

# Effekt av ivermektin mot *Parascaris univalens*- infektion hos isländska föl

## Efficacy of ivermectin against *Parascaris univalens* infection in Icelandic foals



*Maja Ernback*

*Uppsala*

*2020*



# Effekt av ivermektin mot *Parascaris univalens*-infektion hos isländska föl

## Efficacy of ivermectin against *Parascaris univalens* infection in Icelandic foals

Maja Ernback

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

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

**Examinator:** Behdad Tarbiat, Institutionen 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 av Maja Ernback

**Nyckelord:** häst, parasit, *Parascaris spp*, *Parascaris univalens*, ivermektin, karyotypning, anthelmintikaresistens

**Key words:** horse, parasite, *Parascaris spp*, *Parasvaris univalens*, ivermectin, karyotyping, anthelmintic resistance

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap



## SAMMANFATTNING

Hästens spolmask, *Parascaris* spp., är en vanligt förekommande nematod hos unga hästar och föl. Från sex månaders ålder utvecklas immunitet och infektion hos vuxna individer är ovanlig. Eftersom hög parasitbörda kan ge upphov till mycket allvarlig sjukdom avmaskas föl runt om i världen regelbundet. På senare år har man funnit resistens mot ivermektin på flera gårdar över flera kontinenter i världen. Syftet med den här studien är att för första gången undersöka läkemedelseffekt av ivermektin mot *Parascaris* spp-infektion på islandshästhöfl på Island samt att undersöka vilka arter av spolmask som förekommer på Island.

Studien utfördes under hösten 2019 på 85 föl från 10 olika gårdar utspridda över sydvästra till norra Island. Varje gård hade 4-12 föl i åldrarna 2-5 månader. Individparade träckprov samlades vid avmaskningstillfället samt 2 veckor senare. Fölen avmaskades med ivermektin genom subkutan injektion med en dos av 0,2-0,27 mg/kg. Träcken analyserades genom modifierad McMaster för ägg per gram (EPG). Faecal egg count reduction test (FECRT) utfördes gårdsvis.

Prevalensen av spolmask hos fölen var 80 % (68 av 85). Fyrtiosju av fölen hade måttlig eller kraftig förekomst av spolmaskägg innan avmaskning (>200 EPG) och så många som 43 föl hade måttlig eller kraftig förekomst av spolmaskägg även efter avmaskning. På fem av tio gårdar ökade medelvärdet för EPG efter avmaskning. FECRT visade en reduktion mellan 0-81 % av parasitägg efter behandling. Ingen av gårdar visade tillfredsställande anthelmintisk (>95 % FECR) effekt av ivermektin. På fyra gårdar hade ivermektinbehandlingen 0 % effekt. Insamlade ägg artbestämdes till *Parascaris univalens* med hjälp av karyotypning.

Islands hästhållning skiljer mycket från den på andra platser i världen. Djuren hålls på stora ytor och får under sommarhalvåret gå och beta uppe i bergen. Detta borde leda till ett lågt smittryck av parasiter. Hästarna i studien behandlades rutinmässigt 1-2 gånger per år med avmaskningsmedlet ivermektin. Låg frekvens av anthelmintikaanvändning borde leda till långsammare resistensutveckling. Hästägarna i den här studien har av praktiska skäl valt subkutan injektion av ivermektin. Studier har dock visat betydligt lägre koncentrationer av ivermektin uppnås i tarm där parasiterna finns vid subkutan injektion än vid per oral administrering. Suboptimala läkemedelskoncentrationer i tarm kan ha bidragit till ökad resistensutveckling. Majoriteten av fölen var 3-4 månader gamla vid avmaskningen, något som i andra studier har visat sig ha högre selektionstryck för resistens än avmaskning vid andra åldrar. En stadig population av parasiter i refugia, som inte exponeras för anthelmintika, minskar resistensutvecklingen. Huruvida klimatet på Island och tillgång till stora beten påverkar antal parasiter är svårt att uttala sig om, men om överlevnad på beten översäsonger är låg skulle det potentiellt kunna vara en källa till ökat selektionstryck för resistens.

Subkutaninjektion av 0,2-0,27 mg ivermektin per kilogram har ej tillräcklig anthelmintisk effekt mot spolmask hos föl på Island. Detta kan bero på behandlingssvikt på grund av administreringsmetoden, men sett till multipla studier på senare år som visar på resistens hos spolmask mot ivermektin världen över är det med stor sannolikhet även sann resistens vi ser i den här studien. En uppföljande studie där oral beredningsform av ivermektin används skulle svara på den frågan. Detta är även första gången resistens hos spolmask påvisas på Island. Landet ligger naturligt isolerat och import av hästar har varit förbjuden längre än det funnits avmaskningsmedel tillgängliga. Av detta kan man dra slutsatsen att resistensen vi ser i studien med största sannolikhet har uppkommit enskilt på Island utan inblandning eller import från andra parasitpopulationer.

## SUMMARY

*Parascaris* spp., or commonly known as ascarids, is a ubiquitous nematode that infects foals and yearlings. From the age of 6 months they develop a gradual immunity and infection is rarely seen in adult horses. High parasite burden can cause small intestinal obstruction and rupture which in turn can cause mortality. Therefore, foals are regularly treated with anthelmintics. In recent years there have been multiple reports of anthelmintic resistance against ivermectin in farms across the globe. The aim of this study is to establish if anthelmintic resistance to ivermectin is present in Iceland in Icelandic foals and to determine the extant species of ascarid.

The study was performed during autumn in 2019 on 85 foals from 10 different farms located in southwest, northwest and north of Iceland. Each farm had 4-12 foals aged 2-5 months. Faecal samples were collected and paired individually at the time of deworming and 14 days later. The anthelmintic used was ivermectin administered through subcutaneous injection with a dose of 0.2-0.27 mg/kg. The faeces were analysed with modified McMaster technique for egg per gram (EPG). Faecal egg count reduction test (FECRT) was performed on each farm.

The prevalence of ascarid infection was 80% (68 of 85). Forty-seven of the foals were moderately or heavily infected before treatment (>200 EPG). Forty-three of the foals were moderately or heavily infected after treatment. In five of the farms mean EPG increased from the first to second sampling. The FECRT ranged between 0-81% on the farms. Four of the farms had a FECR of 0%. Satisfactory anthelmintic effect (FECR >95%) was not seen on any farm included in this study. The collected eggs were identified as *Parascaris univalens* through karyotyping.

Horses in Iceland are held in a different way than in other parts of the world. They have access to very large pasture and during the summer months they are moved up in the mountains to graze. This should lead to a low parasite burden. The horses included in this study were regularly treated with ivermectin 1-2 times per year. A low frequency of anthelmintic treatment should delay anthelmintic resistance development. The horse owners in this study use subcutaneous injection of ivermectin for practical reasons. Studies have shown that lower concentrations of ivermectin have been measured in the lumen of intestines when administered subcutaneously compared with oral administration. Suboptimal anthelmintic concentrations could contribute to development resistance. Most of the foals were 3-4 months old at the time of deworming. Deworming at this age has been shown to contribute to development of resistance more than deworming at any other age. Maintaining a proportion of the parasite population in 'refugia', unexposed to treatment slows development of resistance. Whether the climate in Iceland and access to large pastures affects the number of parasites in refugia is a question left unanswered but could potentially be a source of increased development of anthelmintic resistance.

