



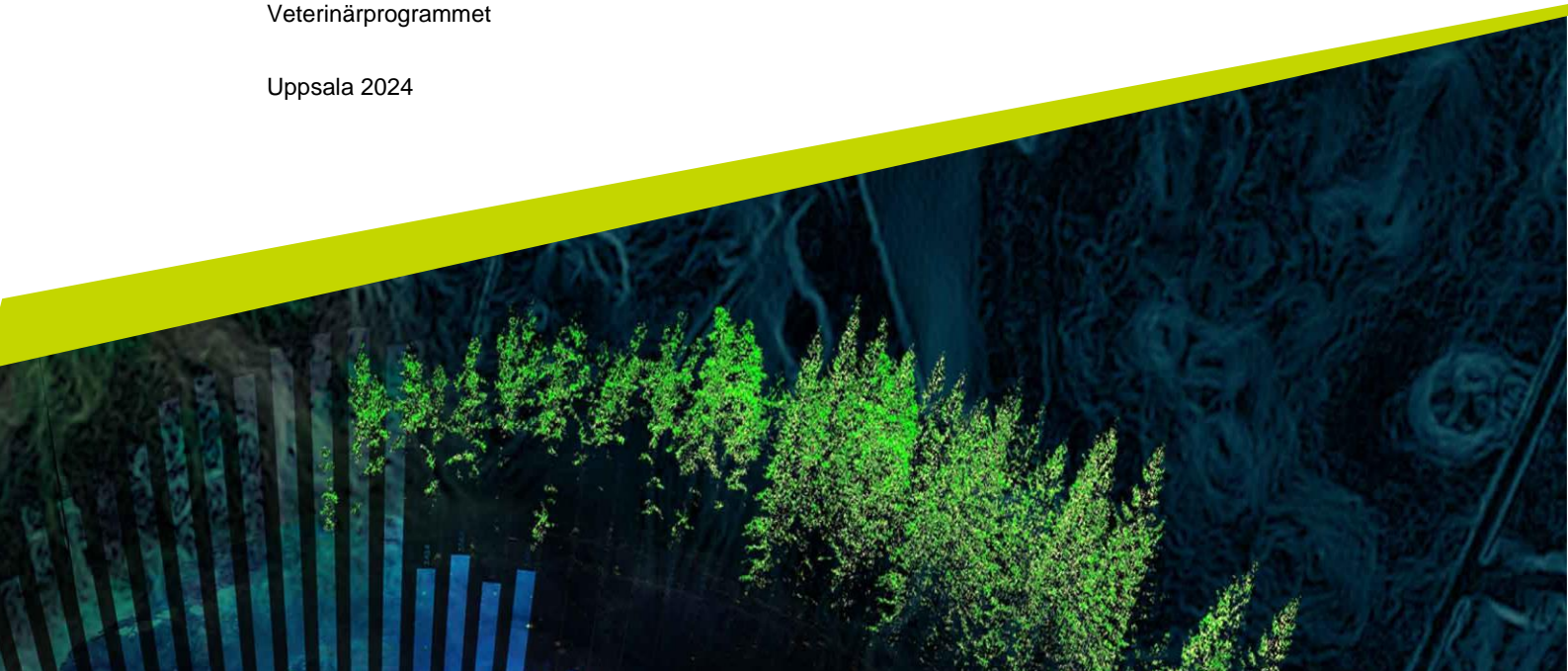
Förekomst av bandmask hos föl i Mälardalen

En jämförelse mellan koprologisk och serologisk
diagnostik

Elvira Nordin

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Uppsala 2024



Förekomst av bandmask hos föl i Mälardalen - en jämförelse mellan koprologisk och serologisk diagnostik

Occurrence of tapeworm in foals – a comparison between coprological and serological diagnostics

Elvira Nordin

Handledare: Frida Martin, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Bitr handledare: Eva Tyden, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Peter Halvarsson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX1003

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2024

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: *Anoplocephala*, Cestoder, Prevalens, Häst, Ekvin, ELISA, Flotation

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Anoplocephala perfoliata är den vanligaste bandmasken som hästar infekteras av och infektion med cirka 20 bandmaskar eller fler kan orsaka kolik. Förekomsten av bandmask hos vuxna hästar har studerats i många länder och prevalensen har varierat, i Sverige har undersökningar visat prevalenser mellan 3–65 % vilket bland annat är beroende av analysmetoden. Hos föl är förekomsten av bandmask inte utforskad i någon större utsträckning, och avmaskningsrekommendationerna som gäller i nuläget är att föl bör avmaskas mot bandmask om parasiten förekommer på betena. Denna studie undersöker förekomsten av bandmask hos föl som är runt sex månader gamla samt jämför de diagnostiska metoderna kvalitativ flotation och salivbaserad enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Hästar från fem olika gårdar i Mälardalsregionen provtogs under hösten 2023, totalt 45 föl och 33 ston där de flesta ston var mödrar till fölen. Från fölen samlades både träck- och salivprover in och från stona enbart salivprover för att avgöra om bandmask överhuvudtaget förekommer på gårdarna. Träckproverna analyserades med kvalitativ flotation på Sveriges lantbruksuniversitets parasitlaboratorium medan salivproverna analyserades med ELISA av Austin Davis Biologics Ltd i Storbritannien.

Vid analys av träckproverna påvisades inga bandmaskägg från något föl medan salivbaserad ELISA påträffade antikroppar mot bandmask hos 53 % (24 av 45) av fölen. Hos stona hittades antikroppar hos 94 % (31 av 33). En signifikant korrelation mellan tidpunkt för provtagning och antikropps-nivåer hos fölen påvisades också. Utifrån resultatet bör de nuvarande avmaskningsrekommendationerna avseende bandmask behållas eftersom fölen sannolikt är infekterade om betena är kontaminerade med parasiten. Vidare forskning bör genomföra en studie i större omfattning med vidare geografisk distribution av gårdar och fler provtagna föl för att undersöka prevalensen av bandmask hos föl i Sverige.

