

Klinisk effekt av subkutan ivermektinbehandling mot infektion med små blodmaskar (*Cyathostominae* spp.) hos isländska föl

**Clinical efficacy of subcutaneous treatment with ivermectin
against small strongyles (*Cyathostominae* spp.) in
Icelandic foals**



Isa Persson

*Uppsala
2020*

Klinisk effekt av subkutan ivermektinbehandling mot infektion med små blodmaskar (*Cyathostominae* spp.) hos isländska föl

Clinical efficacy of subcutaneous treatment with ivermectin against small strongyles (*Cyathostominae* spp.) in Icelandic foals

Isa Persson

Handledare: Eva Tydén, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Biträdande handledare: Frida Martin, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Behdad Tarbiat, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0869

Kursansvarig institution: Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2020

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

Omslagsillustration: Fotografi taget av Isa Persson

Nyckelord: endoparasit, häst små blodmaskar, cyathostominae, ivermektin, anthelmintikaresistens

Key words: endoparasite, horse, small strongyles, cyathostomes, ivermectin, anthelmintic resistance

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

SAMMANFATTNING

Alla betande hästdjur infekteras med endoparasiter. Behandling med avmaskningsmedel är en del i att kontrollera smittspridning och förhindra sjukdom av parasitär etiologi. *Cyathostominae* spp. (små blodmaskar) har ägnats mycket uppmärksamhet på senare år eftersom att prevalensen praktiskt taget är 100 % och många populationer av lilla blodmasken är resistenta mot två av tre verksamma anthelmintikasubstanser. Rapporter om resistens mot den sistnämnda substansen, makrocycliska laktoner (ML), finns från flera håll världen över, och nya behandlingsprogram har utformats i syfte att bevara ML:s effekt så länge som möjligt. På Island har avmaskning av hästar med bland annat ivermektin pågått i flera decennier. Den inhemska hästpopulationen har varit isolerad i 1100 år, vilket medför att även dess parasitpopulationer har varit det. Därför är eventuell resistens hos islandshästars parasiter intressant att studera då denna har utvecklats oberoende av genutbyte med parasitpopulationer från övriga världen. Syftet med detta examensarbete var att undersöka ivermektins effekt på lilla blodmasken hos naturligt infekterade föl på Island genom Modifierat McMaster-test och *faecal egg count reduction test* (FECRT). Tio gårdar medverkade i studien vilket resulterade i 85 provtagna föl varav 10 tillhörde en kontrollgrupp. Parprover togs i samband med att fölen avmaskades med subkutan injektion med ivermektin, respektive två veckor senare. En godtagbar behandlingseffekt av blodmask efter ivermektin har definierats som en minskning av äggurskiljningen med ≥ 95 %, då visar testen att resistens inte föreligger. Fyra av gårdarna exkluderades från studien eftersom att de inte uppfyllde inklusionskriteriet att minst fyra föl skulle urskilja > 100 epg vid första provtagningstillfället, detta resulterade i att sex gårdar inkluderades till analys av FECRT.

Resultatet blev att samtliga behandlade föl hade minskad äggurskiljning vid den andra provtagningen. Detta gäller inte kontrollgruppen, där sex av tio föl fick ökade epg-nivåer mellan provtagningarna och därav blev FECR endast 4,4 %. FECR blev 100 % hos två av gårdarna och 99,6 % hos en tredje gård, vilka alla innebär en god effekt. En gård hade FECR på 95,7 %, vilket ligger inom intervallet där resistens kan misstänkas (<98 %). De övriga två gårdarna låg under 95 % reducering, på 92,3 % respektive 87,6 %, vilka motsvarar kriterierna för en resistent parasitpopulation. Sammanfattningsvis visar resultatet att effekten överlag var hög och att det finns känsliga likväl resistenta parasiter hos det befintliga urvalet. Innan slutsatser dras måste andra orsaker till bristande behandlingseffekt tas i åtanke. Utöver detta var antalet provtagna individer få och slumpmässigt urval tillämpades ej, varför slutsatser om resistensläget mot ivermektin hos populationer av *Cyathostominae* spp. på Island i stort inte kunde dras. På 1990-talet gjordes en studie där förkortat *egg reappearance period* (ERP) uppmättes på isländska blodmaskar efter behandling med injektion med ivermektin. Det finns även en studie som visar att effekten av ivermektin är ofullständig vid parenteral administrering jämfört med oral tillförsel av ivermektin. Resultatet från studien tyder på att populationens tolerans har ökat sedan 1990-talet. Rekommendationen till hästägarna blir att bekräfta effekten av vald avmaskning med FECRT och i de fall där den är bristfällig avråds parenteral administration av ivermektin för att förhindra fortsatt selektion för resistens. Förutom att optimera behandlingsregimer för den isländska hästnäringen, kan fortsatt forskning på resistensläget på Island öka förståelsen för förvärvandet av resistensgener hos parasiter.

SUMMARY

All grazing horses are infected with endoparasites. Treatment with anthelmintic drugs is a part of prevention of infection and illness of parasitical etiology. In recent years, *Cyathostominae* spp. (small strongylids) have received attention, since the prevalence is almost 100% and resistance to two out of three anthelmintic drug classes has developed among many parasite populations. Reports of resistance against the last drug class, macrocyclic lactones, are also increasing and for that reason, new guidelines for deworming programmes have been developed in order to maintain the efficacy of the existing substances. On Iceland, deworming of horses has consisted of subcutaneous injection of ivermectin for several decades. The domestic population of horses have been isolated for approximately 1100 years, which also include the isolation of their parasites. Hence, eventual resistance among Icelandic horse's parasites has developed independently from genetic exchange with other parasite populations.

The aim of this thesis was to investigate the effect on the small bloodworm in naturally infected Icelandic foals treated with subcutaneous injection with ivermectin, using the McMaster Test and *faecal egg count reduction test* (FERCT). Ten farms with 85 foals including 10 foals belonging to a control group participated in the study. Paired samples were collected at the event of deworming and two weeks later, respectively. An acceptable drug efficacy after treatment of bloodworms with ivermectin is 95%. Because of the inclusion criteria four farms were excluded since they had less than four foals that excreted >100 epg on the first sampling occasion. This resulted in six farms to be included in the FECRT.

All foals had a decreased egg excretion at the second sampling. This did not apply to the control group where the FECR was only 4,4% due to an increase of epg excretion in six out of ten foals. Two farms had FECR of 100% and one farm 99,6%. Another farm had a reduction of 95,7% which entails that resistance could be suspected (<98%). The last two farms had less than 95% reduction and thus met the criteria for resistance at 92,3% and 87,6%, respectively. In summary, the results show a high efficacy of ivermectin, but nonetheless criteria for resistance were met at two farms. Before conclusions can be drawn, other reasons for lack of therapeutic effect must be taken into consideration. Furthermore, the number of sampled foals was low and the selection of participating farms was not randomized. Therefore, conclusions of the status of resistance in *Cyathostominae* spp. on Iceland could not be made. In the 1990's a study was conducted on Iceland where a shortened *egg reappearance period* (ERP) for treatment with ivermectin as injection was found. Another study found that the efficacy of parenterally administered ivermectin in cyathostomins was lower compared to orally administered ivermectine. The result of the study indicates that the tolerance in the population has increased since the 1990's. Therefore, the recommendation to horse owners is to confirm the efficacy of the chosen anthelmintic treatment with FECRT and if the result is insufficient, parenteral administration is dissuaded to prevent further selection of resistance genes. Beyond improving the treatment regimens for the Icelandic horse community, further research can improve the understanding of the mechanisms of anthelmintic resistance in a bigger context and hopefully find ways to prevent its development.

INNEHÅLL

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
<i>CYATHOSTOMINAE</i> SPP.	2
Taxonomi	2
Livscykel	2
Patogenes och symptom	3
Klinisk betydelse	3
Diagnos	4
BEHANDLING MED ANTHELMINTIKA	4
Makrocycliska laktoner	4
Dagens riktlinjer för parasitkontroll	5
RESISTENS MOT ANTHELMINTIKA	6
Definition	6
Detektion av resistens	6
Cyathostominer och resistens	6
BETESSTRATEGIER	7
MATERIAL OCH METODER	7
STUDIEDESIGN	7
PROVMATERIAL	7
ENKÄT	8
ANALYS	8
EPG	8
FECRT	9
RESULTAT	9
ENKÄT	9
EPG	9
FECRT	10
DISKUSSION	11
KONKLUSION	15
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	16
BAKGRUND	16

RESULTAT OCH KOMMENTARER	17
REFERENSER	19
BILAGA 1 – ENKÄT	I

INLEDNING

Alla hästar som betar gräs infekteras med endoparasiter (SVA, 2019). En del i att erhålla god parasitkontroll och förebygga sjukdom av parasitär etiologi är att behandla hästen med avmaskningsmedel (Höglund 2017). Hästens endoparasiter har en stor diversitet i livscykel, patogenicitet och känslighet för olika avmaskningsmedel, vilket innebär en utmaning vid utformandet av ett hållbart antiparasitärt behandlingsprogram (Nielsen *et al.*, 2010). När anthelmintikagruppen benzimidazoler blev tillgängliga på marknaden på 1960-talet, som var säkra att använda och hade breda spektrum, blev rekommendationen till hästägare att avmaska var 8:e vecka (Kaplan & Nielsen, 2010). Motivationen för en så frekvent avmaskning var att kontrollera *Strongylus vulgaris* (stora blodmasken), med målsättningen att behandla innan ägg utsöndrades till betesmark och miljö. Kontrollen av *S. vulgaris* lyckades (Nielsen *et al.*, 2019), men konsekvensen blev en ökad förekomst av resistens hos andra ekvina parasiter (Kaplan & Vidyashankar, 2012; Nielsen *et al.*, 2019;). Resistens har i synnerhet selekterats fram hos populationer av *Cyathostominae* spp. (lilla blodmasken) och *Parascaris* spp. (spolmask) (Nielsen *et al.*, 2019). Det här visar att rutinemässig behandling inte är hållbart, utan måste ändras till nya alternativ (Kuzmina, 2016; Nielsen *et al.*, 2019).