Subcutaneous injection of 0.2-0.27 mg ivermectin per kilogram does not have adequate anthelmintic efficacy on ascarids in Icelandic foals. Treatment failure could be due to the route of administration. Considering multiple recent reports on global anthelmintic resistance against ivermectin, we should interpret these results as evidence of anthelmintic resistance. A follow-up study examining the effect of the oral administration would be of great value and give a more conclusive answer to this question. This is also the first time that anthelmintic resistance is recognised in ascarids in Iceland. The country is naturally isolated and import of horses has been forbidden longer than anthelmintics have been available. For this reason, the anthelmintic resistance we observed in this study had likely developed in Iceland without implication or through import of resistant worms from other parasite populations.

## INNEHÅLL

Inledning.....	1
Frågeställning .....	2
Litteraturoversikt.....	2
Parascaris spp.....	2
Patogenes och kliniska tecken.....	2
Diagnos .....	3
Läkemedelsanvändning och resistens.....	3
Faecal egg count reduction test (FECRT) .....	4
Identifiering och karyotypning .....	5
Material och metoder .....	5
Gårdar och hästar.....	5
Modifierad McMaster.....	6
Feacal egg count reduction test.....	7
Karyotypning .....	7
Resultat.....	7
EPG och FECRT .....	7
Karyotypning .....	9
Diskussion .....	9
Konklusion .....	11
Populärvetenskaplig sammanfattning .....	12
Referenser.....	14

## INLEDNING

*Parascaris* spp. är en utbredd och vanligt förekommande endoparasit i hela världen som framförallt infekterar föl och unga hästar. Föl infekteras tidigt i livet och urskiljer parasitägg vid ungefär tre månaders ålder, efter sex månaders ålder börjar immunitet utvecklas hos individerna och infektion hos vuxna immunokompetenta individer är ovanligt. Föl infekteras genom att de får i sig ägg med infektiiva larver från omgivningen. Larverna kläcks i magsäcken och vandrar sedan genom lever och lunga där de orsakar hosta och näsflöde. De återvänder sedan till tarmen och utvecklas till vuxna parasiter som konkurrerar med värden om näring, något som kan leda till dåligt tillväxt samt nedsatt prestation och allmäntillstånd. En hög parasitbörda kan leda till tunntarmsförstoppning (Clayton, 1986).

Det finns två underarter av *Parascaris* spp., *Parascaris equorum* samt *Parascaris univalens*. I litteraturen benämns spolmask hos häst ofta som *Parascaris equorum*, men senare studier visar på att *Parascaris univalens* är den dominerade arten hos häst (Nielsen *et al.*, 2014b).

På grund av allvarliga symptom hos föl med spolmaskinfektion sker ofta flera behandlingar med avmaskningsmedel under det första levnadsåret. När ivermektin lanserades på marknaden under 80-talet var effekten fullgod mot *Parascaris* spp. (Bello, 1989; French *et al.*, 1988), men ett överanvändande av ivermektin har resulterat i resistensutveckling för preparatet vilket har rapporterats sedan början av 2000-talet på flertalet gårdar på flera kontinenter (Armstrong *et al.*, 2014; Boersema *et al.*, 2002; Craig *et al.*, 2007; Hearn & Peregrine, 2003; Näreaho *et al.*, 2011; Schougaard & Nielsen, 2007; Slocombe *et al.*, 2007; Veronesi *et al.*, 2009; von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2007). Antalet fall med resistens är så många att det är rimligt att fråga sig om ivermektin fortfarande är verksamt mot spolmaskinfektion.

Islandshästen härstammar från de hästar som togs med till Island av de första bosättarna på 800-talet. År 982 införde Alltinget en lag som förbjöd import av hästar. Inhemskt uppfödda hästar som lämnat landet får inte heller återvända. De hästar som idag finns på Island har varit isolerade i över 1000 år (Evans, 2008), med enbart enstaka undantag. Eftersom avmaskningsmedel började användas regelbundet först på 60-talet (Kaplan & Nielsen, 2010) kan det antas att resistens som finns hos parasiter på Island har uppkommit där och ej importerats med infekterade hästar. Hästhållningen på Island skiljer sig från hästhållning på många andra ställen i världen genom att hästarna på Island traditionellt sett hålls utomhus året runt och går på sommarbete på höglandet med tillgång till stora arealer. Detta borde i teorin bidra till ett lägre parasitär smittryck. Avmaskning sker traditionellt mer sällan än i andra delar av världen, oftast sker avmaskning endast en eller två gånger per år.

Ivermektin är ett potent anthelmintika som finns i många beredningsformer. I Sverige finns bara orala beredningar registrerade som godkända läkemedel för häst. På Island används av praktiska skäl den subkutana injektionsberedningen.

Syftet med den här studien är artbestämna typen av spolmask på Island samt att bedöma läkemedelseffekten av ivermektin hos föl på Island. Detta har inte tidigare gjorts trots mångårig användning av ivermektin. Det geografiska läget och det faktum att import av hästar varit förbjudet under längre tid än anthelmintika har funnits gör det intressant att studera om



läkemedelsresistens förekommer på Island, om resistensmönster finns har det troligen uppkommit där och inte genom import av resistent parasiter.

## Frågeställning

Vilken effekt har ivermektin på äggurskiljning från *Parascaris* spp. hos isländska föl? Vilken art av spolmask förekommer på Island?

## LITTERATURÖVERSIKT

### Parascaris spp.

*Parascaris* spp. är en välkänd och vida spridd parasit som infekterar föl och unga hästar. Det finns två arter som infekterar hästar *Parascaris equorum* och *Parascaris univalens*. Båda dessa arter har varit kända i över 135 år (van Beneden, 1883), men oftast hänvisas parasiten som *P. equorum*, medan benämningen *P. univalens* traditionellt används mer sällan. Nya studier visar dock på att det är *P. univalens* som är den vanligast förekommande parasiten och *P. equorum* påvisades inte alls i USA (Nielsen *et al.*, 2014b). *Parascaris univalens* är också påvisad i Schweiz (Jabbar *et al.*, 2014). Begreppet *Parascaris* spp. bör därför användas om inte typning utförts som kan bekräfta vilken art det rör sig om.

*Parascaris* spp. är den största nematoden som infekterar hästar och är som adult ungefär lika stor som en penna (Nielsen *et al.*, 2014a). Som vuxen parasit finns den i tunntarmen där den också parar sig och lägger ägg. Beroende på temperatur och väderförhållanden tar det från 10 dagar till flera veckor för ett embryonerat ägg att utvecklas till det infektiösa stadiet som innehåller en steg 2-larv (L2). Ägg med en L2 intas från omgivningen och kläcks i tunntarmarna. Larven passerar tunntarmen och transporteras sedan via portavenen till levern. Från att ägg intagits tar det ungefär 24 timmar innan larverna når levern. Efter en vecka vandrar larverna till lungorna där de lämnar blodcirkulationen och går in i alveolerna. Larverna migrerar sedan upp för luftvägarna och hostas upp till farynx där de sedan sväljs ned för att återvända till tunntarmarna för att slutföra sin mognad (Nielsen *et al.*, 2014a). Prepatensperiod varierar i studier, från 80-104 dagar (Clayton & Duncan, 1977, 1978).

