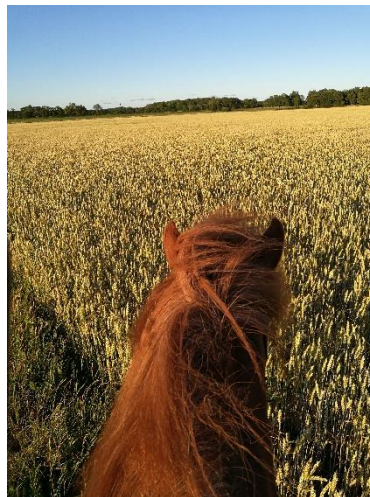


Frilevande larver av *Strongylus vulgaris*

En experimentell studie

Free living larvae of *Strongylus vulgaris*

An experimental study



Julia Ling

Uppsala

2020

Frilevande larver av *Strongylus vulgaris*

En experimentell studie

Free living larvae of *Strongylus vulgaris*

An experimental study

Julia Ling

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

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

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0869

Kursansvarig institution: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2020

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

Omslagsillustration: Fotografi taget av Julia Ling

Nyckelord: Häst, bete, blodmask, *strongylus vulgaris*

Key words: Horse, pasture, strongyles, *strongylus vulgaris*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

SAMMANFATTNING

Den stora blodmasken, *Strongylus vulgaris*, drabbar hästar på betet. Parasiten har en fekal-oral livscykel som tar ca sex månader att fullborda. Infekterade individer sprider ägg från *S. vulgaris* via träcken, varpå äggen kläcks och larver utvecklas i träckhögen på betet. Då *S. vulgaris* utvecklats till det infektiösa larvstadiet, L3-stadiet, kan parasiten smitta nya individer. Den fortsatta parasitära utvecklingen sker sedan i hästens digestionskanal samt intilliggande kärl. De skador som *S. vulgaris* larver orsakar innan de utvecklats till adulta maskar i hästens grovtarm kan skapa en rad olika hälsoproblem. Den kliniska betydelsen av skadorna beror på dess omfattning och lokalisation, vilket ger upphov till en bred symptombild med allt från symptomlöshet till kolik och peritonit.

S. vulgaris har ökat kraftigt bland svenska hästbesättningar de senaste åren, något som tycks bero på utebliven diagnostik och således utebliven behandling av infekterade individer. I dagsläget finns inga tillgängliga studier som visat hur frilevande larver av *S. vulgaris* betar sig på betet. Studier av små blodmaskar, cyathostominae, samt blandade populationer av blodmaskar har studerats. Det har då antagits att de båda arterna av blodmaskar uppträder på liknande vis gällande överlevnad samt övervintring på betet. Infektiösa larvstadier av cyathostominae kontaminerar beten genom att migrera från träckhögen ut i den omgivande vegetationen, vilket kan påvisas genom att provta gräs från kontaminerade beten. I vilken omfattning *S. vulgaris* migrerar från träckhögen och hur snabbt smittrycket byggs upp är ännu inte klarlagt.

Syftet med den här deskriptiva studien är att få mer kunskap om hur *S. vulgaris* larver smittar ett bete, samt hur länge smittan finns kvar på betet. Studien har delats upp i tre delstudier. I delstudie 1 undersöktes hur länge larver av *S. vulgaris* överlever på betet, samt om det är möjligt att detektera betessmitta genom gräsprover. I delstudie 2 studerades smittrycket från *S. vulgaris* larver och hur långt de migrerar från träckhögar som deponerats på en gräsyta under våren. I delstudie 3 undersöktes kläckning av ägg från *S. vulgaris*, samt larvers smittryck och migration till den omgivande vegetationen från träckhögar som deponerats på en gräsyta under hösten. För att besvara frågeställningar i de olika delstudierna togs gräsprov, träckprov och även jordprov (endast i delstudie 1 och 2) vid upprepade tillfällen under sommaren och hösten år 2019. Samtliga prover analyserades sedan för detektion och kvantifiering av L3-larver av *S. vulgaris*.

Resultatet visar att den största smittreservoaren på betet är träckhögar. Studien visar också att det tar fyra veckor för L3-larver att utvecklas på betet då träckhögar deponeras på en gräsyta på hösten. *S. vulgaris* kan återfinnas i gräsprov från smittade beten, men parasiten tycks migrera i mycket låg omfattning till den omgivande vegetationen. Att använda gräsprov för att detektera förekomst av *S. vulgaris* på ett bete är därför ingen bra diagnostisk metod. Då träckhögar fungerar som en reservoar för smitta kan mockning av hagar utgöra ett bra komplement till läkemedel för att reducera smittan från betet. Längre studier med mer frekventa provtagningar är nödvändigt för att fastställa hur *S. vulgaris* överlever, övervintrar samt migrerar i beteshagen.

SUMMARY

The large strongyle, *Strongylus vulgaris*, is a common endoparasite in grazing horses. The parasite has a fecal-oral life cycle, which takes six months to complete. Infected horses spread eggs from *S. vulgaris* to the pasture with feces. The eggs hatch and develop into larvae the third stage larvae (L3) on pasture and are ingested by grazing horses. The larvae then continue to develop through somatic migration in the horse's intestines and arteries of the intestine, where they cause lesions in blood vessels, which can be associated with thrombosis, and ischemic lesions of the intestine. The clinical significance of the parasite-induced lesions depend on their magnitude and location. Infected horses can therefore show a broad spectrum of clinical signs including no symptoms to colic and peritonitis.

The prevalence of *S. vulgaris* has increased during the last centuries in Sweden, probably due to the fact that *S. vulgaris* diagnostics is not always included in the parasite monitoring programme and therefore a risk that low egg shedding horses are left untreated. There are no available studies today explaining the behaviour of free living larvae of *S. vulgaris* on pasture. In studies of small strongyles, cyathostominae, it has been assumed that small strongyles and *S. vulgaris* behave in a similar way in terms of survival, migration pattern and overwintering on pasture. Infectious larval stages of cyathostominae contaminate pasture by migrating from fecal patches to the surrounding vegetation. This can be observed by sampling grass from contaminated areas. The extent of how *S. vulgaris* migrates from the fecal patch and how the infection increases on pasture has not yet been determined.

The aim of this descriptive study is to gain more knowledge about how free-living larvae of *S. vulgaris* infect a pasture and how long the infection remains on contaminated areas. The study has been divided into three minor studies. In study 1, we investigated how long free living stages of *S. vulgaris* survives on pasture and whether it is possible to detect infection on pasture with grass samples. In the second study, the infection pressure from larvae of *S. vulgaris* was studied and how and when the larvae migrate from the fecal patch deposited on pasture during the spring. In the third study the hatching of eggs from *S. vulgaris* was studied, as well as larval infection pressure and migration to surrounding vegetation from fecal patch deposited on pasture during the autumn. To answer the questions, samples from grass, feces and soil were collected repeatedly during the summer and autumn of 2019. All samples were analysed for detection and quantification of third stage larvae of *S. vulgaris*.

The results of this study show that the greatest reservoir on pasture are the fecal patches. The study also shows that *S. vulgaris* larvae migrate from the fecal patch to the surrounding vegetation to a low extent. Manual removal of feces from pasture is therefore a good alternative to anthelmintic drugs to reduce pasture contamination. Grass samples on pasture needs to be complimented with samples from the fecal patches to detect the presence of *S. vulgaris* in pasture. These preliminary data need to be further evaluated with longer studies and more frequent sampling to determine how *S. vulgaris* survives, overwinters and migrate on pasture.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
Stora blodmasken, <i>Strongylus vulgaris</i>	2
Livscykel	2
Patofysiologi och symptom	2
Prevalens	3
Diagnostik	3
Svenska avmaskningsrutiner	4
<i>S. vulgaris</i> på betet	4
Beteshygien	6
MATERIAL OCH METODER	7
Genomförande	7
Delstudie 1 – L3-larvers överlevnad på bete	7
Delstudie 2 – L3-larvers migrering från träckhögen	7
Delstudie 3 – L3-larvers migrationshastighet	8
Gräsprover	9
Träckprover	10
Jordprover	11
RESULTAT	12
Delstudie 1	12
Delstudie 2	12
Delstudie 3	13
DISKUSSION	15
Delstudie 1	15
Delstudie 2	15
Delstudie 3	16
Felkällor	17
Framtida studier	17
KONKLUSION	18
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	19
LITTERATURFÖRTECKNING	21

INLEDNING

Gastrointestinala parasiter är vanligt hos betande hästar. *Strongylus vulgaris*, en av hästens stora blodmaskar, anses vara den inälvsparasit som orsakar mest hälsobesvär hos häst (Nielsen, 2012). Som en del i *S. vulgaris* livscykel penetrerar dess larvstadier arterioler i hästens tarmvägg och migrerar till den kraniala krösroten. Larvernas migration orsakar endotelskador, vilket kan ge upphov till så kallad verminös arterit (Reinemeyer & Nielsen, 2009). Tillståndet grundar sig i lokal inflammation samt tromb-bildning i drabbade kärl, vilket kan orsaka infarkter och lokala ischemiska tarmskador (Nielsen *et al.*, 2012).