Nyckelord: *Anoplocephala*, Cestoder, Häst, Ekvin, Prevalens, ELISA, Flotation

Abstract

The most common tapeworm in horses is called *Anoplocephala perfoliata*. Infection may cause colic in horses, the likelihood of colic increases with the number of worms the horse is infected with. The prevalence of tapeworm in adult horses has been examined in multiple countries and varies between 3-65% in Sweden depending on the study. The presence of tapeworm in foals have not been studied in any wider extent in Sweden. The current recommendations regarding tapeworm treatment of foals are to treat foals if they are kept on contaminated pastures. This study investigates the presence of *A. perfoliata* in foals at the age of six months and compares the diagnostic methods modified Wisconsin flotation method and saliva-based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Samples were collected from five different farms in the area around lake Mälaren in Sweden during autumn 2023. In total 45 foals and 33 mares were tested where most of the mares were mothers of the foals. Fecal and saliva samples were collected from the foals while only saliva samples were collected from the mares. The fecal samples were analyzed using modified Wisconsin flotation at a parasite laboratory at Swedish university of agricultural sciences and the saliva samples were analyzed using ELISA by Austin Davis Biologics Ltd (Northamptonshire, UK).

No tapeworm eggs were found in the fecal samples from the foals while the saliva-based ELISA found antibodies against tapeworm in 53% (24 of 45) of the foals. Antibodies were identified in saliva from 94% (31 of 33) of the mares. There was a significant correlation between the date of sampling and presence of antibodies against tapeworm in the foals' saliva. The present recommendations regarding treatment of foals should be kept in place considering the foals are presumed to be infected if the pastures are contaminated according to the results. Further research could perform a similar study with a larger sampling group and select farms with a wider geographical distribution to receive a more representative result for all of Sweden.

Keywords: *Anoplocephala*, Cestodes, Horse, Equine, Prevalence, ELISA, Flotation

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	8
Figurförteckning.....	9
Förkortningar	10
1. Inledning	11
2. Litteraturoversikt.....	12
2.1 <i>Anoplocephala perfoliata</i>	12
2.1.1 Livscykel	12
2.1.2 Patogenes.....	14
2.1.3 Epidemiologi	14
2.2 Diagnostik	15
2.2.1 Koprologisk undersökning med kvalitativ flotation.....	15
2.2.2 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	16
2.3 Prevalens	18
2.4 Behandling	19
2.4.1 Tetrahydropyrimidiner.....	19
2.4.2 Kinolderivat	19
2.4.3 Resistens	19
2.5 Rekommendationer för avmaskning av föl i Sverige	20
2.6 Risk- och skyddsfaktorer för bandmaskinfektion	20
3. Material och metod	22
3.1 Inklusionskriterier	22
3.2 Provtagning	22
3.2.1 Provtagning saliv	23
3.2.2 Provtagning träck.....	24
3.3 Provanalys	24
3.3.1 Kvalitativ flotation.....	24
3.3.2 ELISA.....	24
3.4 Statistisk analys	26
4. Resultat	27
4.1 Enkätundersökning	27
4.2 Provtagning.....	27
4.3 Provanalys	28
4.3.1 Korrelation.....	30
5. Diskussion	32
5.1 Förekomst av bandmask hos föl.....	32
5.2 Jämförelse mellan koprologisk och serologisk diagnostik	34
5.3 Metoddiskussion	35
6. Konklusion.....	38
Referenser.....	39
Populärvetenskaplig sammanfattning	44
Tack.....	46
Bilaga 1. Följesedel för träckprov och salivprov	47
Bilaga 2. Resultat från koprologisk och serologisk undersökning	48

Tabellförteckning

Tabell 1. Provtagningsdatum för träckprover och salivprover.....	23
Tabell 2. Svar från enkät om provtagning och behandling av bandmask...	27
Tabell 3. Föl och ston som provtagits på de fem olika gårdarna.....	28

Figurförteckning

Figur 1. Livscykel för <i>Anoplocephala perfoliata</i>	13
Figur 2. Bandmaskägg visualiserat i mikroskop (Tydén, 2023).	13
Figur 3. Spridning av saliva scores hos föl och ston på de fem olika gårdarna	29
Figur 4. Spridning av saliva scores hos fölen i de olika åldersgrupperna	30
Figur 5. Korrelation mellan a) ålder och saliva score, och b) mödrarnas saliva score och fölens saliva score.	30
Figur 6. Korrelation mellan provtagningstidpunkt och saliva score hos fölen	31

Förkortningar

ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FECRT	Fecal egg count reduction test
HCl	Saltsyra
HRP	Horse radish peroxidase
OD	Optical density
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase chain reaction
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
SVA	Sveriges veterinärmedicinska anstalt
TMB	3,3',5,5'-tetramethylbenzidine

1. Inledning

Alla betande hästar exponeras för parasiter i olika omfattning och konsekvenserna kan bli avsevärda. Diarré, kolik, avmagring och nedsatt allmäntillstånd är ett urval av symptom som mag-tarmparasiter kan resultera i även om de flesta hästar är symptomfria (SVA 2023). *Anoplocephala perfoliata*, så kallad bandmask, tillhör de gastrointestinala parasiterna hos häst. Infektion kan leda till spasmodisk kolik och ileumförstoppning (Proudman *et al.* 1998).