Utmärkande för *Parascaris* spp. är att det infektiösa stadiet (ägg innehållande en L2) är beständig i miljön och kan vara infektiös i över 10 år. Hästar utvecklar en effektiv förvärvad immunitet mot parasiten och det är därför ovanligt att infektion ses hos hästar över 18 månaders ålder. En *Parascaris*-infektion innebär ofta hundratals maskar i tunntarmarna och den sammanlagda volymen av maskar kan överstiga en liter (Nielsen *et al.*, 2014a).

### Patogenes och kliniska tecken

Patogenesen hos *Parascaris* spp. är dåligt kartlagd, men infekterade föl uppvisar sämre tillväxt och kroppssammansättning (Nielsen *et al.*, 2014a). Den enklaste förklaringen till de kliniska tecknen är att en stor mängd mask i magen konkurrerar med värden om näring, framförallt aminosyror. Detta tillsammans med minskat födointag kan göra att infekterade föl drabbas av hypoproteinemi.

Migration i levern som sker en vecka efter intag ger inte några tydliga kliniska tecken. Invasion av lungorna kan däremot orsaka frekventa hostningar och purulent grå-vitt näsflöde. Sekundära bakteriella infektioner är vanliga, då ofta med *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* som agens. Avvanda hästar och åringar som är kraftigt infekterade med adulta maskar kan uppvisa dålig tillväxt trots god tillgång till foder samt ha rufsig päls och se bukiga ut. Unghästar som är sparsamt infekterade uppvisar sällan symptom. En stor mängd mask i tunntarmarna kan ge förstoppning, vilket kan leda till kolik och senare även ruptur av tarm om stoppet ej löses. Sannolikheten att drabbas av tarmruptur korrelerar inte direkt till antalet maskar i tunntarmarna. Förutom tecken på smärta från buken kan hästar också uppvisa gastroesophagealreflux (som innehåller maskar) och chock sekundärt till eventuell toxisk eller hypersensitiv reaktion mot maskarna (Nielsen *et al.*, 2014a).

Infektion med *Parascaris* spp. kan orsaka svår kolik till följd av tarmobstruktion. Enligt en studie (Cribb *et al.*, 2006) hade 72 % av fölen hade avmaskats 24 timmar innan symptomdebut, vilket tyder på att paralytisk av parasiten kan leda till obstruktion av tunntarm. I en retrospektiv studie av föl med tunntarmsförstoppning till följd av *Parascaris* spp.-infektion var median-åldern 5 månader (med ett spann på 4-24 månader). Hingstar drabbades oftare än ston och majoriteten av fallen skedde under sensommar och tidig höst (Tatz *et al.*, 2012).

### **Diagnos**

Infektion med adulta stadier av spolmask upptäcks lätt genom kvalitativ eller kvantitativ analys av feces. Äggräkning har hög diagnostisk specificitet och måttlig sensitivitet. Ingen korrelation har hittats mellan EPG och antal maskar i tarmarna (Nielsen *et al.*, 2010). Äggräkning kan bara detektera adulta stadier av parasiten, och migrerande larver i lever och lungor kan alltså inte diagnosticeras på detta sätt. Maskar i gastroesophagealreflux eller i avföring hos hästar 4-24 månader gamla med symptom på akut kolik kan indikera diagnos. Diagnostisering av adulta *Parascaris* spp. i tarm kan göras med ultraljud (Nielsen *et al.*, 2016).

### **Läkemedelsanvändning och resistens**

Enligt Sveriges veterinärmedicinska anstalt avmaskas föl rutinmässigt vid stuterier två gånger, vid 8-10 och 16-18 veckors ålder och ytterligare en gång efter träckprov runt 1 års ålder. Föl som inte vistas i stuterimiljö avmaskas efter träckprovsanalys (SVA, 2018).

De tre vanligaste anthelmintikagrupperna som används till häst är makrocycliska laktoner (ivermektin, moxidectin), benzimidazoler (fenbendazol, oxibendazol) och tetrahydropyrimidiner (pyrantel) (Kaplan & Nielsen, 2010). Makrocycliska laktoner och tetrahydropyrimidiner utövar sin anthelmintiska effekt genom paralytisk av parasiten. Benzimidazoler binder till parasitens  $\beta$ -tubulin och hämmar syntes av mikrotubuli som är viktig för transport av glukos. Utan mikrotubuli svälter parasiten ihjäl (Rang & Dale, 2003). *Parascaris* spp. är den dosbestämmande parasiten för vissa hästanthelmintika. Det betyder att det krävs en högre dos av ett givet läkemedel för att avdöda *Parascaris* spp. jämfört med övriga nematoder (Nielsen *et al.*, 2014a).

Adulta och juvenila stadier av *Parascaris* spp. i tunntarmslumen har visat känslighet för benzimidazol, makrocycliska laktoner och tetrahydropyrimidin när läkemedelena lanserades på marknaden (Nielsen *et al.*, 2014a). Ett överanvändande av läkemedel har resulterat i resistent

parasiter. Sedan början på 2000-talet har det rapporterats om minskad effekt av makrocycliska laktoner vid behandling av spolmaskinfektion i Nederländerna, Kanada, Sverige och Danmark (Boersema *et al.*, 2002; Hearn & Peregrine, 2003; Lindgren *et al.*, 2008; Schougaard & Nielsen, 2007). Enligt en studie (Lyons *et al.*, 2008) gjord på gårdar i Kentucky sågs god effekt mot *Parascaris* spp. av oxibendazol, något sämre effekt hos fenbendazol och mycket dålig effekt hos pyrantel, trots dubbel dos, och praktiskt taget ingen effekt av ivermektin. Detta till skillnad mot en svensk studie som visar god effekt hos pyrantel och fenbendazol (Lind & Christensson, 2009). Tio år senare visade en annan svensk studie det första tecknen på resistens mot pyrantel i Europa men fortsatt god effekt hos fenbendazol (Martin *et al.*, 2018). Sveriges veterinärmedicinska anstalt rekommenderar att använda pyrantel eller fenbendazol vid avmaskning för spolmask på grund av den utbredda resistensen mot ivermektin (SVA, 2018).

Ivermektin finns tillgängligt som injektionsvätska, oral pasta, oral lösning, tuggtabletter, pour-on och premix till foder. I Sverige finns bara den orala pastan med indikation för häst (FASS, 2020). I en studie (Marriner *et al.*, 1987) jämfördes plasmakoncentrationer av ivermektin vid oral och subkutan administrering. Högra plasmanivåer uppnåddes under längre tid med den subkutana injektionen än oral administrering. Smärta, svullnad och värme uppträdde dock vid injektionsplatsen. Den rekommenderade dosen av ivermektin är 0,2 milligram per kilo kroppsvikt för den orala beredningen på häst (FASS, 2020).

### Faecal egg count reduction test (FECRT)

FECRT är idag det enda tillgängliga metoden för att utvärdera klinisk resistens hos parasiter. För att utföra FECRT tas ett träckprov innan avmaskning och ett uppföljande prov efter 14 dagar. Den procentuella minskningen beräknas för varje häst med hjälp av formeln nedan. Ett snittvärde för hästarna räknas ut och ger den enskilda individen eller gården en procentuell minskning av ägg per gram, EPG. Detta värde används sedan för att avgöra om resistens föreligger eller inte (Nielsen *et al.*, 2019). En minskad läkemedelseffekt behöver dock inte alltid betyda att resistens föreligger. Föreslagna gränsvärden bör tolkas som en riktlinje och inte ett absolut svar.