Prevalensen av *S. vulgaris* har ökat i Sverige under de senaste åren. Vid senaste prevalensstudien år 2016-2017 hade 61 % av svenska hästbesättningar smittade individer (Tydén *et al.*, 2019). Den ökade förekomsten av *S. vulgaris* tycks bero på utebliven diagnostik för att korrekt kunna detektera smittan, vilket således leder till att infekterade individer inte behandlas med anthelmintika enligt den selektiva avmaskningsstrategi som idag tillämpas i Sverige (SVA, 2018b; Tyden *et al.*, 2019).

För att kontrollera parasitbördan i hästbesättningar krävs korrekt användning av anthelmintika, samt en reducering av ägg och larvstadier från betet (Osterman Lind, 2005; ESCCAP, 2019). Att mocka marker där hästar vistas är effektivt för att minska betessmittan (ESCAAP 2019). SVA rekommenderar även växelbete, plöjning, harvning och putsning av marker för att hålla nere smittrycket (SVA, 2018c).

Det finns idag inga tillgängliga studier som visar hur frilevande larver av *S. vulgaris* betar sig på betet. I studier då både stora och små blodmaskar studerats utan att differentieras har parasiterna setts överleva i över ett år på betet (Lindberg 1976; Kuzmina *et al.*, 2006; Nielsen *et al.*, 2007). Larvstadier av *Cyathostominae* (små blodmaskar) övervintrar till stor del i träckhögen, samt i jorden under träckhögarna. Larvstadier av små blodmaskar har också visat sig migrera från träckhögen ut i omgivande vegetation, främst vid fuktig väderlek (Kuzmina *et al.*, 2006).

Syftet med projektet är att få mer kunskap om hur *S. vulgaris* larver smittar ett bete och hur länge smittan finns kvar på betet. I projektet ingår tre delstudier. I delstudie 1 undersöks hur länge larver av *S. vulgaris* överlever på betet, samt om det är möjligt att detektera förekomst av parasiten genom gräsprover. I delstudie 2 undersöks smittryck från *S. vulgaris* larver samt hur långt larvstadier migrerar från träckhögar som deponeras i juni. I delstudie 3 studeras kläckning av ägg från *S. vulgaris*, samt larvers smittryck och migration till omgivande vegetation då träckhögar deponeras i oktober.

LITTERATURÖVERSIKT

Stora blodmasken, *Strongylus vulgaris*

Inälvsparasiter är vanligt förekommande hos betande hästar. *Strongylus vulgaris* tillhör de gastrointestinala parasiter som utgör störst hot mot hästens hälsa (Nielsen, 2012). *S. vulgaris*, en av hästens stora blodmaskar, tillhör gruppen nematoder (rundmaskar) och familjen *Strongylidae* (blodmaskar, strongylider). Till *Strongylidae* hör subfamiljerna *Cyathostominae* och *Strongylinae*, vilka i vardagligt tal kategoriseras som små respektive stora blodmaskar. (Osterman Lind, 2005).



Bild 1. En L3-larv av *Strongylus vulgaris* omringad av cyathostominae. Foto: Julia Ling

Livscykel

Strongylus vulgaris har en direkt livscykel, vilket innebär att parasiten inte infekterar någon mellanvärd. Parasitinfektionen är en betesburen smitta och smittade hästar sprider ägg på betet via träcken. Äggen kläcks i träckhögen på betet och genomgår utvecklingsstadierna L1 och L2 innan de utvecklas till det infektiösa larvstadiet L3. Larver av larvstadiet L3 äts upp av hästen och väl i hästens tarm utvecklas de till larvstadiet L4 (SVA, 2018b). L4-larver penetrerar arterioler i tarmväggen och migrerar till den kraniala krösroten, *Arteria mesenterica cranialis*. Vandrigen tar ungefär tre veckor. I kraniala krösroten befinner sig larverna i tre till fyra månader och under den tiden utvecklas de till L5-larver, som sedan tar sig tillbaka till grovtarmen via blodet. I grovtarmen bildar larverna 5-8 mm stora noduli i submukosan, där de utvecklas till vuxna maskar. Noduli rupturerar sedan och *S. vulgaris* återvänder till tarmlumen där de fäster till tarmslemhinnan i sex till åtta veckor, blir könsmogna och börjar lägga ägg (Reinemeyer & Nielsen, 2009). De vuxna maskarna är 20 – 45 mm stora (Osterman Lind, 2005). Prepatensperioden för *S. vulgaris*, alltså tiden från infektionstillfället tills hästen urskiljer äggs med träcken, är ungefär sex månader (SVA, 2019).

Patofysiologi och symptom

Då larvstadier av *S. vulgaris* migrerar till *Arteria mesenterica cranialis* kan de ge upphov till så kallad verminös arterit. Verminös arterit innebär att migrerande larvstadier orsakar endotel-skador på berörda kärl, vilket skapar en lokal inflammation och trombbildning (Reinemeyer &

Nielsen, 2009). Den kliniska betydelsen av de skador *S. vulgaris* orsakar beror på skadornas lokalisering och omfattning (Osterman Lind, 2005). Hos drabbade hästar kan allt ifrån symptomlöshet, mild till kraftig kolik, feber och peritonit ses. Infektionens intensitet påverkar den kliniska sjukdomsbilden (ESCCAP 2019). Andra hälsoproblem förknippade med infektion med *S. vulgaris* är viktminskning, sämre tillväxt och annan klinisk sjukdom (Andersen *et al.*, 2013).

Verminös arterit karakteriseras av fibros av artärväggarna och trombbildning kring migrerade larver (Nielsen *et al.*, 2012). Vid studier av obduktionsfynd från hästar med verminös arterit, hittades i samtliga fall en förtjockad, icke elastisk *A. mesenterica cranialis*. Mikroskopiskt sågs fibros av kärlet i varierande omfattning. Larver från *S. vulgaris* återfanns i artärlumen, inbäddade i kärnväggen eller i tromber hos flera av hästarna (Marinkovic *et al.*, 2009). Vid liknande obduktioner bekräftades att larvpopulationen i trombmassorna till största del utgjordes av långt utvecklade L4-stadier, samt L5-stadier (Nilsson & Andersson, 1979). Tromber och trombmateriell i området av *A. mesenterica cranialis* kan sedan frigöras och transporteras med blodet till mindre artärer och arterioler där de fastnar och kärnen och således också blodtillförseln, vilket ger upphov till lokal ischemi och infarkter. Det typiska syndromet orsakat av *S. vulgaris* kallas därför för trombo-embolisk kolik. (Nielsen *et al.*, 2012). Tromber kan blockera kärlet lokalt och orsaka ischemiska tarmskador, men också följa med blodet och skapa problem på andra ställen i kroppen, exempelvis hälsa (Marinkovic *et al.*, 2009). Andra rapporter visar att majoriteten av skadorna hittades i förgreningarna från *A. mesenterica cranialis*. Mest utsatt för skada var *Arteria ileocolica*. Fynd av verminös arterit hittades även i enskilda fall i aortan. Fynden visar tydligt att larvstadier av *S. vulgaris* har en förmåga att ta sig till stora delar av kärlsystemet och att de inte enbart är bundna till den kraniala krösroten (Pilo *et al.*, 2012).