Sedan problematiken med *S. vulgaris* minskade har lilla blodmaskens signifikans istället uppmärksamats (Love *et al.*, 1999). I praktiken är alla hästar exponerade för parasiten vid något tillfälle och det finns de individer som drabbas av livslång infektion (Matthews, 2008). I relation till andra parasiter är det en mycket mild patogen, men följderna av en kraftig manifestation är inte att förakta (Nielsen *et al.*, 2019). Därför är lilla blodmasken idag kliniskt sett betraktad som hästens primära parasitära patogen (Love *et al.*, 1999; Österman Lind *et al.*, 2007; Matthews, 2008; Corning, 2009; Kuzmina, 2016;).

Islandshästens bakgrund är inte helt känd, men forskarna är överens om att den mest troliga teorin är att de kom till Island med vikingarna för 1100 år sedan och att de har varit isolerade sedan dess (Hreidarsdóttir *et al.*, 2014). Det innebär att islandshästarna har varit isolerade en längre tid än vad antiparasitära substanser har förekommit och att inga resistent parasiter har importerats, utan att eventuell resistens har utvecklats oberoende av andra parasitpopulationer. Därför är resistens mot anthelmintika intressant att studera på isländska hästar. I det här examensarbetet ska effekten av subkutan injektion av ivermektin på *Cyathostominae* spp. undersökas hos isländska föl.

Syfte och frågeställningar

Syftet med examensarbetet var att utvärdera den kliniska effekten av subkutan injektionsbehandling med ivermektin mot *Cyathostominae* spp. hos isländska föl.

LITTERATURÖVERSIKT

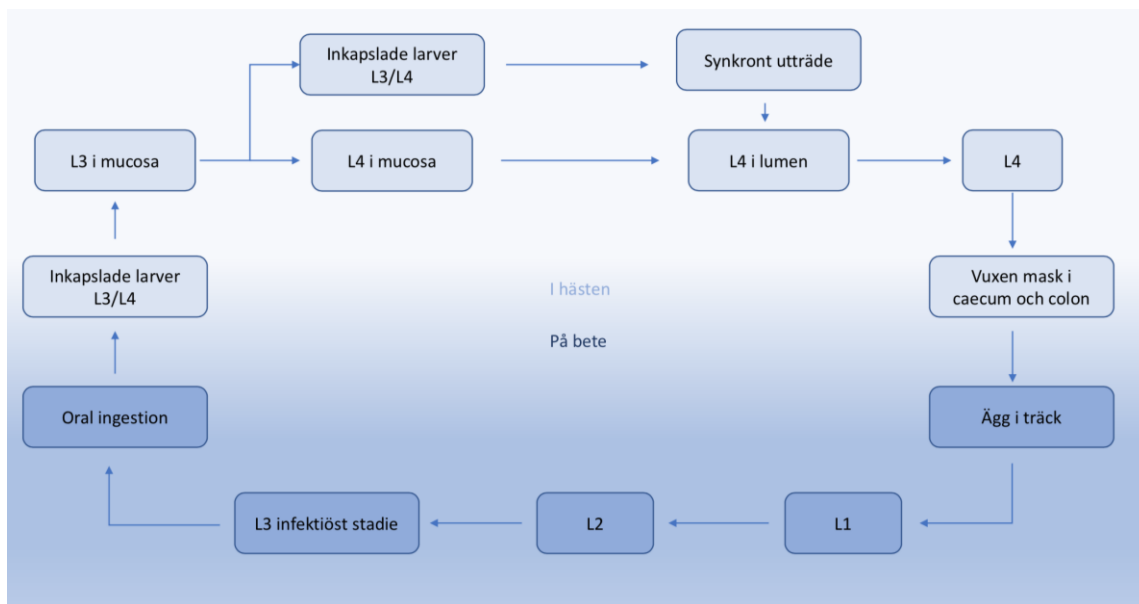
Cyathostominae spp

Taxonomi

Strongylida nematoder är hästens största och mest mångfaldiga parasitgrupp. Den kan delas in i stora strongylider (stora blodmaskar) och små strongylider (små blodmaskar), även benämnda *Cyathostominae* spp. (Greiner, 2008). De flesta arterna inom *Cyathostominae* spp. mäter mellan 1-1,5 cm i längd och 1 mm i diameter (Nielsen *et al.*, 2014) och livscyklarna är snarlika vilka inkluderar inkapsling av larvstadier i grovtarmen (McWilliam, 2010). Inom underfamiljen *Cyathostominae* spp. finns mer än 50 dokumenterade arter och 10 av dessa tillhör de vanligast förekommande (Lyons, 1999; Corning, 2009).

Livscykel

Cyathostominae spp. har en direkt livscykel (Matthews, 2008), se figur 1. Larver av det tredje stadiet (L3) intas oralt från betesgräs och därefter penetrerar de mucosan i caecum, ventrala colon och i viss utsträckning dorsala colon. Inom ungefär 1-2 veckor kapslar larverna in sig i vävnaden genom att en fibrös kapsel bildas runt dem. All tillväxt och utmognad av larver sker i cystor i mucosa eller submucosa. L3-larverna utvecklas till sena L3-larver, tidiga L4-larver och slutligen sena L4-larver som tränger ut genom cystorna till tarmens lumen och slutför sin utveckling till en adult och könsmogen nematod (Nielsen *et al.*, 2014). I tarmen lägger honorna ägg som utsöndras med träcken. Äggen kläcks på betet och utvecklas från L1-larver till det infektiösa L3-stadiet som migrerar ut till betet från träckhögen (Matthews, 2008).



Figur 1. Små blodmaskars direkta livscykel, avtecknad efter referens från Corning (2009).

Livscykeln kan variera i tid mellan 5-6 veckor upp till 2,5 år. Detta möjliggörs om larver i tidigt L3-stadie fördröjer sin utmognad och förblir inkapslade (Nielsen *et al.*, 2014). Det här fenomenet har en stor betydelse för utvecklingen av sjukdomen larval cyathostominos (Matthews, 2008; McWilliam *et al.*, 2010), se nedan. Under sen vinter och tidig vår, under tempererade klimatförhållanden, lämnar en stor andel av L4-larverna samtidigt tarmslemhinnan

för att utvecklas till vuxna maskar som reproducerar sig vilket kan resultera i plötsligt höga epg-nivåer hos hästen (Nielsen *et al.*, 2014).

Optimala förhållanden för kläckning av äggen och utveckling av de första larvstadierna (L1-L3) är tillräcklig luftfuktighet (>24 %), temperatur över 8 °C samt tillgång på syre. Hur snabbt äggen kläcks förhåller sig direkt till lufttemperaturen. Den snabbaste möjliga tiden mellan passage av ägg och infektiöst L3-stadie är en vecka under optimala miljöförhållanden. De infektiösa L3-larverna är täckta med ett skyddande membran (Corning, 2009), som gör dem väldigt motståndskraftiga och kan överleva kalla väderförhållanden i upp till 6-9 månader (Corning, 2009; Nielsen *et al.*, 2014), men utveckling av tidigare larvstadier än så går enormt långsamt under vinterförhållanden (Nielsen *et al.*, 2014). Det här innebär att hästar mycket väl kan infekteras på bete under vintersäsongen men ingen kläckning av ägg likväl utveckling av infektiösa larver sker ej (Nielsen *et al.*, 2014).

Patogenes och symptom

Vid invasion av slemhinnan orsakar L3-larver inflammation i caecums och ventrala colons mucosa. Efter ett par veckor kapslar kroppen in larven i syfte att skydda hästen från parasitära biprodukter, men detta får även effekten att larven isoleras från värdens inflammatoriska och immunologiska svar. Så länge cystan är intakt kan nästintill ingen inflammation observeras i kringliggande vävnad. Senare, när cystan brister vid larvernas utträde, exponeras frisk vävnad för biprodukter som har ackumulerats från larven vilket leder till tyflit och colit. I vävnaden ses ödem, blödningar, blodstockning som medför vätskeläckage till grovtarmens lumen samt proteinförlorande tarmsjukdom (protein losing enteropathy). Allvarlighetsgraden är direkt korrelerad till antalet larver som utträder samtidigt. (Nielsen *et al.*, 2014).

Strongylos manifesteras som viktförlust, dålig tillväxt, nedsatt prestation, ruggig hårrem och generell försvagning (Nielsen *et al.*, 2014) och beror ofta på att ett stort antal adulta maskar i tarmen (Corning, 2009). Parasiten kan också orsaka så kallad larval cyathostominos, som uppträder mer frekvent hos unga individer (McWilliams *et al.*, 2010; Peregrine *et al.*, 2014). Syndromet är säsongsbundet till senvintern eller tidig vår när parasiterna återupptar sin utveckling inför kommande betessäsong (Corning 2009; Nielsen *et al.*, 2014). En annan orsak tros vara eliminering av luminala stadier efter avmaskning eftersom det stimulerar L4-larver att lämna cystorna i tarmens mucosa (Elsheika & Hallowell, 2014). Det är ett mycket allvarligt tillstånd med snabbt insättande som ger ett kolitsyndrom som karakteriseras av hastig viktförlust, ödem, kraftig diarré, markant hypoproteinemi och passage av synliga maskar i träcken (Matthews, 2008; Nielsen *et al.*, 2014). Mortaliteten kan bli så hög som 50 % (Stratford *et al.*, 2011; Nielsen *et al.*, 2014) även om hästarna får korrekt veterinärmedicinsk vård (McWilliams *et al.*, 2010).