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

Det finns för tillfället inga specifika riktlinjer för hur FECRT ska tolkas för *Parascaris* spp.. American Association of Equine Practitioners har dock publicerat en vägledning för tolkning av FECRT för cyathostominer, se tabell 1 (Nielsen *et al.*, 2019).

Tabell 1. Vägledande gränsvärden publicerade av American Association of Equine Practitioners för cyathostominer (Nielsen *et al.*, 2019)

Anthelmintika	Känslig	Misstänkt resistens	Resistens
Fenbendazol/oxibendazol	>95 %	90-95 %	<90 %
Pyrantel	>90 %	85-90 %	<85 %
Ivermektin/moxidectin	>98 %	95-98 %	<95 %

Det är rekommenderat att använda detektionsgräns på 25 EPG eller mindre. Hästar med EPG under 200 ska exkluderas. Om FECRT visar sig under gränsvärdet bör andra orsaker till minskad effekt av läkemedlet uteslutas innan man förklarar parasiten resistent, till exempel feldosering, felaktig förvaring av läkemedel med mera. Man måste också ta i beaktning hur många hästar som testats och hur hög EPG de hade innan behandling. Om resultaten är svårtolkade rekommenderas det att upprepa testet (Nielsen *et al.*, 2014a).

## Identifiering och karyotypning

Inom veterinär parasitologi har hästens spolmask traditionellt refererats till som *Parascaris equorum*, men det finns också en annan art av spolmask som nämnts mycket mer sällan i litteraturen – *Parascaris univalens*. Båda parasiterna beskrevs först av van Beneden (1883). De två arterna är morfologiskt identiska men skiljs åt genom att *Parascaris equorum* har två kromosompar medan *Parascaris univalens* bara har ett (Biocca *et al.*, 1978). En teknik som används för differentiering mellan de två arterna är karyotypning. Tekniken går ut på att kromosomer från tidiga embryon fixeras och färgas vid deras första mitos (Goday & Pimpinelli, 1984). Enligt Nielsen *et al.* (2014b) är *Parascaris univalens* den idag mest förekommande arten av spolmask hos häst och om inte differentiering mellan de olika arterna gjorts bör parasiten refereras till som *Parascaris* spp.

## MATERIAL OCH METODER

### Gårdar och hästar

I studien ingår 85 föl, inklusive 10 kontroller, i åldrarna 2-5 månader som skulle avmaskas med ivermektin enligt plan från djurägare och lokal veterinär. Fölen kom från 10 olika gårdar, som var utspridda över sydvästra till norra Island, med 4-12 föl per gård. Tre gårdar befann sig i sydvästra Island, tre gårdar i nordvästra Island och fyra gårdar i norra Island (figur 1).

Kontrollerna utgjordes av en grupp obehandlade föl på gård 1 som hölls tillsammans med fölen från gård 1 men som inte behandlades. Träckprover togs från fölen i samband med avmaskning och uppföljande träckprov togs 10-16 dagar senare. Alla fölen avmaskades mellan den 30 september och 15 oktober. De flesta träckprov togs från marken efter att fölen setts defekera, men i de fall fölen inte defekerade togs prov rektalt. Proverna parades på individnivå och identifikation gjordes med hjälp av signalement från djurägare och ID-märkning. Proverna förvarades kylda fram till analysering. Analysering gjordes inom 72 timmar för samtliga prov.

Alla fölen avmaskades med ivermektin (4 ml, s.c. injektion, Ivomec 10 mg/ml, Boehringer Ingelheim Animal Health eller Noromectin vet. 10 mg/ml, Norbrook) av lokal veterinär. Tiden för avmaskning påverkades inte av studien utan skedde när den normalt skulle ske enligt djurägarens plan. Fölens vikt är uppskattad till 150-200 kg. Dosen blev då beroende på fölens vikt 0,2-0,27 mg/kg.



Figur 1. Karta över gårdarnas lokalisation (Google Maps, 2020).

### Modifierad McMaster

För att analysera träckproverna användes modifierad McMaster-metod enligt Roepstorff & Nansen (1998). Fyra gram träck blandades med 56 ml kranvatten i Sorvall® Omni-mixer i 30-60 sekunder i en hastighet av 1500-2000 varv per minut. Mixturen hölls genom en stålsil med hålstorleken 0,8 mm. Den avsilade vätskan samlades upp i en bägare. Innehållet i silen skrapades ihop och tryckes till med en tesked ett par gånger innan det kastades. Den avsilade vätskan sögs upp med en pipett fem gånger för att blandas innan den överfördes till ett 10 ml provrör som fylldes upp till 1,5 cm från kanten. Provröret centrifugerades i 5 minuter vid en hastighet av 2000 varv per minut. Därefter hölls supernatanten av och kastades. Röret fylldes med mättad magnesiumsulfatlösning (FASOL® reagent från Kruuse, Langeskov, Danmark, specifik vikt 1.225 g/ml) till samma nivå som innan. Innehållet blandades med hjälp av träpinnar. Röret vändes 4 gånger med tummen för öppningen och flyttades sedan omedelbart över till två McMasterkammare med hjälp av en pipett. Två McMaster-kammare fylldes för varje prov. Kamrarna tilläts vila 3-5 minuter innan räkning.

Vissa prover innehöll mindre än 4 gram träck. Mängden vätska modifierades då så att det blev 14 ml vatten per gram träck.

## Faecal egg count reduction test

Inklusionskriterierna var att fölen vid första provtagning skulle ha över 100 EPG och att det var minst 4 föl på samma gård med minst 100 EPG. Data analyserades genom ett webbaserat program utvecklat av matematikinstitutionen vid Zürichs universitet, sponsrat av Schweiz nationella forskningsstiftelse. Metoden finns beskriven av Torgerson *et al.* (2014).

## Karyotypning

Träckprover från två gårdar från olika regioner polades ihop gårdsvis. Träcken blandades sedan med vatten och silades två gånger, först genom 1 mm och sedan 150 µm. Sedan tvättades äggen och samlades upp i en sil med 60 µm hål. Äggens kapsel avlägsnades med tre tvättar i 2 % natriumhypoklorid i 16,5 % natriumklorid. Därefter sköljdes äggen sex gånger i vatten. Äggen koncentrerades genom centrifugering och förvarades i 4°C eller inkuberades i 37°C i 2 timmar i väntan på första eller andra celldelningen. Äggen fixerades sedan i en mixtur av metanol, ättiksyra och kloroform (6:3:1) och tvättades sedan två gånger med vatten. En droppe med ungefär 500 ägg placerades sedan på ett objektglas under ett täckglas. Tryck sattes på täckglaset under 1 minut för att krossa äggen och placerades sedan i flytande kväve i 1 minut för frysning. Täckglaset togs sedan bort och ett nytt täckglas med ProLong® Diamond Antifade Mountant med DAPI (Life Technologies) anlades. Efter en inkubationstid på 24 timmar i rumstemperatur skyddat från ljus undersöktes äggen i ett fluorescerande mikroskop (Nikon).