Prevalens

Då prevalensen av *S. vulgaris* hos svenska hästar undersöktes år 1999 var 14 % av besättningarna positiva (Lind Osterman *et al.*, 1999). I en ny prevalensstudie som genomfördes år 2016-2017, visar på en drastisk ökning av förekomsten av *S. vulgaris*. Hela 61 % av svenska hästbesättningar visade sig då ha positiva individer (Tydén *et al.*, 2019). I studien av Tydén *et al.* (2019) sågs en ökad risk för infektion med *S. vulgaris* på de hästgårdar som baserat sina avmaskningsrutiner på endast EPG-räkning, jämfört med de som kompletterade äggkvantifieringen med odling eller som använt sig av rutinmässig avmaskning. Inget samband sågs mellan prevalens av *S. vulgaris* och EPG-nivåer. Hästar med låga EPG-nivåer som, enligt gällande svenska riktlinjer, inte behandlades med anthelmintika kan enligt författarna vara källa för infektion med *S. vulgaris* och således en viktig komponent till att prevalensen har ökat i Sverige. En studie från Danmark har visat att prevalensen av *S. vulgaris* var betydligt högre på hästgårdar som tillämpade selektiv avmaskning jämfört med på gårdar som tillämpade rutinmässig avmaskning. (Nielsen *et al.*, 2012).

Diagnostik

För att få en uppfattning om parasitinfektionens intensitet används McMaster-räkning. Metoden gör det möjligt att kvantifiera antal ägg per gram faeces i ett träckprov, kallat ett EPG-värde. Då ett träckprov ska analyseras blandas en viss mängd träck med ett flotationsmedium,

vanligtvis mättad koksaltlösning (SVA, 2011). Efter flotation används en McMaster-kammare, där det är möjligt att identifiera ägg med mikroskop samt att räkna dem (Cringoli *et al.*, 2004).

Vid flotation är det inte möjligt att skilja på ägg från *Cyathostominae* (små blodmaskar) och *S. vulgaris*. Skillnad mellan *Cyathostominae* och *S. vulgaris* ses först i tredje larvstadiet, då det möjligt att okulärt skilja på parasiterna (Bracken *et al.*, 2012). Arterna kan bland annat särskiljas genom att jämföra antalet tarmceller. *S. vulgaris* har 32 tarmceller, medan *Cyathostominae* har upp till 16 stycken (Taylor *et al.*, 2007). Odling av *S. vulgaris* är en tidskrävande metod som kräver ett tränat öga (Bracken *et al.*, 2012). En annan analysmetod i form av PCR har visat sig kunna ge tillförlitliga resultat vid detektion av *S. vulgaris*. Metoden analyserar DNA från *S. vulgaris* från träckprov (Nielsen *et al.*, 2008). En PCR-analys ger svar inom fem dagar (SVA, 2019).

Svenska avmaskningsrutiner

Sedan år 2007 är anthelmintika för häst receptbelagt i Sverige, genom EU-direktivet 2001/82/EG (EU-kommissionen, 2006). Idag rekommenderas selektiv avmaskning, alltså att endast behandla hästar med påvisad parasitinfektion vid träckprovstagning. Hästar med bekräftad infektion med *S. vulgaris* bör alltid behandlas (SVA, 2019). Det är dock tillåtet att behandla hästar med anthelmintika utan föregående träckprov om förskrivande veterinär är väl införstådd i gårdens aktuella hälsoläge (SJVFS, 2010:17 24 §). Tillgängliga substanser för behandling av *S. vulgaris* är ivermektin, moxidektin, pyrantel och fenbendazol (Jordbruksverket, 2007). För att minska spridning av *S. vulgaris*, samt att minska en eventuell resistensutveckling, rekommenderar SVA att skicka in träckprover för analys på våren (april-maj). Hästen blir infekterad vid betesgång under sommarhalvåret och *S. vulgaris* har en prepatensperiod på ungefär sex månader. Det är därför viktigt att träckprovstagning görs vid rätt tidpunkt på året. Om träckprov analyseras under prepatensperioden finns risk för falska negativa svar, eftersom infektion med *S. vulgaris* endast kan bekräftas via träckprov och odling under den period då äggläggande maskar befinner sig i tarmen (SVA, 2018a). Vid introduktion av nya hästar med okänd parasitstatus till en besättning i mars – november, rekommenderas numera att alltid avmaska hästen både makrocykliska laktoner (ivermektin, moxidektin). Rekommendationen grundar sig i att hästen kan bära på larvstadier av *S. vulgaris* som inte kan påvisas på träckprov (SVA, 2018a).

***S. vulgaris* på betet**

I en reviewartikel sammanfattades studier om utveckling och överlevnad av frilevande larvstadier av blodmask på betet i olika klimat. Här beskrivs att flera studier gjorts med blandade populationer av strongylider och att det antagits att ägg och frilevande larvstadier från både stora och små blodmaskar betar sig på liknande vis gällande kläckning och överlevnad i olika temperaturförhållanden (Nielsen *et al.*, 2007). Vid laboratoriestudier av larvstadiers utveckling sågs ingen skillnad i beteende mellan arterna inom familjen *Strongylidae* (Mfitlodze & Hutchinson, 1987). Idag finns ännu inga studier på hur just *Strongylus vulgaris* betar sig på betet under olika förhållanden.

Ägg från både stora- och små blodmaskar har under experimentella förhållanden setts kläckas som snabbast vid en temperatur mellan 25°C och 33°C. Temperaturintervallet visade sig också

vara det optimala för snabb utveckling av larvstadier samt överlevnad då parasiten nått det infektiösa L3-stadiet. Vid högre temperaturer kläcktes äggen i en ännu högre hastighet, men inga larver överlevde då till L3-stadiet (Mfitlodze & Hutchinson, 1987). Utöver en optimal temperatur, kräver larver i L3-stadiet även fukt för sin överlevnad. Vid studier av endast *Cyathostominae* visades det också att en fuktig väderlek även gynnar larvernans migration till det omgivande gräset från träckhögen (Kuzmina *et al.*, 2006). Torka reducerar migrationen (Nielsen *et al.*, 2007). I studien om små blodmaskar av Kuzmina *et al.* (2006) sågs 28,3 % av larverna migrera från träckhögen i oktober, medan endast 10,6 % sågs migrera i den torrare sommarmånaden juli. Att L3-larver migrerade i högre utsträckning under fuktigare väderförhållanden i september och oktober än i juli och augusti sågs även i Wilderoths examensarbete vid SLU år 2018 (Wilderoth, 2019). Fler migrerande larvstadier kan hittas vid provtagning av gräs på morgonen än på eftermiddagen, vilket även det beror på skillnader i hur fuktig miljön är vid olika tider på dygnet (Nielsen *et al.*, 2007).

Nematoder tillhörande familjen *Strongylidae* har visat sig överleva på betet i över ett år (Lindberg 1976; Kuzmina *et al.*, 2006; Nielsen *et al.*, 2007) och under vintern fungerar träckhögar som reservoar för blodmasksmitta (Kuzmina *et al.*, 2006). Kuzmina *et al.* (2006) fann att majoriteten av övervintrande larver befann sig i träckhögen. Studien visade också att L3-stadier övervintrade i jorden under träckhögar på 1-2 cm djup. Ett mycket litet antal larver sågs också kunna övervintra i gräset (Kuzmina *et al.*, 2006). Att larvstadier av familjen *Strongylidae* kan övervintra i gräset sågs även i en svensk studie av Nilsson & Andersson (1979). I den svenska studien togs upprepade gräsprov under flera säsonger i beteshagar. Blodmasklarver identifierades i lägre grad i gräsprov efter vintersäsongen, men ökade sedan markant i takt med att de smittade hästarna på betet började urskilja ägg under sommaren. Nykontamination av betet sågs ansågs vara en viktigare reservoar för smitta på betet än de larver som övervintrat (Nilsson & Andersson, 1979).

Larvernans förmåga att övervintra har visat sig bero på när under säsongen en smittad träckhögd deponeras på betet. I träckhögar som placerades på betet i september, överlevde hela 42 % av larverna till nästa betessäsong. I träckhögar som placerades ut under tidigare sommarmånader samt senare höstmånader minskade mängden övervintrande larver drastiskt. Då träckhögar placerades ut i november hittades varken ägg eller larver i träckhögen i början av nästa betessäsong (Kuzmina *et al.*, 2006). I en svensk studie från år 1976 visade resultaten att även frilevande larver på bete, från träckhögar deponerade som placerats på bete i augusti och september hade god förmåga att överleva till kommande betessäsong. Mängden övervintrade larver var dock reducerade till antal, vilket enligt författarna gjorde dem till ett mindre problem än den nya generation ägg som kommer ut med träck från smittade hästar under kommande betessäsong (Lindberg, 1976).