Klinisk betydelse

Arter tillhörande släktet *Cyathostominae* spp. infekterar alla slags betande hästdjur (McWilliam *et al.*, 2010) och prevalensen är praktiskt taget 100 % i en hästpopulation (Lyons 1999), oberoende av skillnader i klimat eller djurhållning (Corning, 2009). På grund av dess prevalens har små blodmaskar möjlighet att orsaka betydande sjukdom hos hästar (Österman Lind *et al.*, 2007; Corning, 2009). De kliniska tecknen för cyathostominos är ospecifika vilket komplicerar

kartläggandet av prevalensen av kliniska likväl som subkliniska fall (Elsheika & Hallowell, 2014). I normalfallet utvecklas ingen effektiv immunitet mot små blodmaskar utan hästar i alla åldrar är mottagliga för infektion (McWilliams *et al.*, 2010), men unga individer bär i regel på högre parasitbörda än vuxna, vilket indikerar att exponering för parasiten genererar immunitet i någon grad (Lyons, 1999).

Diagnos

Diagnos av blodmask görs genom mikroskopisk undersökning av faeces genom modifierat McMaster test. Det är en kvantitativ metod som bygger på en koncentrationsteknik där antalet ägg per gram faeces (*egg per gram*, epg) erhålls. Viktigt att beakta är att antalet strongylida ägg inte speglar antalet parasiter som finns hos värdjuret (Nielsen *et al.*, 2014), utan speglar hur många adulta parasiter som finns hos värdjuret eftersom larvstadier inte kan detekteras med denna metod (Elsheika & Hallowell, 2014).

Det är omöjligt att skilja på ägg från stora respektive små strongylider, eftersom att samtliga arters ägg är homogena. Vid blandinfektioner är upp till 95 % av äggen producerade av arter tillhörande *Cyathostominae* spp.. men för att fastställa till vilken art äggen hör kultiveras L3-larver. Detta sker genom att faeces hålls tempererad, fuktig och syresatt under 10-14 dagar, därefter kan larverna undersökas och artbestämmas genom morfologisk identifiering under mikroskop. (Nielsen *et al.*, 2014)

Behandling med anthelmintika

Från och med 1940-talet började kommersiella anthelmintika komma ut på marknaden. Det kom ett nytt preparat vart 10:e år fram till 1980-talet. Av de preparat som diskuteras i den här uppsatsen enligt följande: benzimidazoler 1960, pyrantel på 1970-talet samt makrocycliska laktoner under 80-talet, av totalt 6 läkemedelsgrupper av antiparasitär art. Under 80-talet fanns det flest tillgängliga preparat på marknaden, men sedan 90-talet har de minskat drastiskt. (Lyon, 1999)

Makrocycliska laktoner

Det som har kännetecknat makrocycliska laktoner (ML) sedan de introducerades till marknaden är dess säkerhet för patienten, enkelhet att administrera och anmärkningsvärda breda spektrum mot flertalet endoparasiter likväl ectoparasiter (Prichard *et al.*, 2012). Det gör substansgruppen till en hörnsten inom modern parasitkontroll både inom veterinär- och humanmedicin (Prichard *et al.*, 2012).

Verkningsmekanismen är att ML blockerar glutamatberoende kloridkanaler hos muskelceller och neuron i parasitens pharynx. Glutamat och ML verkar inhiberande på kloridkanalerna som medför ett ökat flöde av kloridjoner, vilket paralyserar muskulaturen kring pharynx varpå födointaget förhindras. Även somatisk muskulatur hos larvstadier samt aduler paralyseras, dock i lägre utsträckning än i pharynxområdet. De huvudsakliga substanserna ur den här gruppen är ivermektin och moxidectin. De är närbesläktade och delar samma kemiska struktur, d.v.s. den makrocycliska ringstrukturen som gör att de också delar verkningsmekanism. En liten strukturell skillnad i form av placeringen av en sidokedja (Prichard *et al.*, 2012) gör

moxidectin mer potent och adderar effekt mot inhiberade larvstadier i tarmmucosan, vilket ivermectin saknar (Sangster, 1999).

ML är stabila molekyler i miljön, kan administreras i relativt låga doser och är starkt hydrofoba, vilket har bidragit till den uppsjö av beredningsformer som finns att tillgå (Prichard *et al.*, 2012). I Sverige finns ivermectin och moxidectin för häst registrerat i form av oral pasta. Ivermectin finns också som en oral lösning samt tuggtablett (FASS, 2012; FASS, 2014). Utöver orala beredningar finns ivermectin i form av pour-on lösning och injektionslösning, dock finns dessa enbart registrerade för svin och nötkreatur (Prichard *et al.*, 2012). Den rekommenderade dosen, oavsett beredningsform, är 0,2 mg/kg kroppsvikt (FASS, 2012; Prichard *et al.* 2012; FASS, 2014; FASS, 2016; FASS, 2019).

Dagens riktlinjer för parasitkontroll

Idag ska parasitkontrollens målsättning vara att bevara befintliga substansers antiparasitära effekt (Matthews, 2008), minska risken för parasitärt orsakad sjukdom och kontrollera urskiljningen av ägg (Nielsen *et al.*, 2019). En fundamental förutsättning för att uppnå optimal parasitkontroll är att regelbundet analysera avföringsprover från individuella hästar, detta eftersom att immunförsvaret mot parasiter är höggradigt variabelt mellan olika individer (Nielsen *et al.*, 2019). Inom Sverige och EU är all förskrivning av anthelmintika till livsmedelsproducerande djur receptbelagd sedan 2007. Detta minskar sannolikt användningen av medlen och förebygger resistensutveckling (SVA, 2016).

Det dröjer tills hästen är vuxen innan dess immunförsvaret mot endoparasiter är fullt utvecklat (Reinemeyer & Nielsen, 2017), vilket leder till att föl och unghästar är mer mottagliga för infektion och mer benägna att utveckla parasitär sjukdom (Nielsen *et al.*, 2019). Det är anledningen till varför den här ålderskategorin råds att avmaskas mer frekvent (Osterman Lind, 2007). SVA och AAEP (American Association of Equine Practitioners) rekommenderar att föl ska avmaskas 3-4 gånger under det första levnadsåret (Osterman Lind, 2007; Nielsen *et al.*, 2019). Alla föl betraktas som infekterade med spolmask, därför avmaskas de med fenbendazol eller pyrantel vid 8-10 veckor och 16-18 veckors ålder (Osterman Lind, 2007; SVA, 2018). På hösten gruppbehandlas fölen utefter träckprovsundersökning, behandlingen selekteras mot spolmask och/eller blodmask. Ytterligare en analys av träck görs under senvintern och beslut om en eventuellt fjärde behandling görs utifrån resultatet (Osterman Lind, 2007).

Den vuxna hästens parasitkontroll bygger selektiv avmaskning (Osterman Lind, 2007), vilket innebär att de hästar med stor potential att kontaminera betesmarken identifieras och behandlas (SVA, 2018). Hästens endogena försvar mot parasiter är höggradigt variabelt mellan olika individer (Nielsen *et al.*, 2019) varför de hästar som har mer än sparsam förekomst av strongylida ägg (>200 epg) väljs ut för behandling (Osterman Lind, 2007). Indikationen för avmaskning av friska hästar i Sverige är i första hand förekomst av blodmask och/eller spolmask (Osterman Lind, 2007). Vid påvisande av bandmask eller stor blodmask rekommenderas avmaskning oavsett epg-nivå (SVA, 2018). SVA (2016) rekommenderar träckprovsanalys i april och understryker att den viktigaste avmaskningen sammanfaller med den tidpunkten; före betessläpp. Det är även på våren som överföring av smitta är som störst (Nielsen *et al.*, 2019). Eventuellt kan ett uppföljande träckprov tas efter substansens gällande

egg reappearance period (ERP) (SVA, 2016), i synnerhet hos de grupper med individer mellan 1-5 års ålder (Osterman Lind, 2008). AAEP rekommenderar att behandla alla hästar mot blodmask minst en gång per år och gärna en andra behandling på hösten som är effektiv mot intramurala stadier av små blodmaskar (Nielsen *et al.*, 2019). Både AAEP och Osterman Lind (2007) rekommenderar att behandlingen utvärderas med jämna mellanrum eftersom att ingen substans kan garanteras att ha fullgod effekt. Av samma anledning råder även Osterman Lind (2007) att rotera, säsongsvis eller med ett par års mellanrum, mellan de substanser som har indikation mot blodmask (ML och pyrantel).

Resistens mot anthelmintika

Definition

En parasitpopulation anses vara resistent när en stor andel av individerna, som normalt sett påverkas av en koncentration eller dos av en substans, inte längre påverkas, alternativt att en högre dos av medlet krävs för att uppnå likartad effekt (Matthews, 2008).

Detektion av resistens

FECRT är den metod som är gold standard för att detektera resistens (Kaplan & Vidyashankar, 2012). Metoden är enkel att genomföra under förutsättning att det vid studiens start finns ett stort antal hästar som urskiljer ägg (Osterman Lind *et al.*, 2007). Metoden bygger på att ett nollprov tas innan avmaskning för analys av FEC, därefter görs en uppföljande äggräkning 10-14 dagar efter avmaskning. Den procentuella minskningen i äggurskiljning, FECR, för varje individ beräknas med hjälp av en ekvation, se figur 2. Värdet som erhålls används för att bedöma om det föreligger resistens hos parasiterna som den testade individen eller besättningen bär på (Nielsen *et al.*, 2019).

$$\frac{EPG(\text{före behandling}) - EPG(14 \text{ d efter behandling})}{EPG(\text{före behandling})} \cdot 100 = FECR$$

Figur 2. Formel för uträkning av FECR, från Nielsen *et al.* (2019).