Prevalensen av bandmask hos vuxna hästar i Sverige har undersökts i flera studier och resultaten varierar mellan 3–65 % (Nilsson *et al.* 1995; Back *et al.* 2013; Osterman-Lind *et al.* 2023). Den relativt höga prevalensen av bandmask och risken för kolik gör det betydelsefullt att kunna diagnosticera och behandla bandmaskinfektion korrekt. Diagnostiken som finns tillgänglig har dock ofta låg sensitivitet vilket gör detta till en utmaning (Reinemeyer & Nielsen 2018).

Det är grundläggande att kunna diagnosticera korrekt för att kunna behandla individer som faktiskt är parasitinfekterade. Användning av selektiv avmaskning gör att mängden anthelmintika som förbrukas minskar och därmed minskar även risken för resistensutveckling hos parasiterna. Resistens mot anthelmintika hos parasiter har de senaste årtiondena ökat i takt med behandlingsfrekvensen. Många andra inälvparasiter har utvecklat resistens mot anthelmintika vilket leder till konklusionen att det är stor risk att det även utvecklas hos hästens bandmask. Det finns rapporter om att de avmaskningsmedel (prazikvantel och pyrantel) som finns tillgängliga för att behandla bandmask har förlorat effekt (Nielsen 2023). För att minska onödig användning av pyrantel och prazikvantel och därmed minska selektionen för resistens hos bandmask bör prevalensen av parasiten i olika åldrar tas i beaktning vid rekommendationer om provtagning och behandling.

Förekomsten av bandmask hos svenska föl har ännu inte utforskats. Syftet med denna studie är därför att undersöka förekomsten av bandmask vid cirka sex månaders ålder, samt att jämföra de diagnostiska metoderna serologisk (saliv som provmaterial) och koprologisk undersökning (kvalitativ flotation). Resultaten från denna studie kan bidra till att utveckla riktlinjer om avmaskning av hästar i olika åldrar och om det krävs provtagning och avmaskning av föl mot bandmask.

2. Litteraturöversikt

2.1 *Anoplocephala perfoliata*

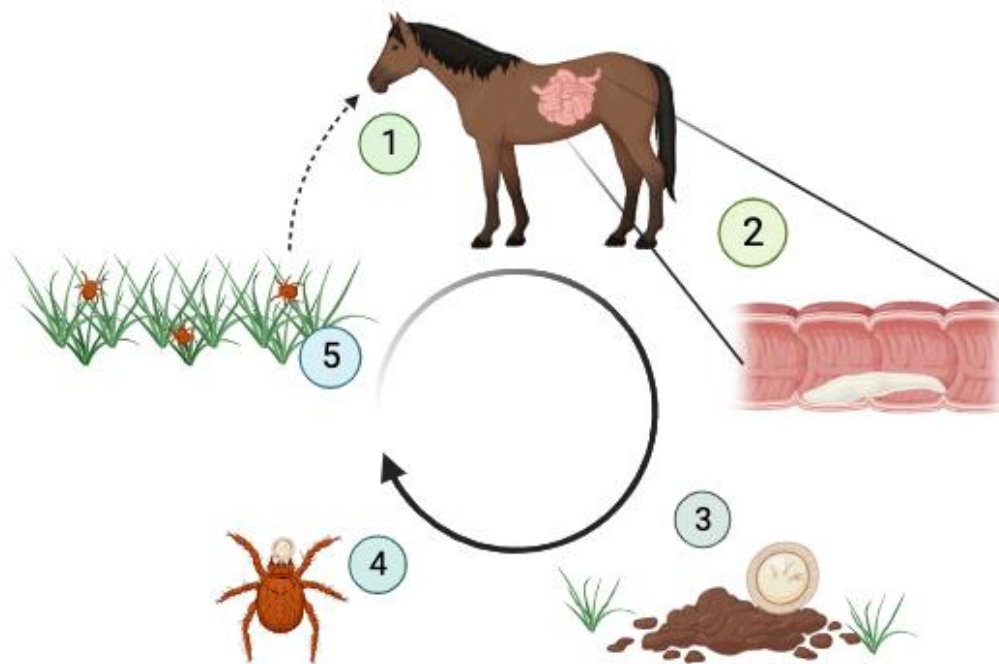
Det finns tre arter av bandmask som hästar kan drabbas av varav den vanligaste är *Anoplocephala perfoliata* (Reinemeyer & Nielsen 2018). De andra arterna av bandmask, *Anoplocephala magna* och *Anoplocephaloides mamillana*, är mindre vanliga och har ej kopplats till klinisk sjukdom. *Anoplocephala perfoliata* förekommer världen över, den har påvisats på alla kontinenter förutom Antarktis. Vuxna bandmaskar är cirka 1–8 cm långa och 1–2 cm breda, de består av segment som kallas proglottider.

2.1.1 Livscykel

Bandmask tillhör gruppen cestoder och släpper inte ifrån sig individuella ägg utan den sista proglottiden som innehåller mogna ägg lossnar intermittent och disintegrerar under överföring till omgivningen (Reinemeyer & Nielsen 2018). Följden blir att bandmaskäggets distribution i träcken hos infekterade hästar blir oregelbunden vilket försvårar diagnostiken vid träckprov. När äggen kommit ut i miljön krävs en mellanvärd som intar äggen för att bandmasken ska kunna fullgöra sin livscykel, se figur 1. Bandmaskens mellanvärd är ett horn- eller pansarkvalster från familjen Oribatidae och finns i jorden världen över. Kvalstret lever på svamphyfer och fekal debris, förekomsten av kvalstret är högst sommartid på grässlätter i humusrik jord (Jacobs 2015).