En längre tids temperaturväxling mellan minus- och plusgrader, likt södra Sveriges milda vintrar, tycks vara dåliga förhållanden för frilevande larvstadier och reducerar kraftigt deras överlevnad. Vid vintrar där temperaturen däremot legat stadigt under noll grader, har det setts en ökad överlevnad av L3-stadier under vintermånaderna. Majoriteten av oskyddade larver på bete som exponeras för minusgrader kommer dock inte att överleva till nästa betessäsong. Ett

snötäcke verkar som skyddsfaktor om vintrarna, då temperaturen under snön är mer konstant jämfört med den mer fluktuerande temperaturen ovanför snön (Nielsen *et al.*, 2007).

Beteshygien

För att kontrollera den betesburna smittan krävs, förutom en korrekt användning av anthelmintika, en reduktion av ägg och infektiösa L3-stadier på betet (ESCCAP, 2019; Osterman Lind, 2005).

För att minska parasitbördan bland hästbesättningar rekommenderar SVA att skilja på vinter- och sommarhagar, samt att låta hästar beta på tillräckliga arealer. Större ytor minskar risken att hästar betar nära gödselhögarna. Andra metoder för att reducera parasitsmittan går ut på att växelbeta med idisslare, växla mellan slåtter och bete av vallen, samt att låta marken vila från hästar en hel säsong. Att plöja, harva och putsa betet är också en del i att upprätthålla hygien på betet (SVA, 2018c). L3-larvernas överlevnad ökar markant i en intakt träckhög än i en krossad träckhög (Nielsen *et al.*, 2007). Putsning och harvning bör ske vid torr väderlek, då frilevande larvstadier är känsliga för torka (SVA, 2018c; ESCCAP, 2019). Harvning vid fuktig väderlek kommer sprida istället smittan över betesmarken, då miljön är gynnsam för larvernas överlevnad (SVA, 2018c).

Utvecklingen från ägg till infektiösa stadier tar minst en vecka, ESCCAP (2019) rekommenderar därför mocka markerna där hästar vistas minst en till två gånger per vecka. Två examensarbeten på SLU (2017, 2018) har undersökt effekten av mockning för att förbättra beteshygien. Båda studierna visade att mockning två gånger per vecka reducerade antalet L3-larver på betet, jämfört med beten som inte mockades (Thorolfson Rainamo, 2018; Wilderoth, 2019).

MATERIAL OCH METODER

Genomförande

Tre experimentella studier utfördes i Alsike utanför Uppsala.

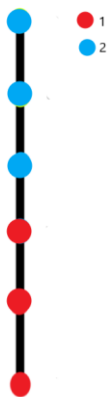
Delstudie 1 – L3-larvers överlevnad på bete

Studien har utförts i en ca en hektar stor beteshage i Alsike Uppsala från 20 juni 2019 – 20 november 2019. Hagen har använts som beteshage för tre hästar under perioden november år 2018 till maj år 2019. Samtliga individer i hagen bekräftades i maj 2019 vara positiva för *S. vulgaris*. Under studien har samlingsprov av gräs och träck tagits från platser i hagen där rikligt med träck funnits. Hagen där studien utfördes betades ej av hästar från juni 2019 till september 2019. I september 2019 stängdes två 4x3 m stora områden i hagen av och hägnades in för att hästarna inte skulle röra sig i provtagningsområdena. De två inhägnade områdena innehöll båda rikligt med träck och användes som provtagningsplatser för delstudien från 19 september 2019.

Under perioden 19 september – 20 november togs även jordprover från jord under träckhögar i hagen.

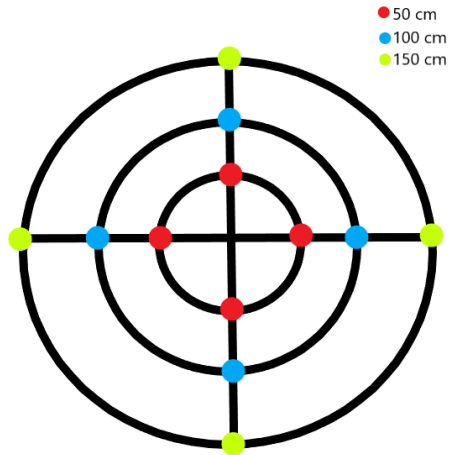
Delstudie 2 – L3-larvers migrering från träckhögen

Studien har utförts på en orörd gräsyta i Alsike utanför Uppsala från 1 juni 2019 – 20 november 2019. Ytan har inte använts som betesmark till hästar. Träck från delstudie 1, med känt EPG och konstaterad smitta av *S. vulgaris*, har använts och placerats i sex normalstora träckhögar på en rad med fyra meters mellanrum mellan träckhögarna. Träcken placerades ut 1 juni 2019. Provtagningar av träck och gräs genomfördes i två pooler med tre träckhögar i vardera pool (figur 1).



Figur 1. Illustration av träckhögar i delstudie 2.

Gräsproverna togs från förutbestämda avstånd från varje träckhög i poolerna – 50 cm, 100 cm och 150 cm. Gräsproverna klipptes vid fyra punkter på varje förutbestämt avstånd från respektive träckhög (figur 2). Varje samlat gräsprov klipptes således från tolv platser i gräset per mätpunkt i varje pool.



Figur 2. Provtagningsmönster gräsprov delstudie 2.

Under perioden 19 september – 20 november togs även jordprover från jord under träckhögar i hagen.

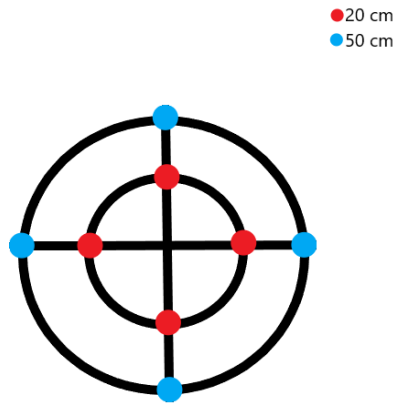
Delstudie 3 – L3-larvers migrationshastighet

Studien har utförts på en orörd gräsyta i Alsike utanför Uppsala under perioden 19 september 2019 – 21 november 2019. Gräsytan har inte använts som betesmark till hästar. Totalt sex träckhögar från tre hästar med känd äggurskiljning samt konstaterad infektion med *S. vulgaris* placerades ut på en rad med tre meters mellanrum mellan träckhögarna (figur 3). Provtagning av träck och gräs genomfördes i pooler A, B och C, med två träckhögar i varje pool.



Figur 3. Illustration av träckhögar i delstudie 3.

Träckhögarna placerades ut 19 september 2019. Efter 14 dagar påbörjades provtagning av träck och gräs. Provtagningarna genomfördes sedan var 3:e – 7:e dag fram till 21 november 2019. Gräsproverna togs från förutbestämda avstånd från varje träckhög i poolerna. Initialt togs gräsprover 20 cm och 50 cm från samtliga träckhögar. I november månad togs gräsprov endast 20 cm från respektive träckhög. Gräsproverna klipptes vid fyra punkter på varje förutbestämt avstånd från respektive träckhög (figur 4). Varje samlat gräsprov klipptes således från åtta punkter i gräset per mätpunkt i varje pool.



Figur 4. Provtagningsmönster gräsprov delstudie 3.

Gräsprover

Gräsprover klipptes med sax vid marknivå. I delstudie 1 klipptes gräs i de två inhägnade rutorna var 14:e dag. I delstudie 2 klipptes gräs vid bestämda punkter, 50 cm, 100 cm och 150 cm från träckhögarna. Även i delstudie 3 klipptes gräs vid bestämda punkter. Först vid 20 cm och 50 cm från träckhögen, senare endast 20 cm från träckhögen.

Gräsprover från samtliga studier placerades sedan i silar ovanpå Baermanntrattar (Bild 2). Trattarna fylldes sedan med vatten tills allt gräs täckts. Gräsproverna fick sedan vila i vattenbadet. Efter 24 timmar fylldes Falconrör med 50 ml vätska från botten av gummislangarna från respektive Baermanntratt. Falconrören centrifugerades sedan i 1500 RPM i tre minuter, varpå surfaktanten avlägsnades med vakuumsug tills 5 ml vätska återstod i rörets botten. 5 ml vätska från respektive gräsprov undersöktes sedan i mikroskop och antalet L3-stadier av *S. vulgaris* identifierades och kvantifierades.

Samtliga gräsprover lades sedan på tork i 3-4 dygn för att sedan vägas. Gräsets torrsvikt antecknades. Antal L3-larver av *S. vulgaris* per kilo torrsbstans gräs kunde sedan beräknas.



