall skiljer sig en enskild träckboll från högens medelvärde med mer än 200 EPG. I sex av 90 (6,7 procent) fall fanns ingen skillnad mellan en enskild träckboll och högen. Majoriteten av träckbollarna (86,7 procent) skilde sig 0–100 EPG från högens medelvärde.



Figur 3. Hur mycket en enskild träckboll skiljer sig i antal EPG från medelvärdet ur hela träckhögen. Trendlinjen är satt på 200 EPG för att påvisa risken för ett falskt resultat beroende på vilken boll ur högen som undersökts.

DISKUSSION

Analyserna av äggförekomst utfördes med McMaster-metoden, i detta fall en fältmetod på grund av ekonomiska och praktiska skäl. McMaster är den metod som rekommenderas och används i stor utsträckning vid träckprovstagning (Gordon & Whitlock 1939; Leveck et al. 2012; Lester & Matthews 2014; MAFF 1986). Det finns studier där olika varianter av McMaster-metoderna utvärderas och jämförs med varandra. För att kunna göra en direkt jämförelse mellan träckprovsmetoder måste samma mängd träck och multiplikationsfaktor användas (Morrison 2004). Av denna anledning kan tillförlitligheten på de jämförelser som finns mellan olika provtagningsmetoder ifrågasättas. Det finns opublicerad data som tyder på att McMaster-metoden bör tolkas med en variation på $\pm 50\%$ (Nielsen, Haaning & Olsen 2006). En liknande variation kunde även ses i vår rådatainsamling. Detta kan vara en av anledningarna till den variation som vi kunde se i resultatet.

Vid första anblick visade resultat från delstudie 1 att utsöndringen av blodmaskägg delvis varierade över tid. Första veckan urskilde hästarna i genomsnitt 525 ägg per gram träck, vilket enligt SVA:s (2016b) riktlinjer är måttlig förekomst (201–650 EPG). Detta genomsnitt sänktes sedan under resterande fem veckor. Det höga genomsnittet vecka ett spelar troligtvis en stor roll i varför det endast var signifikant skillnad i äggutsöndringen vid jämförelse av två veckor då vecka ett jämfördes med någon av de resterande veckorna. De veckor som skilde sig mest från varandra var vecka ett och vecka två. Vad denna stora skillnad från en vecka till en annan kan bero på är svår att säga. En felkälla kan vara att vi inte var helt säkra på metoden då detta var den första delstudien vi gjorde. För att minimera denna felkälla hade vi kunnat ta hjälp av en person som kan metoden som övervakar och kontrollräknar de första proverna för att säkerställa att alla steg i metoden utförts korrekt. För att kunna dra en slutsats om huruvida äggutsöndringen varierar över

tid eller inte hade studien behövt vara betydligt större, fem hästar som följs en gång i veckan under sex veckor säger inte särskilt mycket om hela populationen. Det vore intressant att följa ett större antal hästar på liknande sätt under ett helt år i syfte att undersöka variationen i äggutsöndring beroende på årstid eftersom det främst rekommenderas att ta träckprov under våren inför betessläpp (SVA 2016b).

I delstudie 2 visade resultaten att det fanns en signifikant skillnad mellan de prover som togs på förmiddagen och de som togs på eftermiddagen under fyra av totalt 14 försöksdagar. Denna data är väldigt intressant men för att kunna säga att äggutsöndringen varierar mellan morgon och kväll hade studien behövt vara mer omfattande och resultaten starkare. Antalet dagar skulle kunna vara tillräckligt för att kunna se ett mönster, men antalet hästar hade behövt vara större än två för att kunna säga något om hela populationen. Särskilt intressant hade varit att studera en större grupp hästar med mer variation gällande ålder, ras och miljö. Utifrån våra resultat kan det dock ses en antydning till att fler ägg utsöndras under förmiddagen än eftermiddagen. Denna antydning skulle kunna innebära att prover som samlas in under förmiddagen ger ett mer tillförlitligt resultat, men även att detta förhöjda resultat skulle innebära en överskattning av mängden parasiter. Carstensen et al. (2013) utförde en studie där prover togs fyra gånger dagligen från fem hästar i fem dagar för att undersöka om äggutsöndringen varierade över dagen. Deras resultat visade att det inte fanns någon signifikant skillnad angående den dagliga äggutsöndringen och därför spelar det ingen roll vilken tid på dygnet proverna samlas in (Carstensen et al. 2013).