Idag definieras en population små blodmaskar resistent mot ivermektin om minskningen i äggurskiljning är mindre än 95 % av nollprovet och vid effekter mellan 95-98 % ska resistens hos populationen misstänkas (Nielsen *et al.*, 2019). Coles *et al.* (1992) har utformat två kriterier som ska uppfyllas för att resistens mot en substans kan fastställas. Om endast ett kriterium uppfylls kan resistens bara misstänkas. 1) Minskning i äggurskiljning understiger 95 % och 2) den lägre begränsningen av 95 % konfidensintervall understiger 90 %.

Cyathostominer och resistens

Resistens mot anthelmintika hos cyathostominer är väldokumenterad och det förväntas att det åtminstone finns någon grad av resistens mot en eller flera läkemedelsklasser i samtliga hästbesättningar (Nielsen *et al.*, 2014). Den mest spridda resistensen hos Cyathostominae spp. är mot benzimidazol följt av pyrantel och därefter makrocycliska laktoner, däremot har

makrocycliska laktoner historiskt varit den mest använda substansen (Peregrine *et al.*, 2014). På senare år har även resistens mot ML rapporterats från Storbritannien, Finland, Italien och Brasilien (Peregrine *et al.*, 2014). AAEP tog fram en översiktlig tabell för vilka läkemedelsklasser som är verksamma mot gruppen (Nielsen *et al.*, 2019), se tabell 1. Observera att värdena är baserade på de förhållanden som råder i Nordamerika.

Tabell 1. *Cyathostominers känslighet för respektive substansgrupp (Nielsen et al., 2019)*

Substans	Resistens
Benzimidazol	Utbredd
Pyrantel	Vanlig
Ivermektin	Tidiga indikationer

Betesstrategier

Strategier för parasitkontroll i miljön, eller betesstrategier, innefattar de metoder som på något sätt påverkar ägg och/eller larvstadier i miljön och är ett komplement till de substanser som används som avmaskningsmedel (Lyons, 1999; Höglund, 2017). Vilken metod som tillämpas måste baseras på de lokala klimatförhållanden som råder (Nielsen *et al.*, 2019). Som exempel; en strategi att undfly parasitsmittan på ett betesfält är att använda betesrotation och låta det stå tomt under en bestämd tid (Lyons, 1999; Höglund, 2017; Nielsen *et al.*, 2019). Men vilket tidsspänn som krävs är starkt varierande då L3 larver kan överleva upp till 6 till 9 månader under kalla väderförhållanden, men enbart från ett par dagar till veckor vid temperaturer på 40 °C (Nielsen *et al.*, 2019). En variant av betesrotation är att låta flera djurarter dela betesmark, antingen genom sam- eller växelbete (Lyons, 1999; Höglund, 2017). Utöver att betet får vila, ingesteras larver av en annan art än dess värdjur och elimineras på så sätt från betesmarken (Lyons, 1999). Ett mer konkret sätt att eliminera ägg är att avlägsna träck från betet (Lyons, 1999). En studie från England 1986 visade att mockning av betesmark två gånger i veckan var en mer effektiv metod för att minska kontaminationen än att använda avmaskningsmedel (Nielsen *et al.*, 2019).

MATERIAL OCH METODER

Studiedesign

Försökets upplägg var en fall-kontroll studie i form av en fältstudie. Träckprover samlades från föl och ston från hästgårdar belägna i norra, nordvästra och sydvästra Island vid tidpunkten för avmaskning och två veckor därefter. Urvalet av hästgårdar gjordes av kontaktpersoner på Island, för att praktiskt möjliggöra behandling och provtagning. Valet av avmaskningsmedel gjordes av den lokala veterinären. På Keldur (Institute for Experimental Pathology) analyserades träckproverna med FECRT. Resultaten analyserades med hjälp av beräkning på websidan Shiny (Swiss National Science Foundation, 2018), se FECRT nedan.

Provmaterial

Träckprover till försöket samlades in från 10 olika gårdar vid två tillfällen från totalt 85 föl. Fölen var födda mellan slutet på maj och slutet på augusti 2019 och kom från hästgårdar som

årligen bedriver hästavel med ett totalt antal djur mellan 40 till 120 individer. Provtagningarna ägde rum vid tillfället för avmaskning av fölen, samt 10-14 dagar därpå. Undantaget för 10 av fölen som ingick i en kontrollgrupp, de här individerna skulle slaktas och avmaskades således ej. Träckprover togs från kontrollgruppen 21 dagar efter det första provtagningstillfället, vilket var tidpunkten för slakt. Avmaskning av föl ägde rum mellan 30 september och 15 oktober 2019. Det sista uppföljande träckprovet inträffade den 27 oktober 2019.

Vid provtagning plockades en liten näve avföring från marken, omedelbart efter att ett föl defekerat, och överfördes till en försluten plastpåse som märktes upp med ett individnummer. Alternativt togs provet rektalt, men generellt erhöles då en mycket liten mängd avföring, varför den förstnämnda metoden användes i allra störst utsträckning. Proverna förvarades kylt i en kylväska med frysklampor och därefter i kylskåp. Senast 36 timmar efter provtagningen analyserades proverna.

Avmaskningen bestod av 4 ml (0,2 mg/kg) Ivomec® (10 mg/ml) (Boeringer-Ingelheim), som injicerades subkutant i halsen. Stona avmaskades vid samma tidpunkt som fölen, varför fölen även tillfördes ivermektin peroralt via stomjölken. Samtliga behandlingar utfördes av isländska veterinärer. Läkemedlet finns registrerat för nötkreatur och svin.

Enkätfrågor

Information angående djurhållningen samlades genom att djurägaren på gården fick svara på enkätfrågor. Enkätens utformning finns i bilaga 1.

Analys

EPG

4 gram träck vägdes upp och tillsattes till 56 ml vatten i en rostfri stål-kammare. Innehållet blandades i en Sorvall® omnimixer i ca 1500-2000 rpm under 30-60 sekunder. Blandningen silades av varpå de större partiklarna kasserades och av den silade vätskan hälldes knappt 10 ml upp i ett centrifugrör av glas. Vätskenivån markerades med en spritpenna och därefter centrifugerades vätskan i en Tabletop Laboratory Centrifuge från Thermo Scientific Jouan Inc., under 5 minuter i 2000 rpm. Supernatanten kasserades och röret med sedimentet fylldes upp med mättad magnesiumsulfatlösning (specifik vikt 1,225 g/ml) (Fasol® från Kruuse, Langeskov, Danmark) till den ursprungliga vätskenivån. Med hjälp av en pasteurpipett blandades lösningen noga innan den överfördes till två McMaster-kammare. McMaster-kamrarna tilläts vila i 2 minuter innan de undersöktes under mikroskop i 4 gångers förstoring. Antalet ägg från blodmask räknades i hela kammaren vilket ger en lägsta detektionsgräns på 7,5 epg. Det totala antalet blodmaskägg multiplicerades med koncentrationsfaktorn 7,5 för att erhålla antalet ägg per gram träck (epg). Samma procedur upprepades för samtliga prover.

Några prover innehöll mindre än 4 g träck. När detta inträffade blandades den träck som fanns att tillgå, ut med 14 ml vatten per gram träck.

FECRT

FECRT beräknades gårdsvis respektive kontrollgruppen för sig. Inklusionskriterierna för de individer som användes i beräkningen var att minst 4 föl från respektive gård skulle ha epg > 100, med undantag för kontrollgruppen. Det här gav 47 prover för beräkning samt kontrollgruppen om 10 prover.

För analys av den insamlade datan användes ett web-baserat program av Swiss National Science Foundation (2018), som har utvecklats av litteraturen av Torgerson et al. (2014).

RESULTAT

Enkätfrågor

Av information som insamlades genom enkät framkom följande. Gårdarna som medverkade i studien hade 40-120 hästar samt mellan 4-47 föl. Samtliga gårdar grupperar hästarna så att avelsston och föl går enskilt. På 4 av 10 gårdar går även unghästar upp till 2 år tillsammans med avelsstona. Samtliga föl har tillgång till bete året runt och avelsston samt föl från 6 gårdar delar bete med hästar från andra besättningar på sommarbetet. Betesmarker tillhörande gårdarna, exklusive tillgängliga arealer under sommarbetet, var i storleksordningarna 9-1000 hektar. På alla gårdarna behandlades samtliga djur med ivermektin subkutant. På 7 gårdar behandlades fölen 1 gång per år, på hösten. Hos resterande 2 gårdar gjordes avmaskning även på våren, varav en gård valde att behandla med pyrantel vid detta tillfälle. En gård uppgav att de ger fölen en andra avmaskningsbehandling ”vid behov”. De flesta av gårdarna har använt ivermektin historiskt, i upp till 35 år. Två gårdar har använt fenbendazol och två gårdar har använt pyrantel tidigare. Nu uppger de att ivermektin som injektionslösning underlättar avmaskningsproceduren som tar några timmar istället för flera dagar om de istället skulle ge samtliga hästar oral pasta. På frågan om vilka parasiter som de tyckte var viktigast kom varierande svar. Fyra gårdar uppgav pälslus, tre uppgav spolmask och tre angav stor blodmask. Ingen av gårdarna har någonsin analyserat träckprov för analys av vilka parasiter som förekommer i besättningen och i vilken omfattning. Mockning av betesmarker inträffade inte på någon gård förutom på gård 1. På 5 av gårdarna sprids obrunnen hästgödsel på betesmarkerna.