Bild 2. Baermann-trattar med gräsprover i. Foto: Julia Ling

Träckprover

Träckprover togs från de tre hästar som betat i hagen som ingick i delstudie 1 i maj 2019. Sex stycken blandade träckhögar från delstudie 1 användes sedan till delstudie 2. I delstudie 3 togs träckprov från tre hästar vid studiens början. Samtliga träckprov analyserades med flotation via hjälp av McMaster-kammare för att påvisa förekomst av ägg från strongylider. En odling gjordes sedan på prover för att kunna detektera *S. vulgaris*. För att påvisa förekomst av strongylida ägg vägdes 3 gram träck upp och blandades med 42 ml vatten i en bägare. Bägarens innehåll silades genom en 150 µm sil. Vätskan hälldes sedan i ett flatbottnat rör och centrifugerades. Supernatanten sögs bort och röret fylldes med mättad natriumkloridlösning. Innehållet i röret blandades och en McMaster-kammare med lösningen fylldes med hjälp av pipett. Antalet ägg i McMaster-kammaren räknades sedan och multiplicerades med 50, varpå ett EPG-värde fastställdes för träckprovet

Vid odling av träck placerades 50 g träck tillsammans med vermikult i en plastburk med lock, som sedan inkuberades i rumstemperatur i 14 dagar. Burkarna fylldes sedan med ljummet vatten och placerades upp och ned utan lock på ett petriglas. Efter 24 timmar pipetterades vätskan på petriglasen upp och mikroskoperades för identifiering och kvantifiering av *S. vulgaris*.

Vid de upprepade provtagningarna som gjordes under genomförandet av samtliga tre delstudier analyserades förekomsten av strongylida ägg samt förekomst av L3-larver av *S. vulgaris*. För att påvisa förekomst av L3-larver vid varje provtagningstillfälle användes Baermann trättmetod. Från varje träckhög provtogs 10-25 gram träck per tillfälle. Den bestämda mängden träck placerades på en sil i en Baermanntratt och vatten tillsattes sedan tills träcken i silen täckts. Efter 24 timmar tappades vätskan från trattarna upp i Falconrör. Rören centrifugerades sedan i 1500 RPM i tre minuter och antal L3-larver per gram träck i analysen kunde sedan identifieras med hjälp av mikroskopering.



Bild 3. Träckprov i Baermann-trattar. Foto: Julia Ling

Jordprover

Jordprover togs under träckhögar i delstudie 1 och 2 från 19 september 2019 till 20 november 2019. Proven togs på 1-2 cm djup under markytan och till varje analys användes ca 25 gram jord. Baermanns trattmetod användes och proverna mikroskoperades för att analysera förekomst samt kvantifiering av larver från *S. vulgaris*. Antal L3-larver per gram jord kunde sedan beräknas.

RESULTAT

Delstudie 1

I delstudie 1 var syftet att undersöka om det är möjligt att detektera förekomst av *S. vulgaris* på betet med hjälp av gräsprov, samt att undersöka L3-larvers överlevnad på betet. I Tabell 1 redovisas ett sammanställt resultat för delstudien. Studien genomfördes på ett bete där tre individer, samtliga positiva för *S. vulgaris*, betat från november år 2018 till juni år 2019. Medelvärde för de tre individerna vid träckprovstagning i maj 2019 var 400 EPG, samt 4 L3-larver av *S. vulgaris* per gram träck efter odling. Vid provtagningar av träck, gräs och jord på betet kunde L3-larver endast detekteras vid ett tillfälle i träck i augusti samt vid två tillfällen i gräset, oktober och november. Inga ägg kunde urskiljas från träckhögar i hagen, vilket innebär att de flesta ägg har kläckts. Vid provtagningar av jord under träckhögar på betet kunde inga L3-larver detekteras.

Resultatet av delstudien visar att larver av *S. vulgaris* migrerar ut från träckhögen och kan återfinnas i den omgivande vegetationen. Resultaten visar också att L3-larver överlever på betet från maj till november. Då proven var negativa vid provtagning av jord under träckhögen kan det, trots studiens resultat, inte uteslutas att L3-larver migrerar från träckhögen ned i jorden.

Tabell 1. Resultat av delstudie 1. Streck i tabellen representerar utebliven provtagning

Provtagnings Datum	EPG	L3-larver/g träck	L3-larver/kg torrs substans gräs	L3-larver/g jord
2019-05-20	400	4	-	-
2019-06-20	-	-	0	-
2019-07-16	0	0	0	-
2019-08-03	-	-	0	-
2019-08-18	0	2	0	-
2019-09-04	0	0	0	-
2019-09-19	0	0	0	0
2019-10-06	0	0	3	0
2019-10-20	0	0	-	0
2019-11-03	0	0	1	0
2019-11-20	0	0	0	0

Delstudie 2

I delstudie 2 undersöktes L3-larvers migration från träckhögen, samt smittryck från *S. vulgaris* genom att studera förekomst av L3-larver i träck, gräs och jord. Studien genomfördes genom att experimentellt placera ut träckhögar, konstaterat positiva för *S. vulgaris*, på en orörd gräsyta. Det sammanställda resultatet från delstudien redovisas i tabell 2. Det ursprungliga medelvärdet för de båda poolernas träckhögar var 400 EPG samt 4 L3-larver av *S. vulgaris* per gram träck efter odling. EPG-värdet förblev 0 vid samtliga efterföljande provtagningar, vilket talar för att

kläckning av samtliga ägg skett under de två månader som var mellan de första provtagningarna. Vid samtliga träckprovsanalyser under juni-november återfanns L3-larver av *S. vulgaris* i träckhögen. Resultatet av delstudien visar således att L3-larver överlever i träckhögen från maj till november. Flest L3-larver detekterades i träcken i september och oktober. Vid endast ett provtagningstillfälle kunde L3-larver detekteras i gräset, 50 cm från träckhögen. Resultatet visar att L3-larver av *S. vulgaris* migrerar från träckhögen till den omgivande vegetationen, men att majoriteten av larverna stannar i träckhögen. Delstudien visar också att L3-larver migrerar från träckhögen ned till jorden. Vid samtliga provtagningar av jorden kunde L3-larver detekteras. Fler L3-larver hittades i träckhögen än i jorden vid alla provtagningstillfällen.

Tabell 2. Resultat av delstudie 2. Tabellen visar medelvärdet av de två poolerna. Streck i tabellen representerar utebliven provtagning

Provtagnings Datum	EPG	L3-larver/g träck	L3-larver/kg torrsubstans gräs (50 cm)	L3-larver/kg torrsubstans gräs (100 cm)	L3-larver/kg torrsubstans gräs (150 cm)	L3-larver/g jord
2019-05-20	400	4,0±0	-	-	-	-
2019-06-20	-	-	0	0	0	-
2019-07-03	0	0,5±0,7	0	0	0	-
2019-07-16	-	-	0	0	0	-
2019-08-03	-	-	0	0	0	-
2019-08-20	0	1,0±0	0	0	0	-
2019-09-04	0	0,5±0,7	0	0	0	-
2019-09-19	0	2,0±1,4	-	-	-	0,5±0
2019-10-06	0	3,5±3,5	-	-	-	0,5±0
2019-10-20	0	3,0±0	17,5±24,7	0	0	0,5±0
2019-11-03	0	1,5±0,7	0	0	0	1,5±0,7
2019-11-20	0	1,5±0,7	0	0	0	0,5±0,7

Delstudie 3

I delstudie 3 analyserades träckprover och gräsprover för att studera hur snabbt larver kläcks på betet, L3-larvers överlevnad, samt hur långt L3-larver migrerar från träckhögen ut i den omgivande vegetationen då träckhögar deponeras på en gräsyta under hösten. Tabell 3 visar ett sammanställt resultat för delstudien. Då träckhögen placerades ut på gräsytan den 19 september 2019 var medelvärdet för de tre poolerna 250±86,6 EPG och efter odling kunde 19,7±30,6 L3-larver av *S. vulgaris* per gram träck identifieras. Den 19 oktober 2019, fyra veckor efter deponering, kunde L3-larver av *S. vulgaris* återfinnas i träckhögen. Efter en månad sjönk även EPG-värdet i träckhögen. Ägg från blodmask kunde fortfarande hittas i både oktober och november, vilket betyder att en fullständig kläckning inte skett. Från det att L3-larver detekterades i träckhögen i oktober kunde L3-larver identifieras under hela provtagningsperioden. Liknande delstudie 2 visar resultatet att träckhögen fungerar som reservoar för smittan och att parasiten kan överleva i träckhögen till slutet av november även när träcken

deponerats på en gräsyta på hösten. I studien återfanns L3-larver i den omgivande vegetationen, 20 cm från träckhögen, vid två provtagningstillfällen. Resultatet visar även här att L3-larver av *S. vulgaris* migrerar från träckhögen i viss grad, men att träckhögen fungerar som en reservoar för smittan. Då endast ett fåtal larver sågs migrera, togs endast prover 20 cm från träckhögen under de sista veckorna av studien.