Horn- eller pansarkvalstret äter ägget från bandmasken, inuti kvalstret utvecklas bandmaskägget till ett larvstadium (oncosphere) och därefter till en cysticerkoid som är det infektiösa stadiet av parasiten (Reinemeyer & Nielsen 2018). Cysticerkoidstadiet är mest sannolikt infektiöst hela kvalstrets liv och kvalster kan troligen överleva i miljön mer än en säsong. Exakt livslängd för *A. perfoliata* är ej fastställd. Prepatensperioden för hästens bandmask anges vara mellan 6–10 veckor (Love & Mair 2012), en annan källa anger dock ett vidare spann på 6–16 veckor (Walden *et al.* 2014). Hästarna infekteras med bandmask genom att de får i sig kvalstret som innehåller cysticerkoiden tillsammans med gräset (Reinemeyer & Nielsen 2018). I

hästens magtarmkanal fäster en del av parasiten, så kallad scolex, mot slemhinnan och från den scolex som fäst kan en vuxen mask utvecklas.



Figur 1. Livscykel för *Anoplocephala perfoliata*. 1. Hästen betar och får i sig kvalster infekterade med bandmask i cysticerkoid-stadiet. 2. Bandmasken fäster till hästens tarmvägg. 3. Proglottider med ägg kommer ut i hästens träck. 4. Kvalster på betet intar bandmaskens ägg. 5. Bandmasken utvecklas från ägget inne i kvalstret innan det är redo att infektera en häst. Skapad med Biorender.com

Morfologin hos *A. perfoliata*s ägg är unik (se figur 2), de är 65–80 μm i diameter och runda eller D-formade (Walden *et al.* 2014). De har flera membran, varav det innersta membranet är format som ett päron eller en flamma och består av en kitinös pyriform apparat som är ungefär lika lång som radien på ägget. Denna pyriforma apparat innehåller det sexkantiga embryot som är cirka 16 μm i diameter.



Figur 2. Bandmaskägg visualiserat i mikroskop (Tydén 2023).

Patogenes

Predilektionsstället för *A. perfoliata* är övergången mellan ileum och cecum där de flesta maskar sitter fästa mot cecum (Reinemeyer & Nielsen 2018). De patologiska förändringar som orsakas av *A. perfoliata* är lesioner i mukosa och submukosa där parasiterna befinner sig (Pavone *et al.* 2011). Vid obduktion har ulcerationer med inflammation och infektion hittats där bandmaskar varit lokaliserade i tarmväggen, samt hypertrofi av det cirkulära muskellagret. Vid undersökning av svenska hästar efter slakt hittades lesioner med mukosaförtjockning, hyperemi, ödem och ulcerationer efter bandmaskar i tarmen (Nilsson *et al.* 1995). Vid histologisk undersökning kunde inflammatorisk cellinfiltration (eosinofiler och lymfocyter) identifieras runt lesionerna i cecum. Det finns ett signifikant samband mellan parasitbörda och graden av lesioner i mukosa och submukosa (Pavone *et al.* 2011). Ett högt antal parasiter kan göra att lesionerna förlängs ner i submukosan vilket kan störa blodflödet och nervsystemet (Nilsson *et al.* 1995; Walden *et al.* 2014).

Alla mekanismer bakom patogenesen för *A. perfoliata* är inte helt klargjorda, mest sannolikt är både mekanisk skada och antigener från parasiten av betydelse (Walden *et al.* 2014). Generellt är hästens bandmask av liten klinisk signifikans men infektion med fler än 20 bandmaskar kan signifikant öka risken för spasmodisk kolik, förstoppning i ileum och vissa typer av intussusception (Reinemeyer & Nielsen 2018). En svensk studie av Back *et al.* (2013) har också observerat att bandmask är en riskfaktor för kolik.

Hos hästar med måttlig till kraftig parasitbörda har skador på det enteriska nervsystemet observerats (Pavone *et al.* 2011). En ökning av degenerativa-regressiva förändringar i neuroner och en minskning av myenteriska ganglier och neuroner har även noterats vilket kan förklara motilitetsförändringar i tarmen vid infektion med *A. perfoliata*. Relationen mellan bandmask, spasmodisk kolik och ileumförstoppning skulle kunna förklaras med bandmaskens påverkan på det enteriska nervsystemet enligt Pavone *et al.* (2011).

2.1.2 Epidemiologi

Höglund *et al.* (1998) har undersökt epidemiologin för *A. perfoliata* hos föl på en gård i sydvästra Sverige. Under studiens gång samlades både serumprover och träckprover in kontinuerligt från sommaren när fölen befann sig på sitt första bete fram tills ägg hittades i träckproverna. Först när fölen var 8–11 månader upptäcktes ägg från bandmask i träckproverna medan antikroppar påvisades redan när fölen var 6–9 månader i serumproverna. Antikroppar påträffades generellt drygt två månader innan bandmaskägg hittades i korresponderande träckprov. Vid obduktion kan bandmaskar påvisas tidigare, Lyons *et al.* (1997) hittade bandmaskar i obducerade föl som var cirka 5 månader gamla.

Förekomsten av *A. perfoliata* har ett tydligt säsongsbundet mönster, de flesta infektionerna observerades under senare halvan av året i tempererade klimat och de infekterades därmed under betessäsongen (Nilsson *et al.* 1995). En engelsk studie som analyserade *A. perfoliata*s antikroppsintensitet i serum i förhållande till ålder visade att hästar mellan 0,5–2 års ålder hade en topp som sedan minskade till en lägre plattå vid 3–15 års ålder (Proudman *et al.* 1997). Efter 15 års ålder ökade antikropps nivåerna igen, men inte lika högt som vid 0,5–2 års ålder. En annan studie som använt sig av post mortem-undersökning i Sverige antyder att hästar äldre än ett år har högre infektionsintensitet, dock hittades inget signifikant samband mellan ålder och prevalens (Nilsson *et al.* 1995). Samtidigt kan noteras att ingen korrelation mellan ålder och förekomst av bandmask demonstrerades i en undersökning som Hedberg-Alm *et al.* (2020) genomförde.