EPG

Följande information gäller samtliga föl som provtogs i försöket, det vill säga hela stickprovet, ej endast de prover som inkluderades till uträkningarna nedan. På samtliga gårdar förekom både föl som urskilde <100 epg till de föl som urskilde några hundra ägg per gram träck. Totalt 4 föl av 85 provtagna hade vid första provtagningen 0 epg. Dessa föl kom från gård 1, 4, 10 samt kontrollgruppen och var 1,5 månad, 2 månader, 2 månader och 4-5 månader gamla. Hos 32 föl påvisades minst måttlig förekomst eller mer, d v s >200 epg, 14 av dessa individer var 4-5 månader, 17 var 3 månader och 2 var 2 månader gamla. Gård 1 som hade högst medeltal för äggurskiljning innan behandling hade 3 föl som hade >500 i epg. På gård 7 var epg < 100 för alla fyra föl som var födda mellan 27 maj – 10 juni. Det föl som hade högst epg kom från gård 1, hade 1770 epg och var 3 månader gammal. Vid den andra provtagningen hade samtliga föl ingen äggurskiljning eller sparsam förekomst. I kontrollgruppen som inte behandlades hade 6 av 10 föl ökat sin äggurskiljning till andra provtagningen varav 5 låg över 200 epg. Tabell 2

visar relevant information om medel- och maxvärden i epg-nivåer före och efter avmaskning samt antalet föl från varje gård och deras ålder.

Tabell 2. Visar information om gårdarna som inkluderades till FECRT, var på Island respektive gård är belägen, antal föl och deras ålder vid första provtagningsstillfället, samt hur epg ändrades mellan den första (pre) och andra (post) provtagningen. *: Antal föl där ägg i träcken påvisades vid andra provtagningen

Gård	Region	Antal föl	Ålder	Medel epg pre	Medel epg post	Max epg pre	Max epg post	*
1	W	6	2-5 mån	562	0,04	1770	0	0
2	N	7	4-5 mån	272	21	585	120	4
3	NW	4	2-4 mån	360	46	975	180	1
4	N	6	3-4 mån	308	0,03	510	0	0
5	N	8	3-5 mån	276	1,2	368	8	1
6	N	7	3-5 mån	324	13	735	98	1
Kontroll	N	10	4-5 mån	227	211	810	638	9

FECRT

Inklusionskriterierna gjorde att 4 gårdar föll bort, eftersom det var för få prover som vid första provtagningen hade epg > 100. Detta medförde att 28 parprov från gård 1-6 fanns kvar för beräkning av FECR. I tabell 3 visas FECR och 95 % konfidensintervall.

Av proverna som insamlades minskade epg efter avmaskning hos 72 individer (96 %) och hos 52 individer (79 %) hade äggurskiljningen gått ner till 0. Hos 3 individer (4 %) ökade epg mellan provtagning 1 och 2. I kontrollgruppen minskade epg hos 4 individer (40 %) varav en som inte urskiljde några ägg alls vid andra provtagningen. Hos resterande 6 individer (60 %) ökade äggurskiljningen mellan första och andra provtagningen.

Tabell 3. Resultat av FECRT hos gård 1–6 samt kontrollgrupp

Gård	FECR	Konfidensintervall (95 %)
1	100 %	0,999-1
2	92,3 %	0,912–0,935
3	87,6 %	0,857–0,895
4	100 %	0,98-1
5	99,6 %	0,992–0,998
6	95,7 %	0,948–0,965
Kontroll	4,4 %	0,013-0,089

DISKUSSION

Baserat på beräkningar som gjordes från de 6 gårdar som inkluderas i FECRT, hade behandlingen 100 % effekt på gård 1 och 4 samt 99,6 % på gård 5. Med den uppsatta definitionen för resistens kunde resistens misstänkas på gård 6 eftersom medel FECR var i spannet 95–98 % (95,7 %). På gård 2 och 3 var FECR 92,3 % respektive 87,6 %, vilket innebär att resistens är ytterst sannolik. Effekten av utebliven behandling hos kontrollgruppen gav 4,4 % i FECR där sex av tio föl hade mer än måttlig förekomst av ägg i träcken, ≥ 200 epg. De föl som urskilde måttliga nivåer epg tenderade att vara i åldersspannet 3-5 månader, men de föl som hade mest respektive minst äggurskiljning kunde inte kopplas till någon särskild åldersgrupp, vilket kan tolkas som en individuell skillnad i mottaglighet för infektion. Jämfört med kontrollgruppen hade ivermektin en tydlig klinisk effekt på små blodmaskars äggurskiljning. Resultaten visade att ivermektins effekt skiljer sig mellan de olika gårdarna med god behandlingseffekt på de flesta gårdarna, men på två gårdar uppfylldes båda kriterierna för resistens. Det betyder att det förekommer resistens mot ivermektin hos små blodmaskar på Island. Med den tillämpade metodiken och urvalets storlek kan inte närmare precisering än så visas från den här studien. Även om resultaten visar på bristande behandlingseffekt är den ändå ganska god (87,6-100 %), varför andra felkällor till minskad klinisk effekt också måste tas i åtanke. Gård 3, 5 och 6 hade 1 föl vardera med äggurskiljning efter andra provtagningen. Gård 2 hade hela 4 föl med positiv epg vid den andra provtagningen, av totalt 7 provtagna föl. Gård 2 har 120 hästar, vilket är det högsta antalet av de medverkande gårdarna. År 2019 hade gård 2 47 föl, som är överlägset högst antal föl jämfört med övriga medverkande hästgårdars 4-12 föl. En teori är att en högre belägningsgrad och kontamination av betesmark i större utsträckning leder till ett ökat selektionstryck på parasiters resistensgener. Detta är skäl till att misstanken om sann resistens förstärks på denna gård, snarare än att behandlingssviken skulle bero på misslyckad läkemedelsadministration.

FECRT mäter endast effekten av en substans och inte förekomsten av resistensgener, vilket är vad som indirekt testas, men all behandlingssvikt behöver inte bero på resistens (Höglund, 2017). Det finns flertalet andra faktorer som kan påverka effekten av ett anthelmintikum. Coles *et al.* (1992) skriver att äggräkning aldrig kan uppskattas exakt, den största förklaringen är att ägg utsöndras som aggregat i träcken. Om inte ett oändligt antal prover från ett och samma träckprov med epg 0 erhålls, kan det aldrig någonsin fastställas att det sanna värdet är 0 (Coles *et al.*, 1992). Programmet som användes för beräkning av FECR tar hänsyn till både handhavandefel och aggregatbildningen baserat på den lägsta detektionsgräns som använts och hur stor sannolikheten hade varit att observera 0 ägg vid ett visst epg-värde (Torgerson *et al.*, 2014).

Författare förklarar ofta att en orsak till behandlingssvikt kan bero på att avmaskningsmedel har underdoserats (Sangster, 1999; Höglund, 2017). Vid behandlingstillfällena administrerades alla föl med 4 ml Ivomec® (10 mg/ml). Fölens vikt uppskattades till 150-200 kg av behandlande veterinär, vilket innebär att dosen till fölen blev inom spannet 0,2-0,27 mg/kg som överensstämmer med tillverkarens och författares rekommendation, under förutsättning att fölens vikt uppskattades korrekt. Utöver injicerat läkemedel har fölen fått i sig ytterligare ivermektin via stonas mjölk, vilka erhöll behandling vid samma tidpunkt som fölen. I en studie utförd av Gokbulut *et al.* (2016) undersöktes utsöndringen av ivermektin i mjölk från sto efter behandling

med ivermektin *per os*. Kvoten mellan plasmakoncentration och mjölkkoncentration var 0,19 och halveringstiden för ivermektin i mjölk var 3,87 dagar jämfört med plasmakoncentrationen på 3,67 dagar (Gokbulut *et al.*, 2016). Men underdosering av läkemedel är inte den enda anledningen till att fölen administrerats för liten mängd läkemedel. Exempelvis observerades föl vid flera tillfällen bli våta på halsen där läkemedlet injicerats, vilket tolkades som att återflöde av injektionen genom injektionshålet hade skett. Automatspruta användes vid injicering av avmaskningsmedel i studien, skicket på denna och huruvida doseringens exakthet var konsekvent var okänt. Ovanstående innebär att dosen till respektive föl i försöket inte kan garanteras som den ändamålsenliga.