Tabell 3. Resultat av delstudie 3. Tabellen visar medelvärdet av de tre poolerna. Streck i tabellen representerar utebliven provtagning

Provtagningsdatum	EPG	L3-larver/g träck	L3-larver/kg torrsubstans gräs (20 cm)	L3-larver/kg torrsubstans gräs (50 cm)
2019-09-19	250±86,6	19,7±30,6	-	-
2019-10-06	50,0±50	-	-	-
2019-10-09	50,0±50	0	0	0
2019-10-11	16,7±28,9	0	0	0
2019-10-19	0	13,8±18,5	0	0
2019-10-23	0	26,7±24,6	16±27,7	0
2019-10-28	16,7±28,9	63,3±52,5	0	0
2019-11-04	0	13,7±21,1	0	0
2019-11-07	0	0,70±0,29	0	-
2019-11-12	16,7±28,9	7,30±11,8	15±26,0	-
2019-11-18	0	23,0±19,2	0	-
2019-11-21	0	6,30±4,40	0	-

DISKUSSION

Delstudie 1

Det finns idag inga studier som visar hur L3-larver av *S. vulgaris* betar sig på betet. Hur den stora blodmasken smittar ett bete, hur dess ägg och larvstadier överlever i olika förhållanden och hur långt från träckhögen infektiösa L3-larver av parasiten migrerar är alltså ännu inte utrett. I de studier som gjorts med blandade populationer av strongylider, alltså både stora och små blodmaskar, har det antagits att de båda arterna betar sig på liknande vis (Nielsen *et al.*, 2007). I studier där L3-larvers migration, samt överlevnad, i den omgivande vegetationen har studerats har gräsprov använts som diagnostiskt verktyg. Metoden användes bland annat i ett examensarbete av Wilderoth (2019), samt i den ukrainska studien av Kuzmina *et al.* (2006). De båda studierna undersökte förekomst av små blodmaskar, cyathostominae, med hjälp av gräsprov. Metoden användes även i en svensk studie av Nilsson & Andersson (1979), där gräsprov användes för att detektera parasitsmitta på bete. I samtliga nämnda studier var det möjligt att detektera förekomst av cyathostominae samt en blandad population av strongylider med hjälp av gräsprov tagna från marker som betades av hästar som bar på parasitsmitta.

I delstudie 1 i det här arbetet studerades huruvida gräsprov kan användas som diagnostiskt verktyg för att detektera smitta av *S. vulgaris* på ett bete. Betet som provtogs hade tidigare betats av tre individer där samtliga konstaterats positiva för *S. vulgaris*. Trots att marken betats av smittade hästar under hösten och våren innan provtagningarna påbörjades identifierades endast ett fåtal L3-larver vid provtagning av gräset i hagen. Gräsproven togs i de två mest träcktäta områden på betet, men då majoriteten av träckproverna och även jordproverna i delstudie 1 var negativ för L3-larver av *S. vulgaris* är frågeställningen omöjlig att besvara med det resultat studien gav. Det, enligt resultatet, låga smittrycket i hagen gjorde det svårt att identifiera parasiten. Studien visar att *S. vulgaris* migrerar till det omgivande gräset, eftersom positiva gräsprover hittades. På grund av de många negativa träckproverna på betet gav resultatet dock inte upphov till några svar om graden av migration. I delstudie 1 studerades även överlevnad av *S. vulgaris* på betet. Samtliga träckprov visade 0 EPG under hela provtagningsperioden, vilket betyder att alla eventuella ägg i träcken kläckts innan juli månad. L3-larver av *S. vulgaris* kunde endast identifieras i träck på betet fram till augusti. De många negativa träckproven kan också bero på att den träck som provtogs i hagen var gammal och att den därför inte innehöll några parasiter. Kanske deponerades den träcken på betet innan hästarna smittats av *S. vulgaris*, eller att parasiten hunnit dö mellan säsongerna. Utseendet på de träckhögar som fanns på betet skiljer sig från de färska träckhögar som använts i delstudie 2 och 3. I delstudie 1 var träcken på betet mycket nedtrampad, överväxt av vegetation och söndersmulad. L3-larver av blodmaskar överlever i högre grad i en intakt träckhög än i en krossad träckhög (Nielsen *et al.*, 2007). Den naturliga påverkan som drabbat träcken i beteshagen skulle alltså kunna vara orsaken till det låga smittrycket. Betet användes endast som vinterhage för de tre individerna och bestod därför av stora mängder lera samt nedtrampad vegetation. Miljön i hagen var kanske ogynnsam för *S. vulgaris*, vilket också skulle kunna förklara det låga smittrycket på betet.

Delstudie 2

I delstudie 2 användes träckhögar från de tre infekterade hästarna i delstudie 1 med syfte att undersöka L3-larvernas migration från träckhögen ut i vegetationen. I studien av Wilderoth

(2019) sågs L3-larver av cyathostominae migrera upp till 1 meter från träckhögen och parasiten detekterades frekvent i de gräsprov som analyserades i studien. Provtagningsperioden i Wilderoths studie var liknande den i det här arbetet, med provtagningar under sommaren och hösten. Resultaten i delstudie 2 visar att *S. vulgaris* och cyathostominae inte alls beter sig på liknande sätt gällande migration till det omgivande gräset, något som antagits i tidigare studier.

De träckhögar som delstudie 2 utgick ifrån innehöll L3-larver av *S. vulgaris* under hela provtagningsperioden, ändå gjordes endast ett positivt fynd av L3-larver i det omgivande gräset. *S. vulgaris* sågs då ha migrerat 50 cm från träckhögen. Övriga provtagningar av det gräset var negativa. Resultaten från den här studien och studier som tidigare gjort på cyathostominae visar att de olika blodmaskarna inte migrerar i lika hög grad. Då träckhögar i delstudie 2 hela tiden innehöll L3-larver av *S. vulgaris* kan resultatet i den delstudien användas för att besvara frågeställningen i delstudie 1. Nämligen, att gräsprover inte är ett användbart diagnostiskt verktyg för att detektera om ett bete är smittat av *S. vulgaris*.

Då L3-larverna migrerade i mycket låg grad ut i gräset påbörjades provtagningar av jorden under träckhögar. Vid samtliga provtagningar i september till november återfanns L3-larver i jorden under träckhögar. Resultatet visar att inte bara träckhögar, utan även jorden under träckhögen kan fungera som reservoar för smitta av *S. vulgaris*. Fler L3-larver hittades per gram träck än per gram jord under perioden och utifrån det resultatet kan slutsatsen dras att träckhögen är den största smittreservoaren. Kuzmina *et al.* (2006) fann att cyathostominae överlevde till nästa betessäsong i jorden under smittade träckhögar, vilket visar att de båda arterna av blodmaskar har samma benägenhet att migrera till jorden.

Delstudie 3

Delstudie 3 liknar delstudie 2 i sin utformning, men träckhögar placerades ut på en gräsyta under hösten istället för i början av sommaren. I delstudie 3 undersöktes även kläckning samt utveckling till L3-larver på betet, förutom migrationen av L3-larver till den omgivande vegetationen. Genom att följa EPG-värdet och L3-larvers existens i träckhögar visar resultatet att det tog en månad för larverna att kläckas och nå det infektiösa L3-stadiet. Efter en månad på betet hade EPG-värdet gått ned till 0 i träckhögar, men ägg kunde fortfarande återfinnas i träckhögar i november, vilket visar att samtliga ägg inte kläckts. Orsaken till att högre EPG-värden i delstudie 3 än i övriga delstudier skulle kunna bero på att temperaturen under höstmånaderna är längre ifrån den optimala temperaturen för kläckning. Enligt studien av Mfitlodze & Hutchinson (1987) är 25 – 33 °C den optimala temperaturen för kläckning samt utveckling av larvstadiet för blodmaskar. Likt delstudie 2 var migrationen av L3-larver ut i vegetationen sparsam även i den här delstudien, trots att L3-larver fanns i träckhögen under hela provtagningsperioden från det att larverna kläckts. L3-larver återfanns i gräset 20 cm från träckhögen vid två tillfällen under provtagningsperioden. På grund av den sparsamma migrationen togs inga gräsprov 50 cm från träckhögar i delstudie 3 under den sista månaden av försöket. I delstudie 3 hittades L3-larver endast 20 cm från träckhögen, medan de återfanns 50 cm från träckhögen i delstudie 2. För att fastställa hur långt det infektiösa larvstadiet av *S. vulgaris* migrerar från träckhögen krävs en längre provtagningsperiod.