2.2 Diagnostik

Det finns i dagsläget flertalet metoder för att diagnosticera bandmask; olika koprologiska, serologiska och molekylära metoder, men diagnostiken är trots det en utmaning eftersom sensitiviteten ofta är låg (Reinemeyer & Nielsen 2018). Metoden kvalitativ flotation har högre sensitivitet än många andra koprologiska tekniker eftersom den använder sig av en stor mängd träck och förstärkt flotation med Stoll- eller Wisconsin-principen (använder sig av provrör som centrifugeras med täckglas som lock under flotationen).

Det finns fler koprologiska metoder utöver de som beskrivs i detta avsnitt, exempelvis FLOTAC (en flotationsteknik) som enligt studier ska besitta hög sensitivitet (Cringoli *et al.* 2010). En molekylär metod som kan nyttjas för att hitta *A. perfoliata* använder sig av polymerase chain reaction (PCR) och kan enligt en studie ha fler fördelar än de koprologiska och serologiska metoderna (Traversa *et al.* 2008). Med metoden PCR har positiva prover kunnat påvisas i fall där koprologisk undersökning varit negativ för samma prover. PCR diagnosticerar även endast pågående infektion till skillnad från ELISA. De metoder som nyttjas i detta arbete är koprologisk undersökning med kvalitativ flotation och salivbaserad enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) som beskrivs närmre i påföljande sektioner.

2.2.1 Koprologisk undersökning med kvalitativ flotation

Flotation är en koprologisk metod där parasitägg separeras från annat organiskt material som finns i träcken (Reinemeyer & Nielsen 2018). Äggen från helminter har högre densitet än vatten men lägre än de flesta andra biologiska material i träck vilket gör att äggen flyter upp till ytan i ett flotationsmedium som har högre densitet än dem. Ägg från bandmasken *A. perfoliata* har en densitet på 1,06–1,07 g/ml,

densiteten hos olika flotationsmedium varierar men mättad sockersalt-lösning har en specifik vikt på över 1,25 g/ml. Äggen flyter därmed upp till ytan och separeras från övriga ämnen i träcken, de kan därefter identifieras i mikroskop.

Flotation är en kvalitativ teknik som enbart kan påvisa förekomst eller avsaknad av ägg (Reinemeyer & Nielsen 2018). För att öka sensitiviteten i den koprologiska metoden används en större mängd träck än vid andra parasitanalyser. Genom att undersöka 30–40 g träck ökar sensitiviteten i testet till cirka 60 % baserat på sannolikheten att hitta ägg från enbart en bandmask. Om tröskelvärdet höjs till att hitta ägg från 20 bandmaskar ökar sensitiviteten till 90 %, därmed fungerar metoden generellt väl vid måttlig till kraftig parasitbörda men låg parasitbörda kan missas. I jämförelse har McMaster-metoden mindre än 10 % sensitivitet för bandmask. När SVA bytte metod för att undersöka förekomsten av bandmask från modifierad McMaster till kvalitativ flotation steg förekomsten från 30–47 % föregående år till 61 % år 2017 (Osterman-Lind *et al.* 2023).

Vid kvalitativ flotation centrifugeras provrören med täckglas som lock, provrören i centrifugen måste ha möjlighet att ändra vinkel under centrifugeringen för att täckglaset inte ska lossna (Reinemeyer & Nielsen 2018). Vid koprologisk undersökning med kvalitativ flotation har det observerats att koncentrerad socker-lösning som flotationsmedium frambringar bättre resultat än mättad salt-lösning eller zinksulfat-lösning (Rehbein *et al.* 2011). Kvalitativ flotation är en tidskrävande metod jämfört med andra koprologiska analyser för parasiter (Reinemeyer & Nielsen 2018).

Även tidpunkten för provtagning kan påverka resultatet av koprologisk undersökning för bandmask. Enligt en studie av Tomczuk *et al.* (2015) lämpar sig första kvartalet bäst för att diagnosticera *A. perfoliata* med koprologisk undersökning i tempererade klimat då det finns flest mogna bandmaskar och därmed flest ägg i träcken denna säsong.

2.2.2 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

De serologiska metoder som finns tillgängliga är att leta efter antikroppar i saliv eller serum med ELISA (Reinemeyer & Nielsen 2018). Det finns även en koproantigen-ELISA, som kan identifiera antikroppar i hästens träck, och de studier som utförts har visat att denna metod i hög utsträckning identifierar hästar med bandmask-infektion korrekt (Skotarek *et al.* 2010). Alla ELISA-metoderna identifierar antikroppar riktade mot samma antigen, ett 12/13 kDa exkretoriskt/sekretoriskt antigen från *A. perfoliata* (Lightbody *et al.* 2016). Antigenet framställs genom att inkubera levande maskar i phosphate buffered saline (PBS) och därefter isolera utsöndrat 12/13 kDa antigen på en affinitetskolonn. Viktigt att ha i åtanke

är att varken ELISA för saliv eller serum kan användas för att skilja mellan bandmaskarterna *A. perfoliata* och *A. magna* (Bohórquez *et al.* 2012). Vår studie använder sig av en indirekt ELISA där antikroppar i provet binder till antigenet som är fäst på en platta (Hayrapetyan *et al.* 2023). En sekundär antikropp kopplad till ett enzym tillsätts och binder till den primära antikroppen. Sedan tillsätts ett substrat som hydrolyseras av det bundna enzymet. Produkten som bildas ger en förändring i ljus eller optisk densitet som detekteras.