## RESULTAT

### EPG och FECRT

På alla 10 gårdar samt i kontrollgruppen fanns det 2 eller fler föl som urskilde *Parascaris*-ägg i feces (tabell 2). Prevalensen av spolmask hos de 85 provtagna fölen var 80 % (68 st). Före avmaskning var det totalt 17 föl som urskilde <7,5 EPG och efter behandling var det 18 föl som urskilde <7,5 EPG. 47 av fölen hade måttlig eller kraftig förekomst av ägg i träck innan avmaskning (>200 EPG) och 43 hade måttlig eller kraftig förekomst efter avmaskning. Medianen innan avmaskning var 270 EPG och 188 EPG efter avmaskning. Högst uppmätta förekomst hos en individ före avmaskning var 3735 EPG, högsta förekomsten efter var 8183 EPG, dessa prover var från samma individ från gård nummer 6. På fem av gårdarna (gård 1, 3, 6, 8 och 10) samt kontrollgården ökade medelvärdet för EPG vid andra provtagningen. På tre av gårdarna (gård 2, 5 och 9) minskade medelvärdet för EPG och på en gård var det oförändrat (gård 7).

Tabell 2. Lista över gårdarna, i vilken region de fanns, antal föl och åldersspann. EPG beräknades innan samt ungefär 14 dagar efter behandling. Tabellen visar medeltal för EPG innan och efter behandling. Tabellen visar också EPG för den individ som urskiljde minst ägg vid respektive provtagning (EPG min) samt EPG för den individ som urskiljde högst antal ägg vid respektive provtagning (EPG max). <sup>1</sup>Se figur 1 för karta

Gård	Region <sup>1</sup>	Antal föl	Ålder (månader)	Före behandling			Efter behandling		
				EPG medel	EPG min	EPG max	EPG medel	EPG min	EPG max
1	N	8	4-5	512	53	1290	572	23	1725
2	N	12	2-4	1033	0	2378	693	0	1298
3	N	9	3-5	318	0	735	569	0	1583
4	N	9	3-5	240	0	1478	100	0	255
5	NW	7	2-5	514	0	1140	229	0	848
6	SW	4	3-4	2987	1943	3735	3651	8	8183
7	SW	8	2-5	473	0	1688	473	0	2640
8	SW	7	3-5	658	0	1575	804	15	1943
9	NW	6	2-4	140	0	518	133	0	780
10	NW	5	3	5	0	15	24	0	53
Kontroll	N	10	4-5	509	8	1763	517	8	1583

För beräkning av FECR-test mötte gård 9 och 10 samt totalt 35 av 85 föl inte inklusionskriterierna om att ha minst 100 EPG och att minst 4 föl från varje gård skulle ha över 100 EPG vid första provtagningen. Totalt inkluderades 44 föl och 6 kontroller (tabell 3). Inga föl som var  $\leq 2$  månader inkluderades i testet. Mest troligt var även dessa individer infekterade men under prepatensperioden. I övrigt sågs inga tydliga samband mellan ålder och äggurskiljning.

Tabell 3. Lista över gårdar och antal föl som inkluderats i FECRT. Medelvärdet för EPG hos inkluderade individer vid provtagning innan och efter behandling presenteras gårdsvis

Gård	Region	Antal föl	Ålder (månader)	Medelvärde EPG före	Medelvärde EPG efter
1	N	7	4-5	578	641
2	N	9	4	1370	908
3	N	6	3-4	478	738
4	N	4	4-5	488	100
5	NW	5	3-5	708	229
6	SW	4	3-4	2987	3651
7	SW	4	3-4	939	473
8	SW	5	4-5	905	804
Kontroll	N	6	4-5	823	548

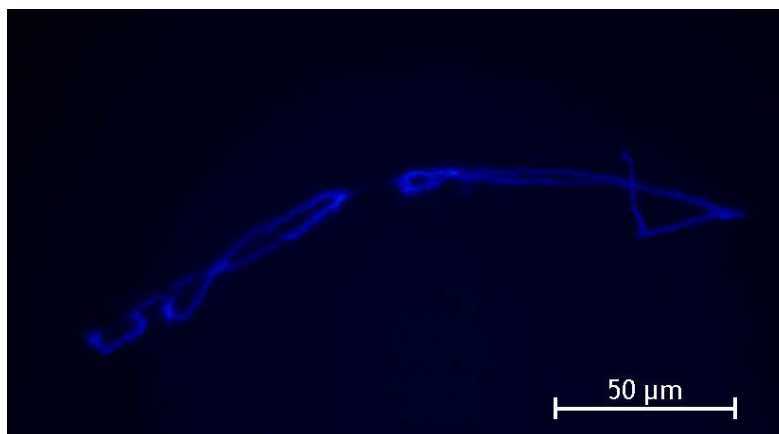
Tillfredsställande anthelmintisk effekt (>95 %) uppnåddes inte på någon av gårdarna (tabell 4). Fyra av gårdarna hade 0 % FECR. Kontrollgruppen hade 34 % reduktion av parasitägg (FECR), vilket återspeglar den naturliga förändringen av EPG under studiens utförande.

Tabell 4. Resultat av FECRT. Presenteras gårdsvis med konfidensintervall (95 %)

Gård	FECR	Konfidensintervall (95 %)
1	0 %	0-0,01
2	34 %	0,32-0,36
3	0 %	0-0
4	81 %	0,79-0,83
5	56 %	0,54-0,59
6	0 %	0-0
7	6 %	0,01-0,1
8	0 %	0-0,01
Kontroll	34 %	0,31-0,36

### Karyotypning

Från de båda gårdarna från olika regioner, sydvästra respektive norra Island, påvisades *Parascaris univalens*. Arten identifierades med sitt enkla par av kromosomer i mitotisk anafas. Inga celler med dubbel uppsättning som ses hos *Parascaris equorum* kunde påvisas.



Figur 2. 400X förstoring. DAPI-färgat *Parascaris univalens* ägg vid första mitotiska delningen där ett par kromosomer ses.

### DISKUSSION

I denna studie identifierades arten av spolmask som *Parascaris univalens*. Detta är i enlighet med Nielsen *et al.* (2014b) där den senaste forskningen tyder på att *Parascaris univalens* är mer vanligt förekommande än *Parascaris equorum* (Jabbar *et al.*, 2014; Martin *et al.*, 2018; Nielsen *et al.*, 2014b).