I delstudie 3 visade resultaten att antalet EPG skiljde sig något mellan träckhögens medelvärde och en enskild träckboll, men utan risk för ett osäkert resultat som skulle kunna leda till en onödig avmaskning. En stor skillnad kunde ses i fem av 90 fall, där skiljde sig de enskilda träckbollarna med mer än 200 EGP mot medelvärdet i en träckhög. Detta är inte tillräckligt för att påvisa att träckbollarnas resultat varierar inom en hög, men det ger en antydning att det skulle kunna ha en betydelse i enskilda fall. För att komma fram till ett säkrare resultat hade fler träckhögar behövt undersökas, och gärna fler träckbollar ur samma hög. Resultat från denna delstudie påvisade att de rekommendationer som utges vid insamling av träckprov är tillräckliga. Om liknande studier ska genomföras bör provtagarna ha bestämt vilka träckbollar som ska väljas ut ur träckhögen för att göra studien mer standardiserad. Detta är även en felkälla i vår studie då vi endast bestämde att tre träckbollar skulle samlas, men inte vart i högen dessa prover skulle tas. Ytterligare en felkälla kan vara att vattenmängden i träcken varierat, varpå koncentrationen av blodmaskäggs också kan ha varierat.

Avseende vidare studier hade det varit intressant att följa ett större antal hästar under en längre tidsperiod samt använda sig av tydligare riktlinjer vid insamling av prover, exempelvis var i träckhögen provet ska tas. Det hade även varit intressant att använda sig av två olika äggräkningsmetoder som är möjliga att jämföras med varandra.

Slutsatser och hypotesprövning

Den generella slutsatsen från vår studie är att de anvisningar som finns idag gällande träckprovstagning är tillräckliga då vi inte kunnat bevisa att någon av de faktorer vi undersökt spelat in i träckprovresultatet. Det är dock intressant att fortsatt undersöka olika variabler som

skulle kunna påverka resultatet vid träckprovstagning, för att säkerställa att enbart de hästar som behöver avmaskas blir behandlade.

Våra hypoteser var:

1. Utsöndringen av parasitägg från hästar förändras över sex veckor.
2. Förekomsten av parasitägg i träck skiljer sig ej mellan morgon och kväll.
3. Förekomsten av parasitägg skiljer sig ej inom samma träckhög.

Hypotesprövning:

1. Hypotesen förkastas då vi ej kunnat bevisa att det sker en tydlig förändring i äggutsöndringen över sex veckor.
2. Hypotesen antas då resultaten ej visar en tydlig variation mellan de prover som samlats in på förmiddagen respektive eftermiddagen.
3. Hypotesen antas då variationen inom en träckhög var ytterst liten.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Idag bär majoriteten av alla svenska hästar på inälvsparasiter där mängden varierar mellan individer, föl och unghästar har oftast en högre förekomst av parasiter än vuxna hästar. Blodmask är en typ av inälvsparasit och är de mest förekommande parasiterna hos häst. En häst som är kraftigt infekterad kan visa flera olika symptom, bland annat kolik, avmagring, nedsatt allmäntillstånd och diarré. Under flera årtionden har man enligt tradition bekämpat maskangrepp med avmaskningsmedel, behandlingen har skett med fasta intervaller, året runt. Då denna behandlingsmetod har applicerats på hela hästbesättningen har resistens mot avmaskningsmedel uppkommit. Den första misslyckade behandlingen rapporterades på 1960-talet bara några få år efter att det första avmaskningsmedlet lanserades. Under tidigt 1990-tal började selektiv behandling att rekommenderas. Selektiv behandling innebär att ett träckprov med äggräkning utförs och om hästen överskrider en viss gräns kommer den att behandlas med ett anpassat avmaskningsmedel. Användandet av selektiv behandling har gått långsamt framåt, det finns olika antaganden om anledningar till detta. Ett är bristande kommunikation och kunskapsspridning mellan forskare och veterinärer, samt mellan veterinärer och hästägare. Vid äggräkning finns det olika metoder att tillgå, en av dem är McMaster som är en relativt enkel metod att utföra. McMaster är även den metod som rekommenderas av World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology för bestämning av behandlingsintensiteten gällande avmaskningsmedel på tamboskap.