Ivermektin som injektionsform finns idag inte registrerat för häst, varför biotillgängligheten för parenteral administration av ivermektin diskuteras nedan. En studie av Egerton *et al.* (1981) undersökte effekten av subkutan injektion med ivermektin mot bland annat små blodmaskar. Hästarna var uppdelade i 4 behandlingsgrupper med 5 hästar i vardera gruppen. Grupperna fick injektioner beräknade på 0,02 mg/kg, 0,1 mg/kg och 0,5 mg/kg. Effekten på L4-larver och adulter beräknades och i gruppen som fick den lägsta dosen blev effekten 66 % mot L4-stadier och 50 % mot adulta stadier av små blodmaskar. I övriga behandlingsgrupper var effekten över 95 %. Rekommenderad dos för ivermektin är 0,2 mg/kg kroppsvikt, vilken ligger mellan de högre doseringarna som undersöktes i studien av Egerton *et al.* (1981), som tyder på att läkemedlet även tycks ha god effekt vid subkutan injektion hos häst. Saumell *et al.* (2017) skriver att de flesta tidiga studier på effekten av ivermektin hos häst, utfördes genom intramuskulär injektion. Campbell *et al.* (1989) hänvisar till ett flertal studier som genomfördes på 1980-talet där slutsatsen blev att effekten av ivermektin som oral pasta jämfört med intramuskulär behandling var i stort sett likvärdiga. Men Saumell *et al.* (2017) gjorde om ett försök med syftet att jämföra effekten av ivermektin vid olika administrationssätt mot små blodmaskar. Två preparat användes, en oral pasta och en lösning som administrerades oralt respektive injiceras intramuskulärt. Därefter togs träckprover dag 7, 15 och 21 efter läkemedelsbehandlingen. Resultaten blev att oral behandling med pasta och lösning gav 100 % FECR på dag 7, dag 15 och dag 21, men vid intramuskulär administration av lösningen blev FECR 62 % dag 7, 64 % dag 14 och 38 % dag 21. Författarna skriver att det inte går att tolka som resistens, eftersom att den orala tillförseln hade utmärkt effekt, däremot att det kan vara ett tecken på minskad känslighet för preparatet. Detta påstående försvaras med observationerna från Campbell *et al.* (1989), eftersom att båda behandlingarna då hade 100 % effekt. I studien analyserades även plasmakoncentrationen av ivermektin för respektive administreringssätt, vilken var väldigt lika för de båda orala läkemedlen. Plasmaprofilen för det läkemedel som hade tillförts intramuskulärt var 115-155 % högre och hade en längre *mean residence time* (MRT, koncentrationen läkemedel som finns tillgängligt över tid). Ändå var effekten varken fullgod eller långvarig, detta menar författarna kan förklaras med att koncentrationen läkemedel i tarminnehållet inte väntas bli lika hög vid parenteral tillförsel som vid oral tillförsel. Subkutan administration användes på Island, men detta är också en parenteral administration, vilket innebär att problemet med lägre koncentration läkemedel i tarmlumen jämfört med vid peroral tillförsel borde kvarstå. Detta bedöms vara en viktig faktor till utfallet av studien.

En metod att komplettera FECRT är *egg reappearance period* (ERP). Då mäts tiden från avmaskning tills dess att ägg återkommer i träcken. Om tiden är kortare än normalt för

substansen i fråga är det ett tecken på att resistens är på väg att utvecklas (Shea Porr *et al.*, 2017). Två studier på ERP efter behandling med ivermektin mot blodmask givet som oral pasta respektive injicerat (ospecifiserat om subkutant eller intramuskulärt) finns från Island. Båda studierna genomfördes på 90-talet där den ena studien bestod av två grupper hästar som fick en behandling med oral ivermektinpasta och avföringsprover togs före behandling samt följdes upp efter behandling. Ägg från strongylider återfanns i träcken efter 10 respektive 12 veckor. Den andra studien genomfördes 1997 och gick ut på att en grupp hästar behandlades med en injektionslösning med ivermektin. Resultatet av den sistnämnda studien hade ett kortare ERP, enbart fem veckor, jämfört med efter den orala behandlingen (Edwardsdóttir, 2013). Det här överensstämmer med det som Saumell *et al.* (2017) skriver om teorin att blodmaskars känslighet för ivermektin har minskat och blir märkbart vid parenteral tillförsel. Edwardsdóttir (2013) genomförde sitt examensarbete på Island med syftet att bland annat undersöka effekten av ivermektinpasta på strongylider. Resultatet blev 100 % FECR av strongylidägg. Förkortat ERP för parenteral tillförsel av ivermektin är konstaterad på 90-talet, men 100 % klinisk effekt av oral pasta påvisades 2013. Enligt resultaten i denna studie har känsligheten mot ivermektin minskat ännu mer, eftersom ERP på vissa gårdar var kortare än 2 veckor, FECR var inte 100 % som mycket väl kan bero på sann resistens.

2012 skrev Vidyashankar & Kaplan att det på grund av för små stickprov, inte fanns några övertygande bevis för att påvisa resistens mot ivermektin hos blodmaskar (Peregrine *et al.*, 2014), men därefter har det kommit rapporter om resistens i form av minskat FECR i Finland, Italien och England samt förkortad ERP i Tyskland och England. Peregrine *et al.* (2014) skriver att även om stickproverna varit små, finns tidigare studier där känslighet för substansen hos *Cyathostominae* spp. har bevisats. Samma resonemang har gjorts i denna diskussion där slutsatsen blir att resistens för substansen inte kan uteslutas, eller 100 % känslighet inte kan påvisas.

Utöver det faktum att islandshästen har varit isolerad från andra hästuppopulationer i 1100 år, skiljer sig hästhållningen avsevärt från hur den ser ut i Sverige. Utifrån observationer från vistelsen samt svar på enkätfrågor framkom det att hästarna har tillgång till bete året om med undantag för ridhästar som inhysas i boxar i stall under delar av dygnet. Betesmarkerna som hästarna vistas på är avsevärt större än i Sverige, hästägarnas tillgång på mark var mellan 9-1000 hektar och på de flesta av gårdarna även sommarbete i fjällmarker. Hästarna går i flock och drivs mellan platser på gården istället för att ledas till hand och var av den anledningen till synes skygga. Med tanke på att hästarna avmaskas så pass sällan och att de har tillgång till stora ytor betesmark kan det förefalla oväntat att resistens påvisades. Frekvent avmaskning ökar selektionstrycket och mindre betesmarker ökar smittrycket, då det tvingar hästarna att beta närmre fekalt kontaminerade partier (Wood *et al.*, 2012). Till nackdel för majoriteten av gårdarna går unghästar tillsammans med flocken med avelsston. Enligt en studie genomförd i England framkom det att hästar i ålderskategorierna unghästar (2-5 år) och äldre hästar (>18 år) urskiljde signifikant högre nivåer epg än föl (<2 år) och vuxna hästar (5-18 år) (Wood *et al.*, 2012). Observationer från Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt är också att unga hästar urskiljer mer strongylidägg än äldre individer (Osterman Lind *et al.*, 2007). Nästan ingen av gårdarna brukar mocka hagarna, som skulle kunna vara ett mycket effektivt sätt att minska kontamination av betesmark (Nielsen *et al.*, 2019). På en del gårdar har till och med

kontaminationen ökat efter att djurägaren har använt hästgödsel (icke brunnen) som gödningsmedel. Förklaringen till varför resistens har kunnat uppstå trots rådande omständigheter måste vara att kontamination sker i stor utsträckning, tillsammans med att markernas fuktiga miljö är gynnsamt för kläckning av ägg. För att säkerställa denna orsak, skulle en studie av mycket större slag behöva genomföras.

Det är mycket obefogat att välja en administreringsväg som försämrar effekten av och driver resistensutvecklingen för en substans när ett mer effektivt alternativ finns tillgängligt. Nuvarande injektionsbehandling har en effekt i förhållandevis hög utsträckning, men den banar väg för resistensutveckling. Övriga världen finner resistensutvecklingen mycket bekymmersamt och att fortsätta med det mer bekväma behandlingssättet kommer inte vara gynnsamt för den isländska hästnäringen på lång sikt. Önskvärt vore att FECRT genomfördes någon gång för att säkerställa att vald behandling har önskad effekt eller ännu hellre avmaska selektivt. Enligt Sangster (1999) är målet med avmaskning att förhindra de första stegen mot resistensutveckling och att förhindra ackumulering av resistensgener. Risken är att behandlingen fungerar ett tag till på Island men plötsligt förlorar sin verkan när resistent parasiter står för en tillräckligt stor andel av populationen.

KONKLUSION

Med det här examensarbetet kan resistens hos små blodmaskar sannolikt misstänkas på gård 2 och 3, eftersom FECR endast blev 92,3 % respektive 87,6 %. Gränsvärdet för att klassificera resistens mot ivermektin hos små blodmaskar är att effekten understiger 95 %. Gård 1 och 4 hade 100 % FECR och på gård 3, 5 och 6 kan resistens mot ivermektin misstänkas. Det är dock viktigt att belysa de felkällor som har diskuterats ovan, och hur litet och icke-slumpmässigt urval av testindivider var. Enligt undertecknads observationer är eventuell resistens i ett tidigt stadie, men det är ytterst önskvärt att behandlingseffekten av valda avmaskningsmedel kontrolleras så att de fortsätter att fylla sin funktion i framtiden. Av praktiska skäl avmaskas samtliga hästar med subkutan injektion en eller två gånger årligen, vilket inte är så hög behandlingsfrekvens. Däremot, vid parenteral tillförsel istället för peroral, tycks effekten av läkemedlet minska från 100 % effekt, som gynnar de parasiter som inte längre är lika känsliga, varför det rekommenderas att i den utsträckning det går, istället välja oral pasta. I ett större perspektiv, utöver för den isländska hästnäringens skull, kan fortsatt forskning på isländska parasitpopulationers gener och orsaken till uppkomsten av dem, jämföras med andra parasitpopulationers som en del i förståelsen av dess uppkomst, förvärvande och hur den går att förebygga.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Bakgrund

Alla hästar som betar gräs infekteras med inälvsparasiter. Lilla blodmasken, vetenskapligt benämnd som *Cyathostominae* spp., är hästens vanligaste parasit som förekommer hos uppskattningsvis 80-100 % av alla individer. Ägg sprids med hästens träck till betesmark och miljö där ägget kläcks och mognar till en smittsam larv. Den mogna larven äts upp tillsammans med betesgräs och när de når hästens grovtarm kapslar den in sig i tarmväggen där larverna mognar ut till en vuxen mask. Unikt för lilla blodmasken är att den kan fördröja sin utveckling genom att stanna kvar i tarmväggen i upp till två år. Det är sällan hästar blir sjuka på grund av vuxna små blodmaskar, men vid kraftiga angrepp kan de dock drabbas av generell försvagning i form av viktförlust, nedsatt prestation och ruggig hårrem. Lilla blodmaskens larver kan däremot i sällsynta fall orsaka ett sjukdomstillstånd som kallas för larval cyathostominos. Sjukdomen uppkommer när en stor mängd larver återupptar sin utveckling och tar sig ut från cystorna i tarmväggen samtidigt. Larvernas utträde ger upphov till en inflammation i tarmen och läckage av vätska och protein. Sjukdomsförloppet är snabbt och dödligheten kan bli så hög som 50 %. Detta sker vanligtvis på senvintern inför kommande betessäsong, men tros även kunna triggas av avmaskning och eliminering av vuxna maskstadier i tarmen.