Resultatet av den här studien visar mycket dålig anthelmintisk effekt av ivermektin vid behandling av spolmaskinfektion. Resistensläget liknar det som setts i Australien, Nederländerna, USA, Kanada, Finland, Danmark, Italien och Tyskland (Armstrong *et al.*, 2014; Boersema *et al.*, 2002; Craig *et al.*, 2007; Hearn & Peregrine, 2003; Näreaho *et al.*, 2011; Schougaard & Nielsen, 2007; Slocombe *et al.*, 2007; Veronesi *et al.*, 2009; von Samson-Himmelstjerna *et al.*, 2007). Med Islands geografiska läge och importförbud av häst sedan över



1000 år kan det antas att den resistens som ses i den här studien har utvecklats enskilt och oberoende av import av resistent maskar hos levande djur från andra delar av världen. Detta är mycket intressant då *Parascaris* spp. verkar mycket benägen till att utveckla resistens, trots att ivermektin används mindre frekvent än i andra länder än Island. I den här studien ses resistensmönster hos *Parascaris* spp. liknande dem i andra länder i världen, något som tyder på att resistens har utvecklats på ett liknande sätt trots mycket olika avmaskningsrutiner, geografi, historia och hästhållning. Av detta kan vi dra slutsatsen att även mindre frekvent avmaskning än var 6-8 vecka leder till resistensutveckling. Detta stämmer överens med studien av Leathwick *et al.* (2017) som genom en matematisk modell visar att resistens kan utvecklas även vid avmaskning en gång på år och att fölens ålder vid avmaskningen hade stor påverkan på hur snabbt resistensen utvecklades. Enligt modellen ses det första tecknet på resistens (FECR <90 %) när fölen avmaskades en gång per år vid 3 eller 4 månaders ålder redan efter ungefär 2000 dagar. Vid avmaskning vid 2 månaders ålder sågs resistens efter 4500 dagar. Vid avmaskning vid 5 månaders ålder utvecklades resistens efter knappt 7000 dagar. Om avmaskning skedde vid en månads ålder eller 6-12 månaders ålder sågs ingen resistensutveckling under de 20 år man följt samma avmaskningsstrategi.

Ivermektin är ett av de anthelmintikum som snabbast utvecklar resistens (Leathwick *et al.*, 2017). Detta kan förklaras av dess avdödande effekt på samtliga utvecklingsstadier hos nematoder. Enligt Leathwick *et al.* (2017) selekterar behandling vid 3 eller 4 månaders ålder hårdare för resistens än om man avmaskar tidigare eller senare. Detta tros bero på att en enkel behandling vid denna ålder har störst effekt på äggproduktion hos mottagliga genotyper. De parasiter som överlever behandlingen och är resistent kommer då att utgöra en större andel av populationen framöver. Den del av populationen som inte utsätts för behandling kallas för att vara i refugia och utsätts inte för selektionstryck. Att medvetet se till att en del av parasitpopulationen inte utsätts för anthelmintika kan minska utveckling av resistens, till exempel genom att inte behandla en andel av individerna som bär på parasiter (Waghorn *et al.*, 2008). Detta leder till att kommande generationer parasiter i större utsträckning kommer vara känsliga för behandling vid anthelmintika eftersom selektionstryck inte utövats. En annan aspekt av detta tillvägagångssätt är att man riskerar att öka den totala parasitbördan inom en grupp eller på ett bete, något som kan leda till negativa konsekvenser för djuren trots att parasiterna är känsligare för anthelmintikum.

Efter 6 månaders ålder utvecklar föl gradvis immunitet mot *Parascaris* spp., detta gör att bara en enda behandling under denna period eliminerar en stor del av de mottagliga parasiterna. En strategi som denna medför ett ökat selektionstryck för resistens och ökad andel resistent individer i kommande generationer (Leathwick *et al.*, 2016). Fölen i den här studien var mellan 2-5 månader gamla, varav de flesta 3-4 månader gamla vid behandlingen. Detta kan förklara varför vi ser så utbredd resistens hos parasiterna i den här studien.

På Island har hästarna oftast tillgång till stora eller mycket stora betesmarker. Detta torde i teorin bidra till ett lågt smittyck och minskat behov av avmaskning. Hur *Parascaris*-ägg överlever i miljön är inte helt klart. Tidigare antogs det att de hade god överlevnad i minst 18 månader (Ihler, 1995), men en senare översiktsartikel sammanfattade att överlevnaden kan vara betydligt kortare än så (Nielsen, 2016). Enligt Ihler (1995) påverkade också typen av

jordmån överlevnaden hos ägg. Någon analys av jordmänen har inte gjorts i den här studien. Om överlevnaden är dålig på beten och smittrycket är lågt blir populationen parasiter i refugia låg, vilket kan bidra till en snabbare resistensutveckling. Huruvida klimatet påverkar äggöverlevnaden på beten är ännu ej klarlagt, och därmed går det inte ange om klimatet på Island är gynnsamt eller ej för parasitägg på beten.

Hästarna och fölen i den här studien behandlades subkutant med ivermektin. Det är tidigare visat att den subkutana injektionen uppnår högre plasmanivåer under längre tid än den orala beredningen (Marriner *et al.*, 1987). En senare studie jämförde effekten av oral administrering jämfört med intramuskulär injektion på små blodmaskar (Saumell *et al.*, 2017). Högst plasmakoncentrationer uppnåddes vid intramuskulär injektion, men den orala beredningen hade 100 % minskning av EPG efter behandling medan den intramuskulära injektionen bara hade 36-64 % läkemedelseffekt. Slutsatsen av den studien var att högre koncentrationer uppnås i tarmen vid oral administration, detta påverkar parasiterna direkt och har på så sätt en bättre anthelmintisk effekt. Relevansen av detta är stor då suboptimala koncentrationer av läkemedlet kan bidra till ökad resistensutveckling. Med den informationen måste vi ställa oss frågan om verklig resistens föreligger eller om det är dos och administrationssätt som är orsak till behandlingssvikt i denna studie. En studie som utfördes parallellt med denna undersökte anthelmintisk effekt av ivermektin mot en annan nematod, lilla blodmasken, hos samma individer som deltog i denna studie med samma administrationssätt. Där var resultatet annorlunda och betydligt bättre effekt sågs, FECR 87,6 % - 100 % (opublicerade data). I den studien verkar man ha kommit upp i terapeutisk dos. *Parascaris* spp. är dock minst känslig för anthelmintika av de nematoder som finns hos häst och därmed den parasit som är dosbestämmande (Nielsen *et al.*, 2014a). Anledningen till att den subkutana injektionen användes av hästägarna i den här studien var att det sparade tid då det var många, ofta ohanterade hästar förutom fölen som skulle avmaskas på varje gård.

## KONKLUSION

Subkutaninjektion av ivermektin med en dos av 0,2-0,27 mg/kg ej har tillräcklig anthelmintisk effekt. Om detta beror på behandlingssvikt på grund av för låga läkemedelkoncentrationer eller om det föreligger verklig resistens är svårt att svara på. En uppföljande studie där effekt av oral administrering testas hade varit ett bra komplement till denna studie. Den vanligt förekommande resistensen på många andra platser i världen talar dock för att det med stor sannolikhet är resistens vi ser även i denna studie. Frågan är då om suboptimala läkemedelskoncentrationer på grund av subkutan administration bidragit till resistensutveckling eller inte. Om sann resistens föreligger på Island är det intressant att analysera vilka gener det är som ligger bakom resistensen för att få större förståelse kring hur anthelmintikaanvändning orsakar läkemedelsresistens hos inälvparasiter hos häst.

## POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Spolmask hos häst är en vanligt förekommande parasit som finns i tunntarmen hos föl och unga hästar. Hästarna infekteras på betet vid tidig ålder och bygger succesivt upp ett effektivt immunförsvar mot parasiten, varför infektion hos vuxna hästar är ovanlig. Spolmaskägg på beten intas av hästarna när dom betar. Äggen kläcks i tarmen och migrerar sedan genom lever och lungor. Från lungorna hostas de upp och sväljs sedan ner till magen igen. Åter i tarmen mognar parasiten till vuxet stadie, den är då ungefär lika stor som en penna. Den vuxna masken lägger ägg som utsöndras tillsammans med avföringen. På så sätt är livscykeln fullbordad och äggen kan via betet infektera nya individer. Symptom från luftvägar i form av näsflöde och hosta, dålig tillväxt samt i allvarliga fall förstoppning och tarmruptur till följd av hög parasitbörda kan ses. På grund av de potentiellt allvarliga biverkningarna avmaskas de flesta fölen mot spolmask en till flera gånger under sitt första levnadsår. På senare år har man sett ökat antal fall där avmaskningsmedel ej haft fullgod effekt vilket innebär att maskarna uppvisar resistens mot avmaskningsmedel. Av denna anledning undersöker den här studien effekten av ivermektin, ett vanligt förekommande avmaskningsmedel, på spolmask på Island. Effekten av ivermektin har aldrig tidigare undersökts på Island.

Island har en speciell hästhållning. Hästarna går i stora grupper över stora ytor. Avmaskningarna sker endast 1-2 gånger per år på de gårdar som ingår i studien. Flera av gårdarna låter hästarna beta fritt uppe i bergen på somrarna. Studien genomfördes genom att avföringsprov från 85 föl i åldrarna 2-5 månader. Fölen befann sig på 10 olika gårdar med 4-12 föl per gård, utspridda över syd-västra till norra Island. Avföringsprover togs i samband med avmaskning och 14 dagar senare. Proverna analyserades för förekomsten av spolmaskägg. För att säga att avmaskningsmedlet har god effekt ska man se 95 % minskad mängd ägg i avföringen mellan den första och andra provtagningen. I den här studien sågs mycket dålig effekt av ivermektin. Resultatet varierade mellan 0 % - 81 % minskning av ägg i avföringen per gård.

Det finns två arter av spolmask hos häst. Den ena benämns *Parascaris equorum* och den andra *Parascaris univalens*. Det har tidigare antagits att *P. equorum* varit den vanligare av de två arterna, men nyare studier visar på att förhållandet är det omvända. Arterna är mycket lika och har identiskt levnadssätt. Skillnaden mellan arterna att är *P. univalens* har en enkel kromosomuppsättning medan *P. equorum* har dubbel. Detta kan åskådliggöras genom att man inkuberar äggen så att den första celledningen sker. Sedan fixerar man äggen i det läget, färgar in dem med fluorescerande färg och tittar på i ett fluorescerande mikroskop. I den här studien kunde endast enkla uppsättningar av kromosomer ses, och därmed identifierades arten *P. univalens*.

I det här försöket användes en injektionsform av ivermektin. Detta är på grund av att hästhållningen på Island ser annorlunda ut än på många andra platser i världen. På somrarna går ston och föl uppe på bergen och betar och när fölen ska avmaskas på hösten är det ofta deras första kontakt med människor. Av denna anledning har vissa hästägare och veterinärer valt att administrera läkemedlet genom injektion. I Sverige finns läkemedlet ivermektin till häst bara registrerat som pasta som ges via munnen. Djurägarna anser att det tar längre tid och är mer stressande för hästarna att ge läkemedlet via munnen, därav har man valt injektionsformen istället. I studier har man sett att ivermektin har bäst effekt när det ges via munnen eftersom

högst koncentration uppnås där parasiterna befinner sig – i tarmen. Att läkemedlet getts via injektion skulle kunna förklara varför otillräcklig behandlingseffekt ses.

Eftersom det är omöjligt att sanera bort parasitägg från miljö och beten är inte målet med avmaskning av häst att få bort alla parasiter. Målet är att minska risken för sjukdom till följd av infektion samtidigt som man behandlar på ett sådant sätt som i minsta möjlig mån orsakar resistens. För att uppnå detta är det av stor vikt att hästarna avmaskas vid rätt ålder. Avmaskning vid 3 och 4 månaders ålder har visat sig bidra till resistensutveckling i högre utsträckning än vid avmaskning vid andra tidpunkter under fölets första levnadsår. Majoriteten av hästarna i den här studien var 3 och 4 månader gamla då avmaskningen ägde rum. Ett annat sätt att fördröja resistensutveckling är att man behandlar så liten del av parasitpopulationen som möjligt. Ej behandlade parasiter bidrar inte till ökad resistens. Detta innebär att man ej bör avmaska när förhållandena gör att parasitägg har svårt att överleva i miljön, till exempel vid torka. En kombination av avmaskning av föl i fel ålder samt en liten population av obehandlade maskar varje år kan ha bidragit till resistensutvecklingen vi ser i vår studie.

## REFERENSER

- Armstrong, S.K., Woodgate, R.G., Gough, S., Heller, J., Sangster, N.C. & Hughes, K.J. (2014). The efficacy of ivermectin, pyrantel and fenbendazole against *Parascaris equorum* infection in foals on farms in Australia. *Veterinary Parasitology* 205:575–580.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.028>
- Bello, T.R. (1989). Anthelmintic effects of injectable and oral paste formulations of ivermectin against 28-day infections of *Parascaris equorum*. *Journal of Equine Veterinary Science* 9:307–309.  
[https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(89\)80062-0](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(89)80062-0)
- Biocca, E., Nascetti, G., Iori, A., Costantini, R. & Bullini, L. (1978). Descrizione di *Parascaris univalens*, parassita degli equini, e suo differenziamento da *Parascaris equorum*. *Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti* 65.3-4:133–140.
- Boersema, J.H., Eysker, M. & Nas, J.W.M. (2002). Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. *Veterinary Record*. 150:279–281. <https://doi.org/10.1136/vr.150.9.279>
- Clayton, H.M. & Duncan, J.L. (1977). Experimental *Parascaris equorum* infection of foals. *Research in Veterinary Science* 23:109–114.
- Clayton, H.M. & Duncan, J.L. (1978). Clinical signs associated with *parascaris equorum* infection in worm-free pony foals and yearlings. *Veterinary Parasitology* 4:69–78.  
[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(78\)90037-7](https://doi.org/10.1016/0304-4017(78)90037-7)
- Clayton, H.M. (1986). Ascarids. Recent advances. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*. 2:313–328. [https://doi.org/10.1016/s0749-0739\(17\)30718-6](https://doi.org/10.1016/s0749-0739(17)30718-6)
- Craig, T.M., Diamond, P.L., Ferwerda, N.S. & Thompson, J.A. (2007). Evidence of ivermectin resistance by *Parascaris equorum* on a Texas horse farm. *Journal of Equine Veterinary Science* 27:67–71. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2006.12.002>
- Cribb, N., Coté, N., Bouré, L. & Peregrine, A. (2006). Acute small intestinal obstruction associated with *Parascaris equorum* infection in young horses: 25 cases (1985–2004). *New Zealand Veterinary Journal* 54:338–343. <https://doi.org/10.1080/00480169.2006.36721>
- Evans, A. (2008). *Iceland: The Bradt Travel Guide*. Bradt Travel Guides.
- FASS (2020). *Ivermectin*. Tillgänglig:  
<https://www.fass.se/LIF/substance?userType=1&substanceId=IDE4POFCUAWB7VERT1> [2020-02-08]
- French, D.D., Klei, T.R., Taylor, H.W., Chapman, M.R. & Wright, F.R. (1988). Efficacy of ivermectin in the oral paste formulation against naturally acquired adult and larval stages of *Parascaris equorum* in pony foals. *American Journal of Veterinary Research* 49:1000–1003.
- Goday, C. & Pimpinelli, S. (1984). Chromosome organization and heterochromatin elimination in *Parascaris*. *Science* 224:411–413.
- Google Maps (2020). Tillgängligt: <https://www.google.se/maps/@64.9721057,-18.9961978,6z> [2020-02-28]
- Hearn, F.P.D. & Peregrine, A.S. (2003). Identification of foals infected with *Parascaris equorum* apparently resistant to ivermectin. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223:482–485. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.223.482>