Problemet som ligger till grund för denna studie är dagens slumpmässigt insamlade träckprov som utförs av hästägaren i kombination med relativt enkla anvisningar för hur provinsamlingen ska gå till. Denna insamlingsmetod skulle kunna medföra en stor variation i provresultatet. För att minska denna variation skulle de anvisningar som finns idag kunna bli mer specifika. Vi ville genom denna studie ta reda på om förekomsten av parasiter förändras över tid, om förekomsten av parasiter skiljer sig mellan morgon och kväll, samt om förekomsten av parasiter varierar inom samma träckhög.

Till studien användes skollhästar från Flyinge AB, dessa ingick i tre olika delstudier. I den första delstudien samlades prover in en gång i veckan under sex veckors tid, där användes fem hästar. Den andra delstudien sträckte sig över 14 dagar, där samlades prover morgon och kväll från två olika hästar. I den tredje delstudien utfördes prover på 30 slumpvis utvalda träckhögar från hästar som deltagit i de tidigare studierna.

Resultatet i delstudie 1 visade en märkbar variation mellan vecka ett och två, ett och tre, samt ett och fem. Det sågs ingen märkbar variation i jämförelse mellan övriga veckor. I delstudie 2 såg vi märkbar skillnad mellan förmiddag och eftermiddag på dag ett, tolv, tretton och fjorton. Övriga tio dagar kunde ingen märkbar skillnad ses mellan de prover som togs på förmiddag och eftermiddag. Resultatet i delstudie 3 visade att antalet EPG skiljde sig mellan träckhögens medelvärde och varje enskild träckboll, men utan risk för ett osäkert resultat som skulle kunna leda till en onödig avmaskning.

I diskussionen analyserades tillförlitligheten och precisionen på den metod som användes. Slutsatsen blev att McMaster är en vedertagen metod trots den lägre noggrannhet och precision som påvisats. Vad gäller utvärdering och jämförelse mellan olika äggräkningsmetoder så krävs mer omfattande studier för mer insikt. I diskussionen analyserades även de resultat som studien gett, vad som kan ha påverkat den märkbara variation som sågs, tänkbara felkällor och ett lämpligt tillvägagångssätt för att minimera felkällor. Slutsatsen blev att den variation som sågs i delstudie 1 mellan vecka ett och två är svår att tolka, en tänkbar anledning kan vara ett metodfel under vecka ett då detta var de första proverna som utfördes. Ett lämpligt tillvägagångssätt för att minimera risken för felkällor är att ha en person som är erfaren av äggräkningsmetoden till att i början av studien kontrollräkna proverna och övervaka utförandet. Angående de prover som utfördes i delstudie 2 diskuterades det angående att fler ägg urskildes på förmiddagen jämfört med eftermiddagen under tre av fjorton dagar. Detta resultat skulle kunna innebära att prover som samlas in på förmiddagen är mer tillförlitliga, men att de även skulle kunna innebära en överskattning av mängden parasiter. I diskussionen angående delstudie 3 diskuterades det kring resultatet att det skiljde sig mellan träckhögens medelvärde och varje enskild träckboll, men utan risk för ett osäkert resultat. Det diskuterades kring de fem av 90 fall som påvisade en skillnad och hur den påvisade att det kan ha en betydelse i enskilda fall. Tänkbara felkällor och tankar för vidare studier analyseras. Slutsatsen från delstudie 3 blev att resultatet från en enskild träckboll inte påverkar träckhögens resultat, detta innebär att de anvisningar för insamling av träckprov som finns idag är tillräckliga. För vidare studier finns intresset att följa ett större antal hästar under en längre tidsperiod samt använda sig av tydligare riktlinjer vid insamling av prover, exempelvis var i träckhögen som provet ska tas. Det hade även varit intressant att använda sig av två olika äggräkningsmetoder som är möjliga att jämföras jämt mot varandra. Den generella slutsatsen från studien blev att de anvisningar som finns idag för provtagning var tillräckliga.