För att hålla parasiten under kontroll och förhindra att hästarna blir sjuka avmaskas de regelbundet. Problematiken är att avmaskningen historiskt sett har varit så intensiv att parasiter, inklusive lilla blodmasken, har utvecklat resistens mot avmaskningsmedlen. Att en parasit är resistent betyder att den överlever en dos avmaskningsmedel som majoriteten av parasitpopulationen tidigare har varit känslig mot, med andra ord dött, av. Det finns tre läkemedelsklasser som är verksamma mot lilla blodmasken: markocykliska laktoner, benzimidazol och pyrantel. Den mest spridda resistensen hos *Cyathostominae* spp. är mot benzimidazoler följt av pyrantel. Men sedan 2000-talet har dock allt fler rapporter om resistens även mot makrocykliska laktoner gjorts, bland annat från Storbritannien, Finland, Italien och Brasilien. Målet för parasitkontrollen måste förutom att kontrollera parasiterna även vara utformade för att bevara befintliga avmaskningsmedels effekt. För att förhindra förökning och spridning av resistent parasiter måste val av avmaskningens tidpunkt, mängd och substans avvägas noggrant.

Islandshästar på Island är intressanta att studera eftersom att den populationen har varit isolerad i 1100 år, vilket även gäller deras parasiter. Om resistens påvisas hos parasiter hos islandshästarna, innebär det att dess resistens har utvecklats oberoende av utbyte av gener från övriga världens parasitpopulationer. Ser resistensmönstren likadana ut? Har de utvecklats på motsvarande vis? Beroende på svaret på de här frågorna kan förståelsen för uppkomsten av parasiters resistensgener öka. Syftet med det här examensarbetet var att undersöka effekten av injektion under huden av ivermektin på små blodmaskar hos isländska föl.

Examensarbetet genomfördes genom att träckprover från totalt 48 föl från 6 olika gårdar analyserades. Från varje föl samlades två träckprover, det första vid tidpunkten för avmaskning och det andra ca 14 dagar senare. 10 av fölen ingick i en kontrollgrupp och behandlades inte med avmaskningsmedel, men träck samlades från de här fölen med 21 dagars mellanrum. Genom metoden modifierat McMaster-test späddes träcken ut och med en koncentrations-

gradient kunde antal ägg per gram, *egg per gram* (epg), beräknas. Respektive epg parades ihop före och efter avmaskning och med hjälp av en beräkningsmetod, *faecal egg count reduction test* (FECRT), kunde den procentuella minskningen i äggurskiljning under 2-veckorsperioden fastställas. Denna minskning ska utgöra en viss procentsats för att läkemedlets effekt ska klassas som god och misstanke om resistens ska avfärdas. Ivermektins effekt på lilla blodmasken ska vara $\leq 98\%$ för att den kliniska effekten ska klassas som fullgod. Om minskningen är mellan 95–98 % kan resistens hos patasitpopulationen misstänkas och om minskningen av äggurskiljningen är mindre än 95 % är populationen definierad som resistent mot ivermektin.

Hästägarna fick även besvara en enkät om deras hästhållning och hur avmaskningsrutinerna ser ut.

Ivermektin, som är en substans tillhörande läkemedelsklassen markocykliska laktoner, har använts som avmaskningsmedel sedan 1980-talet. Läkemedlet är säkert att använda för patienten, kan tillföras på flertalet olika vis och har brett spektrum mot både invärtes och utvärtes parasiter, vilket har gjort substansen till en hörnsten inom modern parasitkontroll både inom veterinär- och humanmedicin. Till häst finns ivermektin registrerat som oral pasta, oral lösning och tuggtablett. För andra djurslag tillhörande lantbrukets djur finns läkemedlet tillgängligt som injektionslösning och lösning att droppa på nacke och rygg ("pour-on"). På Island används injektionslösningen även till häst av praktiska skäl. En majoritet av islands-hästarna är ganska skygga och det är inte ovanligt att en hästägare har uppåt 50 hästar. Att ge oral pasta till dem skulle både vara praktiskt svårt och tidskrävande. Därför används injektionslösningen för nöt och gris "off label" till häst istället.

Ett viktigt komplement till avmaskning är rutiner kring skötsel av betesmark och gruppering av djur. Det innefattar metoder som på något sätt påverkar ägg och/eller larvstadier i miljön och måste anpassas till det klimat som råder. Blodmaskägg överlever och utvecklas utmärkt i fuktigt klimat, men dör av torka. Vid frost kan inte ägg utvecklas till smittsamma larver, men befintliga larver kan överleva frost i upp till 6-9 månader. Ett sätt att reducera smittan på ett betesfält är att låta det stå tomt under en tid, låta andra arter än värddjuret dela bete antingen samtidigt eller under olika perioder. Ett mer konkret sätt att eliminera träck är att avlägsna den, d.v.s. mocka.

Resultat och kommentarer

Av de 75 individer som avmaskades minskade äggurskiljningen hos 72 av dem (96 %), 52 individer av dessa (79 %) hade 0 epg vid den andra provtagningen. 3 individer ökade äggurskiljningen (4 %). I kontrollgruppen gick äggurskiljningen ner hos 4 individer (40 %) men ökade hos 6 individer (60 %). För att medverka i studien krävdes minst 4 individer med <100 epg från varje gård, vilket medförde att fyra gårdar föll bort och sex gårdar fanns kvar för analys av FECR. Två av gårdarna hade fullständig minskning av epg, d.v.s. 100 % FECR och en gård minskade äggurskiljningen med 99,6 %. De här gårdarna hade klinisk effekt $>95\%$ varför förekomst av resistens inte kunde misstänkas. En gård hade en medeleffekt på 95,7 % vilket enligt definitionen är misstänkt resistensförekomst. De två kvarvarande gårdarna låg båda under 95 % FECR, på 87,6 respektive 92,3 %, och populationerna är således per definition resistent mot ivermektin.

Av enkätsvaren framkom det att hästhållningen skiljer sig från hur den ser ut i Sverige. Hästarna har tillgång till bete året om och gårdarna som medverkade i studien har betesareal på 9–1000 ha och på de flesta av gårdarna har hästarna tillgång till bete i fjällmarkerna under sommar-månaderna. Avmaskning sker på hösten på alla gårdar med ivermektin som injiceras under huden. En gård uppgav att fölen ges en andra avmaskning vid behov, till exempel om de ser ut att vara efter i växten. Hos två gårdar sker ytterligare en avmaskning av fölen på våren. Ingen av gårdarna har någonsin gjort en träckprovsanalys varken för att identifiera vilka parasiter som förekommer hos hästarna, eller för att verifiera att avmaskningsbehandlingen ger önskad effekt.

Med tanke på att hästarna avmaskas relativt sällan och har tillgång till så stora betesareal, föreföll fyndet av resistens oväntat. Däremot har det genomförts två studier på Island under 90-talet, med avseende på ivermektins effekt mot *Cyathostominae* spp.. I den ena studien behandlades hästarna med injektion av ivermektin och i den andra gavs hästarna oral pasta. Därefter mättes tiden det tog innan ägg återfanns i träcken, *egg reappearance period* (ERP), vilket även är en tidig indikator på att resistens är på väg att utvecklas. Normalt värde för små blodmaskar är 8 veckor. Hästarna som behandlades med oral pasta hade mellan 10–12 veckors ERP, men hästarna som fick injektion med ivermektin hade endast 5 veckor. Det fanns alltså tidiga indikationer på att populationer av blodmaskar på Island hade minskad känslighet för avmaskningsmedlet, när det gavs som injektion, redan på 90-talet. Med andra ord är det inte otroligt att känsligheten har minskat ytterligare fram till idag. Utöver studien från Island finns det ytterligare en utförd i Argentina där effekten av ivermektin givet som oral pasta jämfördes med effekten av injektionslösning. Den orala pastan gav 100 % minskning av blodmaskägg medan injektionsformens FECRT blev 64 %. Teorin bakom denna skillnad är att koncentrationen läkemedel i tarmen blir lägre om det ges på annat sätt än direkt till mag- och tarmkanalen via munnen.

Resistens eller minskad känsligheten sågs inte på alla medverkande gårdar och på grund av examensarbetets ringa storlek kan inte en bedömning av resistensläget för ivermektin hos små blodmaskar på Island göras. För att bevara avmaskningsmedlens effekt framöver är en god strategi att kontrollera hur väl behandlingen fungerar i den enskilda djurgruppen. Om tecken på resistens konstateras vid användning av injektionspreparat ska det övervägas att istället ge avmaskningsmedlet som oral pasta. Detta för att avmaskningsbehandlingen inte ska bana väg för de populationer som har minskad känslighet. Ytterligare forskning på ivermektins effekt på lilla blodmasken hos isländska hästar krävs för kartläggning av resistensläget. På grund av islandshästens isolering kan deras populationer av parasiter lära oss mer om bakgrunden till uppkomst och spridning av resistensgener.