- Ihler, C.F. (1995). The distribution of *Parascaris equorum* eggs in the soil profile of bare paddocks in some Norwegian studs. *Veterinary Research Communications* 19:495–501. <https://doi.org/10.1007/BF01839338>
- Jabbar, A., Littlewood, D.T.J., Mohandas, N., Briscoe, A.G., Foster, P.G., Müller, F., von Samson-Himmelstjerna, G., Jex, A.R. & Gasser, R.B. (2014). The mitochondrial genome of *Parascaris univalens* - implications for a “forgotten” parasite. *Parasites and Vectors* 7:428. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-428>
- Kaplan, R.M. & Nielsen, M.K. (2010). An evidence-based approach to equine parasite control: It ain’t the 60s anymore. *Equine Veterinary Education* 22:306–316. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2010.00084.x>
- Leathwick, D.M., Sauermann, C.W., Donecker, J.M. & Nielsen, M.K. (2016). A model for the development and growth of the parasitic stages of *Parascaris* spp. in the horse. *Veterinary Parasitology* 228:108–115. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.019>
- Leathwick, D.M., Sauermann, C.W., Geurden, T. & Nielsen, M.K. (2017). Managing anthelmintic resistance in *Parascaris* spp.: A modelling exercise. *Veterinary Parasitology* 240:75–81. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.03.026>
- Lind, E.O. & Christensson, D. (2009). Anthelmintic efficacy on *Parascaris equorum* in foals on Swedish studs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51, 45. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-51-45>
- Lindgren, K., Ljungvall, Ö., Nilsson, O., Ljungström, B.-L., Lindahl, C. & Höglund, J. (2008). *Parascaris equorum* in foals and in their environment on a Swedish stud farm, with notes on treatment failure of ivermectin. *Veterinary Parasitology* 151:337–343. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.10.014>
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M. & Collins, S.S. (2008). Evaluation of parasitocidal activity of fenbendazole, ivermectin, oxibendazole, and pyrantel pamoate in horse foals with emphasis on ascarids (*Parascaris equorum*) in field studies on five farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitology Research*, 287–291. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-0966-8>
- Marriner, S.E., McKinnon, I. & Bogan, J.A. (1987). The pharmacokinetics of ivermectin after oral and subcutaneous administration to sheep and horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 10:175–179. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1987.tb00097.x>
- Martin, F., Höglund, J., Bergström, T.F., Karlsson Lindsjö, O. & Tydén, E. (2018). Resistance to pyrantel embonate and efficacy of fenbendazole in *Parascaris univalens* on Swedish stud farms. *Veterinary Parasitology* 264:69–73. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.11.003>
- Näreaho, A., Vainio, K. & Oksanen, A. (2011). Impaired efficacy of ivermectin against *Parascaris equorum*, and both ivermectin and pyrantel against strongyle infections in trotter foals in Finland. *Veterinary Parasitology* 182:372–377. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.045>
- Nielsen, M.K., Reinemeyer, C.R. & Sellon, D.C. (2014a). 57 Nematodes. I: Sellon, D.C., Long, M. (red). *Equine Infectious Diseases*. St. Louis: W.B Saunders, 475-489.
- Nielsen, M.K., Wang, J., Davis, R., Bellaw, J.L., Lyons, E.T., Lear, T.L. & Goday, C. (2014b). *Parascaris univalens*—a victim of large-scale misidentification? *Parasitology Research* 113:4485–4490. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4135-y>
- Nielsen, M.K., Baptiste, K.E., Tolliver, S.C., Collins, S.S. & Lyons, E.T. (2010). Analysis of multiyear studies in horses in Kentucky to ascertain whether counts of eggs and larvae per gram of

- feces are reliable indicators of numbers of strongyles and ascarids present. *Veterinary Parasitology* 174:77–84. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.08.007>
- Nielsen, M.K. (2016). Evidence-based considerations for control of *Parascaris* spp. infections in horses. *Equine Veterinary Education* 28:224–231. <https://doi.org/10.1111/eve.12536>
- Nielsen, M.K., Donoghue, E.M., Stephens, M.L., Stowe, C.J., Donecker, J.M. & Fenger, C.K. (2016). An ultrasonographic scoring method for transabdominal monitoring of ascarid burdens in foals. *Equine Veterinary Journal* 48:380–386. <https://doi.org/10.1111/evj.12478>
- Nielsen, M.K., Mittel, L., Grice, A., 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> [2020-01-29]
- Rang, H.P. & Dale, M.M. (2003). *Pharmacology*. 5. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Roepstorff, A., & Nansen, P. (1998). *Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Swine* (Vol. 3). Rom: Förenta nationernas livsmedels- och jordbruksorganisation, FAO.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.01.025>
- Schougaard, H. & Nielsen, M.K. (2007). Apparent ivermectin resistance of *Parascaris equorum* in foals in Denmark. *The Veterinary Record*. 160:439–440. <https://doi.org/10.1136/vr.160.13.439>
- Slocombe, J.O.D., de Gannes, R.V.G. & Lake, M.C. (2007). Macrocytic lactone-resistant *Parascaris equorum* on stud farms in Canada and effectiveness of fenbendazole and pyrantel pamoate. *Veterinary Parasitology*, 145:371–376. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.008>
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (2018). *Avmaskning av häst*. Tillgänglig: <https://www.sva.se/djurhalsa/hast/parasiter-hos-hast/avmaskning-av-hast> [2019-11-12]
- Tatz, A.J., Segev, G., Steinman, A., Berlin, D., Milgram, J. & Kelmer, G. (2012). Surgical treatment for acute small intestinal obstruction caused by *Parascaris equorum* infection in 15 horses (2002–2011). *Equine Veterinary Journal*. 44:111–114. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00607.x>
- Torgerson, P.R., Paul, M. & Furrer, R. (2014). Evaluating faecal egg count reduction using a specifically designed package “eggCounts” in R and a user friendly web interface. *International Journal for Parasitology*. 44:299–303. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.01.005>
- van Beneden, E. (1883). *Recherches sur la Maturation de L’Oeuf, la Fécondation et la Division Cellulaire*. Gand, Leipzig, Paris.
- Veronesi, F., Moretta, I., Moretti, A., Fioretti, D.P. & Genchi, C. (2009). Field effectiveness of pyrantel and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment in Italian horse farms. *Veterinary Parasitology*. 161:138–141. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.01.004>
- von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schürmann, S., Rohn, K., Schnieder, T. & Epe, C. (2007). Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. *Veterinary Parasitology*. 144:74–80. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.09.036>

Waghorn, T.S., Leathwick, D.M., Miller, C.M. & Atkinson, D.S. (2008). Brave or gullible: Testing the concept that leaving susceptible parasites in refugia will slow the development of anthelmintic resistance. *New Zealand Veterinary Journal* 56:158–163.  
<https://doi.org/10.1080/00480169.2008.36828>