FÖRFATTARENS TACK

Vi vill börja med att tacka vår handledare Astrid Borg för hjälp och vägledning genom arbetets gång och biträdande handledare Eva Osterman Lind, SVA, för hjälp med bland annat försöksupplägget. Vi vill även tacka Malin Connysson som hjälpt oss med att analysera rådata för

att få fram ett tolkningsbart resultat. Slutligen vill vi tacka Flyinge AB för användandet av skolhästar, lokal och material till vår studie.

REFERENSER

Litteratur

Becher, A.M., Mahling, M., Nielsen, M.K. & Pfister, K. (2010). Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): An investigation into strongyle egg shedding consistency. *Veterinary Parasitology*, vol. 171, ss. 116-122.

Carstensen, H., Larsen, L., Ritz, C. & Nielsen, M.K. (2013). Daily variability of strongyle fecal egg counts in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, vol. 33, ss. 161-164.

Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A. & Waller, P.J. (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*, vol. 44, ss. 35-44.

Corning, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites and vectors*, vol. 2, suppl. 2. DOI: 10.1186/1756-3305-2-S2-S1.

Duncan, J.L. & Love, S. (1991). Preliminary observations on an alternative strategy for the control of horse strongyles. *Equine Veterinary Journal*, vol. 23, ss. 198-200.

Döpfer, D., Kerssens, C.M., Meijer, Y.G.M., Boersema, J.H. & Eysker, M. (2004). Shedding consistency of strongyle-type eggs in dutch boarding horses. *Veterinary Parasitology*, vol. 124, ss. 249-258.

Geurden, T., van Doorn, D., Claerebout, E., Kooyman, F., De Keersmaecker, S., Vercruyse, J., Besognet, B., Vanimisetti, B., Frangipane di Regalbono, A., Beraldo, P., Di Cesare, A. & 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*, vol. 204, ss. 291-296.

Gordon, H.M. & Whitlock, H.V. (1939). A new technique for counting nematode eggs on sheep faeces. *Journal of Scientific and Industrial Research*, vol. 12, ss. 50-52.

Hamlen Gomez, H. & Georgi, J.A. (1991). Equine helminth infections: control by selective chemotherapy. *Equine Veterinary Journal*, vol. 23, ss. 198-200.

Herd, R.P. (1986). Epidemiology and control of equine strongylosis at Newmarket. *Equine Veterinary Journal*, vol. 18, ss. 447-452.

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

- 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. *The Veterinary Journal*, vol. 188, ss. 44-47.
- Lester, H.E. & Matthews, J.B. (2014). Faecal worm egg count analysis for targeting anthelmintic treatment in horses: Points to consider. *Equine Veterinary Journal*, vol. 46, ss. 139-145. DOI: 10.1111/evj.12199.
- Lester, H.E., Spanton, J., Stratford, C.H., Bartley, D.J., Morgan, E.R., Hodgkinson, J.E., Coumbe, K., Mair, T., Swan, B., Lemon, G., Cookson, R. & Matthews, J.B. (2013). Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. *Veterinary Parasitology*, vol. 197, ss. 189-196.
- Levecke, B., Rinaldi, L., Charlier, J., Maurelli, M.P., Bosco, A., Vercruyse, J. & Cringoli, G. (2012). The bias, accuracy and precision of faecal egg count reduction test results in cattle using McMaster, Cornell-Wisconsin and FLOTAC egg counting methods. *Veterinary Parasitology*, vol. 188, ss. 194-199. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.03.017.
- Lloyd, S. (2009). Effects of previous control programmes on the proportion of horses shedding small numbers of strongyle-type eggs. *The Veterinary Record*.
- MAFF. (1986). *Manual of Veterinary parasitological laboratory techniques. Reference Book 418*. 3 uppl. London: Her Majesty's Stationary Office.
- Mes, T.H.M. (2003) Technical variability and required sample size of helminth egg isolation procedures. *Veterinary Parasitology*, vol. 115, ss. 311-320.
- Monrad, J., Bjørn, H., Craven, J., Pearman, M. & Eierstedt, L. (1999). Parasitologisk diagnostik i stordyrpraksis. *Dansk Veterinærtidsskrift*, vol. 82, ss. 113-117.
- Morrison, D.A. (2004). Technical variability and required sample size of helminth egg isolation procedures: revisited. *Parasitology Resistance*, vol. 94, ss. 361-366.
- Neuhaus, S., Bruendler, P., Frey, C.F., Gottstein, B., Doherr, M.G., & Gerber, V. (2010). Increased Parasite Resistance and Recurrent Airway Obstruction in Horses of a High-Prevalence Family. *J Vet Intern Med*, vol 24, ss. 407-413.
- Nielsen, M.K. (2015). Universal challenges for parasite control: a perspective from equine parasitology. *Trends in parasitology*, vol. 31, ss. 282-284. DOI: 10.1016/j.pt.2015.04.013.
- Nielsen, M.K., Haaning, N. & Olsen, S.N. (2006). Strongyle egg shedding in horses on farms using selective therapy in Denmark. *Veterinary Parasitology*, vol. 135, ss. 333-335. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.09.010.
- Nielsen, M.K., Pfister, K. & von Samson-Himmelstjerna, G. (2014). Selective therapy in equine parasite control—Application and limitations. *Veterinary Parasitology*, vol. 202, ss. 95-103.