Saliv- och serumbaserad ELISA grundas på förekomsten av bandmask-specifika IgG(T)-antikroppar i saliv och serum (Lightbody *et al.* 2016). IgG(T)-antikroppar är en subklass av IgG (Wagner 2006). En studie har visat på korrelation mellan antigenspecifika IgG och IgG(T) och parasitbörda för *A. perfoliata*, vilket innebär att antikropps nivåerna reflekterar mängden bandmaskar hästen är infekterad med (Proudman & Trees 1996).

Vid jämförelse mellan serumbaserad ELISA och salivbaserad ELISA observerades en stark positiv korrelation (Lightbody *et al.* 2016). Dessutom upptäcktes en positiv korrelation mellan resultaten från ELISA (både serum och saliv) och antalet bandmaskar som hästarna var infekterade med (observationer vid obduktion), men denna korrelation var något högre för salivbaserad ELISA. En studie som utvärderade saliv- och serumbaserad ELISA hos hästar i Slovakien styrker resultatet att salivbaserad ELISA i större utsträckning identifierar hästar infekterade med låg parasitbörda i jämförelse med den serumbaserade (Burčáková *et al.* 2023). En förklaring kan vara att salivbaserad ELISA påvisar fler infekterade hästar med få bandmaskar i jämförelse med den serumbaserade (Lightbody *et al.* 2016). Sensitiviteten för serumbaserad ELISA varierar i olika studier mellan 68–78 % och specificiteten mellan 71–95 % (Reinemeyer & Nielsen 2018).

Halveringstiden för antikroppar i saliv är kortare än den för serum, för de flesta hästarna i studien hade antikropparna i saliven nästintill försvunnit inom 5 veckor medan antikropparna i serum kvarstod i upp till 6 månader (Lightbody *et al.* 2016). Detta är viktigt att ha i åtanke vid analys av provsvar, då ett positivt provsvar inte behöver innebära en pågående infektion (Kjær *et al.* 2007).

Salivbaserad ELISA

En ELISA har utvecklats för att detektera antikroppar mot *A. perfoliata* i saliv och används kommersiellt i flera länder; Equisal tapeworm test (Lightbody *et al.* 2016). Testet innebär att tre ELISAs per salivprov genomförs. En specifik ELISA detekterar IgG(T)-antikroppar specifika för bandmask-antigen, en så kallad non specific binding-ELISA (NSB-ELISA) bedömer mängden matrixkomponenter i saliven som bundit specifikt till brunnarna och en total ELISA mäter totala mängden IgG(T) i provet. I en matematisk modell beräknas sedan ett saliva score

ut där den totala ELISAn kompenserar för flödes hastighet vid provtagning. NSB-ELISA fungerar som en kontroll för den specifika ELISAn eftersom den kompenserar för att vissa salivkomponenter fäster till fasta ytor vilket gör ELISA-brunnarna ”klibbiga” och möjliggör att andra proteiner kan fästa där. För att kompensera för variabiliteten mellan salivproven behövs NSB-ELISA och total ELISA. Sensitiviteten för testet är 83 % och specificiteten är 85 % för att detektera en bandmask.

2.3 Prevalens

Prevalensen av bandmask hos hästar har studerats i många länder och är mycket varierande. Den har bland annat undersökts i Tyskland där olika typer av diagnostik användes, såväl serumprover som träckprover samlades in från samma hästar, samt salivprover, men dock inte från alla hästar (Jürgenschellert *et al.* 2020). Med kvalitativ flotation och mini-FLOTAC påvisades ägg i 0,6 % av träckproverna medan antikroppar mot *Anoplocephala* spp. påvisades hos 16,2 % av hästarna med serumprov respektive 29,5 % med salivprov. Båda ELISA-metoderna (saliv- och serumprover) identifierade fler individer positiva för bandmask än vad träckprover gjorde.

De svenska studier som undersökt förekomsten av bandmask har funnit att den varierat mellan 3,4 % och 65 % (Nilsson *et al.* 1995; Back *et al.* 2013; Osterman-Lind *et al.* 2023). Back *et al.* (2013) undersökte korrelation mellan bandmask och kolik hos hästar i Sverige och fann att förekomsten av bandmask var 13 % vid koprologisk analys med kvalitativ flotation. Vid en undersökning av tarmar vid slakt som utfördes 18 år tidigare var prevalensen av bandmask 65 %, i träckprov analyserade från samma hästar påvisades endast ägg hos 35 % av hästarna (Nilsson *et al.* 1995). Medelvärdet för antal bandmaskar som hittades per infekterad häst var 79 st.

Studier från andra delar av världen som använt sig av post mortem-undersökning visade att prevalensen av *A. perfoliata* varierar mellan 18-82 % (Bain & Kelly 1977; Slocombe 1979; Reinemeyer *et al.* 1984; Owen *et al.* 1988; Mfitalodze & Hutchinson 1989; Fogarty *et al.* 1994; Ihler *et al.* 1995; Borgsteede & van Beek, 1996). Till exempel var prevalensen i Australien 32 % (Mfitalodze & Hutchinson 1989), 18 % i USA (Reinemeyer *et al.* 1984) och 20 % i Norge (Ihler *et al.* 1995).

2.4 Behandling

Det finns två anthelmintiska läkemedelsklasser verksamma mot cestoder: tetrahydropyrimidiner och kinolderivat (Reinemeyer & Nielsen 2018).

2.4.1 Tetrahydropyrimidiner

Tetrahydropyrimidiner har effekt både mot bandmask och rundmask. De verkar genom att paralysera maskarna eftersom substansen är en acetylkolin-agonist (Reinemeyer & Nielsen 2018). För att avdöda över 95 % av bandmaskarna krävs dock dosen 13,2 mg/kg pyrantelbas, vilket motsvarar dubbel dos i jämförelse med behandlingsdosen mot rundmask (Lyons *et al.* 1989). Vid rekommenderad dos för rundmaskar dör bara cirka 80 % av bandmaskarna. Effektiviteten och säkerheten av pyrantel pamoat-pasta hos hästar infekterade med *A. perfoliata* undersöktes i fält på fem platser i USA (Marchiondo *et al.* 2006). Effekten av läkemedlet varierade mellan 92–96 % vid dosen 13,2 mg pyrantelbas per kg och inga skadliga kliniska biverkningar observerades.