Felkällor

Ett större provmaterial i form av mer frekventa provtagningar under en längre tidsperiod hade gett ett mer tillförlitligt resultat. Samtliga gräsprover har analyserats och kvantifierats manuellt via mikroskop. Proverna innehöll en stor mängd jordnematoder samt L3-larver av cyathostominae. Trots *S. vulgaris* storlek och utseende är det möjligt att det mänskliga ögat har felbedömt larverna vid analys.

Framtida studier

I studierna utförda av Wilderoth (2019) samt Kuzmina *et al.* (2006) visades det att cyathostominae migrerade i högre grad under månaderna september och oktober, samt under fuktigare väderförhållanden. I både delstudie 1 och 2 återfanns L3-larver av *S. vulgaris* i den omgivande vegetationen i oktober. I delstudie 1 och 3 hittades larver i gräset i november. Resultaten visar en viss likhet mellan de båda arterna av blodmaskar, gällande tid på året då mest migration sker. Resultaten i den här studien visar också att det går att hitta larver av *S. vulgaris* i betesgräs i november månad, vilket innebär att hästar kan bli smittade även under hösten/vintern. Framtida studier inom området är nödvändigt för att fastställa hur *S. vulgaris* beter sig på betet under årets olika säsonger. Det är av vikt att genomföra studier som sträcker sig över flera år för att utreda hur länge L3-larver överlever samt övervintrar. Det är också av intresse att använda väderdata för att undersöka korrelationen mellan väderförhållanden så som nederbörd och medeldygnstemperatur med L3-larvers migration och överlevnad på betet. De många negativa analyssvaren i delstudie 1, där *S. vulgaris* studerades i en kontaminerad hage, väcker också nya frågor kring markmiljö, fukt, vegetation och väderlek eftersom hagen var kraftigt nedtrampad och lerig vid projektstart. Att studera parasitens överlevnad och migration vid olika väderförhållanden och i olika typer av marker där hästar vistas är därför också av intresse. Överlever *S. vulgaris*, likt i den här studien, bättre i en träckhög som deponeras i orört gräs, än i en miljö där en annan typ av vegetation och lera dominerar?

I det här arbetet visade sig *S. vulgaris* migrera från träckhögen, om än i låg omfattning. Cyathostominae har i tidigare studier som utförts med liknande metoder visat sig migrera i högre omfattning. Det är därför av intresse av genomföra framtida studier där de båda arterna av blodmaskar studeras och jämförs. Kanske migrerar de båda parasiterna i lika hög grad, men att mängden cyathostominae är så mycket större än mängden *S. vulgaris* i smittade träckhögar? Är det svaret på varför *S. vulgaris* återfunns vid så få tillfällen i vegetationen i den här studien jämfört med fynden av cyathostominae i andra studier?

KONKLUSION

Att använda gräsprov metod för att detektera smitta av *S. vulgaris* på ett bete är enligt resultaten i den här studien inte ett lämpligt diagnostiskt verktyg. De preliminära resultaten från den här studien visar att *S. vulgaris* infektiösa larvstadie migrera i liten omfattning från träckhögen ut i den omgivande vegetationen, både från träckhögar som deponeras på en gräsyta i under sommaren och under hösten. Studien visar att det tar en månad för larver att kläckas och utvecklas till infektiösa stadier på betet. Träckhögen fungerar som den största reservoaren för smitta. Att eliminera träck från betet genom exempelvis mockning är därför en bra metod för att bli av med *S. vulgaris* på betet.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Hästar som vistas på betesmarker med andra hästar löper stor risk att drabbas av parasiter. En parasit som ökat hos svenska hästar de senaste åren är den stora blodmasken, *Strongylus vulgaris*. Infekterade hästar sprider smittan via ägg med avföringen. Äggen utvecklas sedan till larver på betet och då larverna är mogna nog kommer de kunna infektera nya hästar som betar nära en smittad avföringshög. När parasiten väl nått hästens mag-och tarmkanal genomgår den en längre utveckling till en könsmogen vuxen mask som sedan kan lägga nya ägg och därmed sprida smittan vidare. Parasitens prepatensperioden, alltså tiden från infektionstillfället tills att hästen sprider nya ägg med träcken är ungefär sex månader.

Den stora blodmasken anses vara den inälvsparasit som orsakar mest hälsoproblem hos häst. Under larvernans utveckling i hästens tarm, migrerar de även till viktiga blodkärl som försörjer tarmen. Larvernans migrering orsakar skador på blodkärlen vilket ger upphov till lokala inflammationer och blodproppar. Blodpropparna kan täppa till tarmens kärl, vilket medför konsekvenser som tarmskador till följd av den syrebrist som uppstår i området. Hästar infekterade med stor blodmask kan uppvisa allt från symptomlöshet till kraftig kolik och bukhinneinflammation. Hur allvarliga symptom hästen utvecklar beror på hur stora skador larverna har orsakat, samt skadornas lokalisering.

Parasitinfektion diagnosticeras med hjälp av träckprov. Vid träckprovundersökning kan mängden blodmaskägg per gram träck analyseras, kallat ett EPG-värde. För att sedan detektera om hästen är smittad av just stor blodmask krävs en odling av träckprovet. Först då larver från kläckta ägg kan undersökas är det möjligt att skilja den stora blodmasken från övriga blodmaskar. En odling av träcken är alltså nödvändig för korrekt diagnostik.

Som nämnt har förekomsten av stora blodmasken ökat hos svenska hästar de senaste åren. Den ökade förekomsten tycks bero på att smittade individer inte diagnosticeras korrekt, vilket leder till att infekterade individer förblir obehandlade och fortsätter att sprida smittan. Förutom korrekt användning av avmaskningsmedel är det av stor vikt att reducera antalet ägg och larver på betet genom att eliminera träcken.

Då den stora blodmasken är ett problem hos mer än hälften av de svenska hästbesättningarna är det av intresse att ta reda på hur parasiten betar sig i beteshagen. Det är exempelvis viktigt att undersöka hur länge parasiten överlever på betet, samt hur långt från träckhögen larver av den stora blodmasken rör sig för att smitta nya individer. Liten blodmask, *Cyathostominae*, är studerad i betesmiljö, liksom en blandad grupp blodmaskar. Det finns dock inga tillgängliga studier på hur just den stora blodmasken betar sig på betet. Då blodmaskar som grupp tidigare studerats har det antagits att stor blodmask och liten blodmask har betett sig på likande sätt avseende övervintring, överlevnad. Det är även klarlagt att den lilla blodmasken rör sig bort från träckhögen ut i den omgivande vegetationen. Små blodmaskar har hittats upp till en meter bort från träckhögen och går att identifiera med hjälp av gräsprover i smittade hagar.

Syftet med det här projektet är att få mer kunskap om hur larver från den stora blodmasken smittar ett bete och hur länge smittan finns kvar på betet. I projektet ingår tre delstudier. I delstudie 1 undersöks hur länge larver av stor blodmask överlever på betet, samt om det är

möjligt att detektera förekomst av parasiten genom gräsprover. I delstudie 2 undersöks hur och om den stora blodmaskens larver migrerar från träckhögen. I delstudie 3 studeras kläckning av ägg från stora blodmasken, samt larvers migration till omgivande vegetation då träckhögar deponeras vid annan tidpunkt på året. För att besvara frågeställningarna i de tre delstudierna togs upprepade gräsprover och jordprover som sedan analyserades för att detektera förekomst av frilevande larvstadier av stor blodmask. Även träckprov analyserades vid samtliga provtagningsstillfällen för att detektera förekomst av ägg från stor blodmask, samt larvstadier av parasiten. Provtagningsperioden pågick från juni till november år 2019.