REFERENSER

- Campbell W.C., Leaning W.H.D., Seward R.L. (1989). Use of ivermectin in horses. I: Campbell W.C. (red). *Ivermectin and Abamectin*. Springer, New York, NY, ss. 235-244.
- Coles, C. G., Bauer, C., Borgsteede, M. H., Geerts, S., Klei, R. T., Taylor, A. M. & Waller, J. P. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44:35-44.
- Corning, S. (2009). Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. *Parasites & Vectors*, Suppl 2:S1. doi: 10.1186/1756-3305-2-S2-S1
- Edwardsdóttir, S. (2013). *Anthelmintic resistance in equine nematodes in Iceland*. University of Copenhagen. Faculty of Health and Medical Sciences. Veterinary Master's Thesis.
- Elsheika, H.M. & Hallowell, G.D. (2018). Strongylosis in equines: biology, diagnosis and future needs. *Vet Times*. Tillgänglig: <https://www.vettimes.co.uk/app/uploads/wp-post-to-pdf-enhanced-cache/1/strongylosis-in-equines-biology-diagnosis-and-future-needs.pdf> [2019-11-04]
- FASS (2019). *Ivomec vet*. Tillgänglig: <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19860425000041> [2019-11-27]
- FASS (2016). *Eraquell vet*. Tillgänglig: <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20010420000102> [2019-11-27]
- FASS (2014). *Eraquell vet*. Tillgänglig: <https://www.fass.se/LIF/substance?userType=1&substanceId=IDE4POFCUAWB7VERT1> [2019-11-27]
- FASS (2012). *Equimax vet*. Tillgänglig: <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20030321000070> [2019-11-27]
- Gokbulut, C., Ozuicli, M., Aksit, D., Aksoz, E., Korkut, O., Yalcinkaya, M., Cirak, V.Y. (2016). Comparative plasma and milk dispositions, faecal excretion and efficacy of per os ivermectin and pour-on eprinomectin in horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 39:584–591.
- Greiner, E.C. 2014. 54 laboratory diagnosis of parasitic diseases. I: Sellon, D.C., Long, M. (red). *Equine Infectious Diseases*. St. Louis, ss. 449-456.
- Hreidarsdóttir G.E., Árnason, T., Svansson, V. & Hallson, J.H. (2014). Analysis of the history and population structure of the Icelandic horse using pedigree data and DNA analyses. *Icelandic Agricultural Sciences*, 27:63-79.
- Höglund, J. (2017). *Avmaskning*. Tillgänglig: <https://www.fass.se/LIF/menydokument?userType=1&menyubrikId=2190> [2019-11-19]
- Kaplan, R.M. & Nielsen, M.K. (2010). An evidence-based approach to parasite control: it ain't the 60s anymore. *Equine Veterinary Education*, 22(6):306-316.
- Kaplan, R.M. & Viadyashankar, A.N. (2012). An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance, *Veterinary Parasitology*, 186:70-78.
- Kuzmina, T.A., Dzeverin, I. & Kharchenko, V.A. (2016). Strongylids in domestic horses: influence of horse age, breed and deworming programs on the strongyle parasite community. *Veterinary Parasitology*, 227:56-63.

- Love, S., Murphy, D. & Mellor, D. (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. *Veterinary Parasitology*, 85:113-122.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C. & Drudge, J.H. (1999). Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. *Veterinary Parasitology*, 85:97-112.
- Matthews, J.B. (2008). An update on cyathostomins: anthelmintic resistance and worm control. *Equine Veterinary Education*, 20(10):552-560.
- McWilliam, H.E.G., Nisbet, A.J., Dowdall, S.M.J., Hodgkinson, J.E. & Matthews, J.B. (2010). Identification and characterisation of an immunodiagnostic marker for cyathostomin developing stage larvae. *International Journal of Parasitology*, 40(3):265-275.
- Nielsen, M.K., Mittel, L., Erskine, M., Graves, E., Vaala, W., Tully, R.C., French, D.D., Bowman, R. & Kaplan, R.M., (2019). *AAEP Parasite Control Guidelines*. American Association of Equine Practitioners. Tillgänglig: <https://aaep.org/sites/default/files/Documents/InternalParasiteGuidelinesFinal5.23.19.pdf> [2019-11-07]
- Nielsen, M.K., Reinemeyer, C.R. & Sellon, D.C. (2014). 57 Nematodes. I: Sellon, D.C., Long, M. (red). *Equine infectious Diseases*. St. Louis, ss. 475-489.
- Nielsen, M.K., Fritzen, B., Duncan, J.L., Guillot, J., Eysker, M., Dorchies, P., Laugier, C., Beugnet, F., Meana, A., Lussot-Kervern, I. & von Samson-Himmelstjerna, G. (2010). Practical aspects of equine parasite control: a review based upon a workshop discussion consensus. *Equine Veterinary Journal*, 42(5):460-468.
- Peregrine, A.S., Molento, M.B., Kaplan, R.M. & Nielsen, M.K. (2014). Anthelmintic resistance in important parasites of horses: does it really matter? *Veterinary Parasitology*, 201:1-8.
- Prichard, R., Ménez, C. & Lespine, A. (2012). Moxidectin and ivermectins: consanguinity but not identity. *International Journal of Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 2:134-153.
- Reinemeyer, C.R. & Nielsen, M.K. (2017). Control of helminth parasite in juvenile horses. *Equine Veterinary Education*, 29(4):225-232.
- Saumell, C., Lifschitz, A., Baroni, R., Fusé, L., Bistoletti, M., Sagües, F., Bruno, S., Alvarez, G., Lanusse, C. & Alvarez, L. (2017). The route of administration drastically affects ivermectin activity against small strongyles in horses. *Veterinary Parasitology*, 236:62-67.
- Sangster, N.C. (1999). Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectines/milbemycins. *Veterinary Parasitology*, 86:189-204.
- Shea Porr, C.A., Hedinger, F.V., Hamm, L.H., Ernst, M.M., Papajeski, B.M., Santiago, M.L. & Davis, A.J. (2017). Effects of ivermectin and moxidectin on fecal egg count and egg reappearance rate in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 57:51-55.
- Stratford, C.H., McGorum, B.C., Pickles, K.J. & Matthews, J.B. (2011). An update on cyathostomins: anthelmintic resistance and diagnostic tools. *Equine Veterinary Journal*, 43:133-139.
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (2019). *Parasiter hos häst*. Tillgänglig: <https://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast> [2019-11-14]
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (2018). *Avmaskning av häst*. Tillgänglig: <https://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/avmaskning-av-hast> [2019-11-16]

- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (2016). *Receptbeläggning av anthelmintika för hästar*. Tillgänglig: <https://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/receptbelaggnings-av-anthelmintika-hast> [2019-11-16]
- Swiss National Science Foundation (2018). *Modelling fecal egg counts with Shiny*. Tillgänglig: <http://shiny.math.uzh.ch/user/furrer/shinyas/shiny-eggCounts/> [2019-11-05]
- Torgerson, P.R., Paul, M. & Furrer, R. (2014). Evaluating faecal egg count reduction using a specifically designed package 'eggcounts' in {r} and a user friendly web interface. *Veterinary Parasitology*, 44:299-303.
- Wood, E.L.D., Matthews, J.B., Stephenson, S., Slote, M. & Nussey, D.H. (2012). Variation in fecal egg counts in horses managed for conservation purposes: individual egg shedding consistency, age effects and seasonal variation. *Parasitology*, 140(1):115-128
- Österman Lind, E., Christensson & D., Nyman, G. (2007b). Förhållningssätt för kontroll av parasiter hos häst. *Svensk Veterinärtidning*, 15:17-19.
- Österman Lind, E., Kuzmina, T., Ugglä, A., Waller, P.J. & Höglund, J. (2007a). A field study on the efficacy of some anthelmintics on cyathostomins of horses in sweden. *Veterinary Research Communications*, 31:53.

BILAGA 1 - ENKÄT

Questionnaire on deworming and pasture management

1. Farm address

2. Number of horses

3. Number of foals

4. Are the horses divided into different groups based on e.g. age, usage?

- No
- Yes, please specify:

5. When do the horses have access to pasture?

- Never

- All year
 - Summer
 - Fall
 - Winter
 - Spring
 - Other, explain:
-

6. Size of pasture in hectare

7. Do the horses share pasture with horses from other farms?

- Yes
- No

8. Do you perform any type of pasture management?

- No
- Rotation
- Alternate/mixed grazing with other species
- Separation of age groups
- Removal of dung
- Use of fertilizer

- Pasture sweeping
 - Other, please specify:
-

9. Frequency of anthelmintic treatment

a. Foals

b. Adults

10. What time/times of the year does treatment usually take place? More than one option is possible.

- January
- February
- March
- April
- May
- June
- July
- August
- September

- October
 - November
 - December
 - Other, please specify:
-

11. Choice of anthelmintic drug?

12. What anthelmintic drugs have been used historically on the farm?

13. Why do you use anthelmintic treatment?

- Based on faecal examination, EPG
 - Ill thrift or poor growth
 - Clinical signs of disease
 - To reduce parasitic burden in pasture
 - Recommendation by veterinarian
 - Other, please specify:
-

14. If fecal egg count (EPG) is performed, how frequently are they done?

15. Which animals are chosen for treatment? (all, specific age group)

- All
 - Animals with clinical signs of disease
 - Foals
 - Yearlings
 - Adults
 - Other, please specify:
-

16. Do you seek veterinary advice on parasite control?

- Yes
- No

17. Do you use a quarantine and/or treatment of new animals before they are allowed with the herd?

- No
 - Yes, please specify:
-

18. Do you use faecal sampling to analyse present parasites in you herd?

- No
- Yes

19. What known parasites do you have in your herd?

20. Do you consider any parasite of special importance? If yes, please specify which one and for what reason this parasite is of importance to you and your herd.