2.4.2 Kinolderivat

Prazikvantel kategoriseras som ett kinolderivat och är enbart verksamt mot bandmask (Reinemeyer & Nielsen 2018). Det har effekt genom att skada tegumentet (yttre höljet på parasiten) och förändra permeabiliteten i cellmembranet vilket resulterar i spastisk parolys. Vid undersökning av prazikvantels effekt mot *A. perfoliata* varierade resultatet kraftigt vid dosering med 0,5 mg/kg, medelvärde för effekten var 85 % (Lyons *et al.* 1995). Andra undersökningar har visat på högre effekt med högre dos (0,75 mg/kg och 1,0 mg/kg) hos hästar, medelvärde för effekten var 91 % vid den lägre dosen (oral administrering) och 98 % för den högre dosen (administrering via magsond) (Lyons *et al.* 1992). Vid dosering över 1,0 mg/kg har en effekt på över 99 % även observerats enligt Slocombe (2006). I Sverige finns bara kombinationspreparat med prazikvantel i kombination med makrocycliska laktoner registrerade, vilket ger effekt mot cestoder, nematoder och artropoder. Beroende på formulering är dosen prazikvantel i dessa kombinationspreparat 1–2,5 mg/kg (FASS, 2023).

2.4.3 Resistens

Flera av hästens parasiter har utvecklat resistens mot avmaskningsmedel, exempelvis hästens spolmask och små blodmaskar (Cyathostominae) (von Samson-Himmelstjerna 2012). De två registrerade avmaskningsmedlen mot bandmask (prazikvantel i olika doser och pyrantel pamoat vid dosering med 13,2 mg/kg) har tidigare haft dokumenterad god effekt (Reinemeyer & Nielsen 2018). Nyligen har dock en studie av Nielsen (2023) indikerat att resistens har utvecklats även hos

hästens bandmask. Studien undersökte totalt 140 hästar (åringar och ston) på en gård i Kentucky där de avmaskades med preparat mot bland annat bandmask (ivermectin, prazikvantel 1,5 mg/kg och pyrantel pamoat 13,2 mg/kg) och därefter samlades träckprover in för äggräkning (Ovatecor-system användes) dels dagen för behandling, dels 14 dagar senare.

Behandling med prazikvantel och pyrantel pamoat minskade mängden ägg hästarna utsöndrade med 23,5 % respektive 50,9 %, så kallat fecal egg count reduction test (FECRT) (Nielsen 2023). Efter behandling av en grupp bandmaskpositiva åringar med pyrantel pamoat var alla (14 st) fortfarande positiva för bandmask. I en annan grupp var sju av nio hästar fortfarande positiva för bandmask efter behandling med prazikvantel. Utöver detta var även fem ettåriga hästar som varit negativa för bandmask innan behandling positiva efter behandling med prazikvantel. Dessa resultat tyder sammantaget på resistensutveckling men kan dock inte konkludera att det finns resistens mot anthelmintika hos *A. perfoliata* då det krävs ytterligare forskning för att dra den slutsatsen.

2.5 Rekommendationer för avmaskning av föl i Sverige

Flera parter verksamma inom djursjukvården har sammanställt avmaskningsriktlinjer för hästar i Sverige där föl även är inkluderade (Tydén *et al.* 2022). Rekommendationen är att alla föl bör avmaskas mot spolmask när de är 8–10 veckor och därefter igen vid 16–18 veckors ålder. För att kontrollera om spolmask förekommer bör träckprov samlas in i början av året (januari/februari) under fölets första vinter. Under fölets första höst bör de även avmaskas mot strongylider med makrocycliska laktoner. Avseende bandmask bör föl avmaskas om det är känt att det finns bandmaskar på betena. Vid behandling kan då ett kombinationspreparat med prazikvantel och ivermectin användas på hösten och det verkar både mot små blodmaskar och bandmask.

2.6 Risk- och skyddsfaktorer för bandmaskinfektion

En studie specificerar riskfaktorer för positiva antikroppstest för bandmask som permanent betestillgång, stora beten, regelbunden växling av beten och högt antal strongylida ägg (blodmaskägg) i träcken (Jürgenschellert *et al.* 2020). I samma rapport observerades det att skyddande faktorer var behandling med prazikvantel, förekomst av föl på gården och många hästar på gården. Mest sannolikt är dock många hästar, betesväxling och stora beten confounders (förväxlingsfaktorer) enligt författarna. Om så inte skulle vara fallet kan stora beten och betesväxling eventuellt

gynna kvalster (bandmaskens mellanvärd) genom att det finns mer vegetation på betet.

Beten med liten yta associerades till låg förekomst av bandmask enligt en studie som genomfördes i Slovakien (Burcáková *et al.* 2023). Sambandet kan förklaras genom att mellanvärden till bandmask hittats i lägre förekomst på mindre och överbetade beten jämfört med större beten (Chachaj & Seniczak 2005). En studie som undersökte infektioner med intestinala helminter i Polen såg en positiv korrelation mellan bete och förekomst av bandmaskägg i träcken men drog inga slutsatser avseende storlek på bete (Kornaś *et al.* 2010). Hästar som hade tillgång till bete eller paddock under minst 12 h/dag hade högre förekomst av *A. perfoliata* enligt en svensk undersökning av parasitförekomst och parasitkontroll hos hästar med gastrointestinala sjukdomar (Hedberg-Alm *et al.* 2020). Statistisk signifikans för samband mellan timmar på bete och förekomst av bandmask kunde däremot inte fastställas.