I delstudie 1 togs upprepade gräsprover, träckprover och jordprover från en hage där tre hästar som alla varit infekterade med stor blodmask betet från november år 2018 till maj år 2019. Samtliga prover togs i de mest träckrika områdena i hagen.

I delstudie 2 användes träck infekterad med stor blodmask. Sex stycken träckhögar placerades ut på en orörd gräsyta i juni år 2019. Gräsytan hade inte tidigare betats av hästar. Gräsprov togs från tre förutbestämda punkter – 50 cm, 100 cm och 150 cm från varje träckhög. Även träckprov och jordprov analyserades vid varje provtagningsstillfälle. Samtliga prover togs varannan vecka från juni till november.

Delstudie 3 hade samma upplägg som delstudie 2, men träckhögarna deponerades på gräsytan i september år 2019. Gräsprover togs på två förutbestämda avstånd – 20 cm och 50 cm från varje träckhög. Även träckprov analyserades vid varje provtagningsstillfälle. Samtliga prover togs var 3:e-7:e dag från oktober till november år 2019.

Resultatet av de tre delstudierna visar att den stora blodmasken rör sig i mycket låg omfattning ut i det omgivande gräset. Det var möjligt att detektera larver av parasiten vid gräsprov, men endast vid ett fåtal tillfällen. I majoriteten av de gräsprov som analyserades i samtliga delstudier hittades ingen storblodmask. Studien visar därför att gräsprover inte är ett bra diagnostiskt verktyg för att detektera huruvida beten är smittade med stor blodmask. Studien visade även att larver av stor blodmask trivs i träckhögarna och att det är där den mesta smittan finns. Att eliminera träck från betet med hjälp av mockning är därför en användbar metod för att bli av med smittan från betet. Stor blodmask kan även hittas i jorden under träckhögarna, men inte i samma omfattning som i träckhögarna. Studier inom området som sträcker sig över längre tidsperioder är nödvändigt för att utröna hur parasiten smittar ett bete och hur länge den överlever i miljön.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Andersen, U. V., Howe D. K., Olsen S. N., & Nielsen M. K. (2013). Recent advances in diagnosing pathogenic equine gastrointestinal helminths: The challenge of prepatent detection. *Veterinary Parasitology*, 192, 1-9.
- Bracken, M. K., Wøhlk C. B. M., Petersen S. L., Nielsen M. K. (2012). Evaluation of conventional PCR for detection of *Strongylus vulgaris* on horse farms. *Veterinary Parasitology*, 184, 387-391.
- Cringoli, G., Rinaldi L., Veneziano V., Capelli G., & Scala A. (2004). The influence of flotation solution, sample dilution and the choice of McMaster slide area (volume) on the reliability of the McMaster technique in estimating the faecal egg counts of gastrointestinal strongyles and *Dicrocoelium dendriticum* in sheep. *Veterinary Parasitology*, 123, 121-131.
- ESCCAP. (2018). A guide to the treatment and control of equine gastrointestinal parasite infections. *ESCCAP Guideline 08 Second Edition - March 2019*, 2-29.
- EU-kommissionen (2006). KOMMISSIONENS DIREKTIV 2006/130/EG av den 11 december 2006 om genomförande av Europaparlamentets och rådets direktiv 2001/82/EG när det gäller fastställande av kriterier för undantag från kravet på veterinärrecept för vissa veterinärmedicinska läkemedel till livsmedelsproducerande djur, Tillgänglig: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-5/dir_2006_130/dir_2006_130_sv.pdf [2019-10-04]
- Kuzmina, T. A., Kuzmin, Y. I., Kharrchenko, V. A. (2006). Field study on the survival, migration and overwintering of infective larvae of horse strongyles on pasture in central Ukraine. *Veterinary Parasitology*, 141, 246-272.
- Lind Osterman, E., Höglund, J., Ljungström, B-L., Nilsson, O. & Ugglå A., (1999). A field survey on the distribution of strongyle infections of horses in Sweden and factors affecting faecal egg counts. *Equine Veterinary Journal*, 31, 68-71.
- Lindberg, R. (1976). Överlevnad av infektiösa larver av hästens strongylida nematoder i betesgräs. *Svensk Veterinärtidning*, 28, 509-515.
- Marinkovic, D., Sanja A.K., Krstic V. & Milijana K. (2009). Morphological findings in the cranial mesenteric artery of horses with verminous arteritis. *Acta Veterinaria-Beograd*, 59, 231-241.
- Mfitalodze, M. W. & Hutchinson, G. W. (1987). Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology*, 23, 121-133.
- Nielsen, M. K., Kaplan R. M., Thamsborg, S. M., Monrad J. & Olsen, S. M. (2007). Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. *The Veterinary Journal*, 174, 23-32.
- Nielsen, M. K., Peterson D.S., Monrad J., Tharnsborg S.M., Olsen S. N. & Kaplan R. M. (2008). Detection and semi-quantification of *Strongylus vulgaris* DNA in equine faeces by real-time quantitative PCR. *International Journal for Parasitology*, 38, 443-453.
- Nielsen, M. K. (2012). Sustainable equine parasite control: Perspectives and research needs. *Veterinary Parasitology*, 185, 32-44.
- Nielsen, M. K., Vidyashankar, A. N., Olsen, S. N., Monrad, J. & Thamsborg, S. M. (2012). *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms - Is it reemerging? *Veterinary Parasitology*, 189, 260-266.
- Nilsson, O. & Andersson, T. (1979). *Strongylus vulgaris* hos häst – epizootologi och profylax. *Svensk Veterinärtidning*, 31, 148-156.
- Osterman Lind, E. (2005). *Prevalence and control of strongyle nematode infections of horses in Sweden*. Diss. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet, (2005:29).

- Pilo, C., Altea, A., Pirino, S., Nicolussi, P., Varcasia, A., Genchi, M. & Scala, A. (2012). *Strongylus vulgaris* (Looss, 1900) in horses in Italy: Is it still a problem? *Veterinary Parasitology*, 184, 161-167.
- Reinemeyer, C. R. & Nielsen, M. K. (2009). Parasitism and colic. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 25, 233-245.
- Statens jordbruksverk (2007). *Hästens parasiter*. Tillgänglig: http://www2.jordbruksverket.se/webdav/files/SJV/trycksaker/Pdf_jo/JO07_18.pdf [2019-10-23]
- Statens jordbruksverk (2010). Föreskrifter om ändring i Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2009:84) om läkemedel och läkemedelsanvändning. (SJVFS 2010:17). Saknr D9. Tillgänglig: <https://www.jordbruksverket.se/download/18.795c224d1274198ffc280003523/2010-017.pdf>
- Statens veterinärmedicinska anstalt (2019). *Analys av parasiter i träckprov från häst*. Tillgänglig: <https://www.sva.se/analyser-och-produkter/analyser-av-djur-och-foder/hast/parasiter-i-trackprov-hast> [2019-11-05]
- Statens veterinärmedicinska anstalt (2018a). *Avmaskning av häst*. Tillgänglig: <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/avmaskning-av-hast> [2019-11-05]
- Statens veterinärmedicinska anstalt (2018b). *Invärtes parasiter (endoparasiter) hos häst*. Tillgänglig: <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/invartes-parasiter-endoparasiter-hast> [2019-11-05]
- Statens veterinärmedicinska anstalt (2018c). *Minska parasitsmitta i hagarna – Betesplanering och andra metoder*. Tillgänglig: <https://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/minska-parasitsmitta-i-hagarna-betesplanering-och-andra-metoder-hast> [2019-11-04]
- Statens veterinärmedicinska anstalt (2011). *SVAVET, tema diagnostik, nummer 3, 2011*. Tillgänglig: http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/1/svavet3_2011webb.pdf [2019-10-20]
- Taylor, M. A., Coop, R. L. & Wall R. L. (2007). *Veterinary Parasitology*. 2 ed. Oxford: Blackwell Publishing.
- Thorolfson Rainamo, H. (2018). *Mockning som beteshygienisk åtgärd för parasitbekämpning hos häst*. Sveriges lantbruksuniversitet. Hippologprogrammet (Examensarbete 2018).
- Tydén, E., Enemark, L. H., Franko, A. M., Höglund, J. & Osterman-Lind, E. (2019). Prevalence of *Strongylus vulgaris* in horses after ten years of prescription usage of anthelmintics in Sweden. *Veterinary Parasitology*, <https://doi.org/10.1016/j.vpoa.2019.100013>
- Wilderöth, H. (2019). *Förebyggande åtgärder för bekämpning av blodmask*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Examensarbete 2019)