- Nielsen, M.K., Reistb, M., Kaplanc, R.M., Pfisterd, K., van Doorne, D.C.K. & Becherd, A. (2014). Equine parasite control under prescription-only conditions in Denmark – Awareness, knowledge, perception, and strategies applied. *Veterinary Parasitology*, vol. 204, No. 7, ss. 64-72. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.10.016.
- Nilsson, O., Lindholm, A. & Christensson, D. (1989). A Field Evaluation of Anthelmintics in Horses in Sweden. *Veterinary Parasitology*, vol. 32, ss. 163-171.
- Presland, S.L., Morgan, E.R. & Coles, G.C. (2005). Counting nematode eggs in equine faecal samples. *The Veterinary Record*, vol. 156, ss. 208-210. DOI: 10.1136/vr.156.7.208.
- Scheuerle, M.C., Stear, M.J., Honeder, A., Becher, A.M., & Pfister, K. (2016). Repeatability of strongyle egg counts in naturally infected horses. *Veterinary parasitology*, vol. 228, ss. 103-107.
- Schneider, S., Pfister, K., Becher, A.M., & Scheuerle, M.C. (2014). Strongyle infections and parasitic control strategies in German horses - a risk assessment. *BMC Veterinary Research*, vol. 10:262. DOI: 10.1186/s12917-014-0262-z.
- Smith, M.A., Nolan, T.J., Rieger, R., Aceto, H., Levine, D.G., Nolen-Walston, R. & Smith, B.I. (2015). Efficacy of major anthelmintics for reduction of fecal shedding of strongyle-type eggs in horses in the Mid-Atlantic region of the United States. *Veterinary Parasitology*, vol. 214, ss. 139-142.
- Wood, E.L.D., Matthews, J.B., Stephenson, S., Slotte, M. & Nussey, H. (2013). Variation in fecal egg counts in horses managed for conservation purposes: individual egg shedding consistency, age effects and seasonal variation. *Parasitology*, vol. 140, ss. 115-128. DOI: 10.1017/S003118201200128X.

Internet

- HästSverige (2012). *Vad göra när avmaskningen inte fungerar?* Tillgänglig: <http://hastsverige.se/sida401.html> [2017-03-02]
- Hästsverige (2014). *Risk för resistentaspolmaskar.* Tillgänglig: <http://hastsverige.se/Risk-forresistentaspolmaskar.html> [2017-03-02]
- SVA (2016a). *Invärtes parasiter (endoparasiter) hos häst.* Tillgänglig: <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/invartes-parasiter-endoparasiter-hast> [2017-01-26]
- SVA (2016b) *Träckprov från häst.* Tillgänglig: <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/trackprov-hast> [2017-03-07]
- SVA (2015). *Provtagningsinstruktion - Träckprov häst.* Tillgänglig: <http://www.sva.se/analyser-och-produkter/provtagningsinstruktioner/trackprov-hast> [2017-01-25]

Vidilab (u.å.). *Hur ska jag provta?* Tillgänglig: <http://www.vidilab.se/fakta/hast/hur-ska-jag-provta/> [2017-05-02]

DISTRIBUTION:

Sveriges Lantbruksuniversitet

Hippologenheten

Box 7046 750 07 UPPSALA

Tel: 018-67 21 43

Swedish University of Agricultural Sciences

Department of Equine Studies

Box 7046 750 07 UPPSALA

Tel: +46-18 67 21 43