3. Material och metod

3.1 Inklusionskriterier

Fem gårdar i Uppland med omnejd provtogs från slutet av augusti till början på november 2023. Mellan 5 och 11 föl födda 2023 ingick från varje gård. För att inkluderas i studien behövde fölen vara mellan 4 och 7 månader och ha gått på bete i grupp. Fölen provtogs under hösten och tidpunkten för provtagning bestämdes av ålder på fölen. För att undersöka om förekomst av bandmask överhuvudtaget förelåg på gårdarna inkluderades ston som i första hand var mammor till fölen. Om detta ej var möjligt provtogs andra ston på gården.

3.2 Provtagning

Både träck- och salivprover insamlades från fölen vid samma tillfälle där det var möjligt, se tabell 1 för provtagningsdatum. Djurägaren fick signera ett djurägar-medgivande och även svara på frågor om när fölen senast avmaskades och med vilket preparat samt om gårdens hästar regelbundet provtas och avmaskas mot bandmask (se Bilaga 1). Frågorna löd som följande: ”Provtas gårdens hästar årligen för bandmask (utökad analys)? Om ja, förekommer bandmask på gården?” och ”Behandlas hästarna på gården årligen mot bandmask?”.

Tabell 1. Provtagningsdatum för träckprover och salivprover (föl och ston) samt antal inkluderade hästar från varje gård.

Gård	Antal föl (st)	Antal ston (st)	Provtagningsdatum	Datum för avmaskning & preparat (föl)
Gård 1	11	7	23/8 (träck- och salivprover 3 föl) 18/10 (träck- och salivprover övriga föl och ston)	Fenbendazol
Gård 2	8	8	8/8 (träckprover) 29/8 (salivprover föl) 13/9 (salivprover ston)	15/8 pyrantel enkel dos
Gård 3	9	4	2/10 (träckprover föl och salivprover ston) 31/10 (salivprover föl)	Fenbendazol
Gård 4	7	6	25/10 (träck- och salivprover föl och ston)	9/9 Fenbendazol och ivermektin i oktober
Gård 5	10	8	2/11 (träck- och salivprover föl och ston)	1/9 fenbendazol
Totalt antal	45	33		

3.2.1 Provtagning saliv

Salivprovtagning genomfördes i samband med träckprovtagning på fölen, förutom sex föl från gård 3 som provtogs med salivprov vid ett annat tillfälle då de var svåra att hantera på betet. Saliv samlades in med Equisal saliva collection swab (Austin Davis Biologics Ltd, UK) som absorberar cirka 0,5–0,75 ml saliv genom en absorberande cylinderformad svabb (Austin Davis Biologics Ltd. 2018). Svabben har en integrerad provvolymsindikator som ändrar färg från vit till starkt rosa när tillräckligt mycket saliv absorberats. Enligt provtagningsinstruktioner ska hästen ha fastat 30 minuter innan provtagning, vilket inte kunde tillämpas på de flesta föl och ston i den här studien då majoriteten av dem befann sig på bete vid provtagning. Saliv extraherades från svabben genom diffusion till en salivbevarande lösning som svabben förs ner i och proverna märktes med hästens identifikation. Proverna frystes i -20 °C när de transporterats tillbaka till parasitlaboratoriet på Sveriges lantbruksuniversitet i Uppsala. De skickades sedan frysta på torris för analys till Austin Davis Biologics Ltd (Northamptonshire, UK).

3.2.2 Provtagning träck

Träck samlades in från marken där fölet defekerade vid provtagningstillfället och placerades i påsar märkta med fölets identitet. Efter provtagning transporterades proverna till parasitlaboratoriet. Analys (kvalitativ flotation) genomfördes oftast samma dag som provtagning men som längst tid 2 veckor efter provtagning. Prov som inte analyserades samma dag förvarades i kylskåp (+5 °C) fram till analys.

3.3 Provanalys

3.3.1 Kvalitativ flotation

Träckprover från fölen analyserades för bandmask med hjälp av kvalitativ flotation. Metoden som användes finns utförligt beskriven i Nielsen & Reinemeyer (2018), men beskrivs här i korthet.

För varje enskilt föl vägdes 30 g träck upp i en behållare, 60 ml kranvatten tillsattes och lösningen blandades. Träck-blandningen silades genom 150 µm och vätskan fördelades jämnt på 4 märkta provrör som sedan centrifugerades i 10 minuter i 1000 g. Supernatanten sögs bort med vakuumsug och pelleten sparades. Några ml sockersalt-lösning (0,36 g/ml NaCl och 0,5 g/ml socker) tillsattes till pelleten för att den lättare skulle blandas. Pelleten vortexades och blandades genom att vända röret upp och ner med ett finger som lock (för att åskådliggöra eventuella klumpar). Mer sockersalt-lösning tillsattes till rören så de fylldes helt och skapade en menisk (eventuella luftbubblor avlägsnades med en pipett) och proven blandades med pipett innan ett täckglas (18x18 mm) placerades på varje provrör. Provrören centrifugerades i 5 min i 214 g och vilade därefter i 5 minuter och överfördes sedan till ett provrörsställ. Täckglasen lyftes av och placerades på objektsglas (26x76 mm) märkta med fölens identitet (2 täckglas per objektsglas). Alla eventuella bandmask-ägg under täckglaset räknades genom att använda 10x förstoring.

3.3.2 ELISA

Laboratoriet Austin Davis Biologics Ltd (Northamptonshire, UK) genomförde ELISA för att analysera antikroppar mot bandmask i salivproverna. Metoden beskrivs översiktligt nedan, mer ingående beskrivning finns att läsa i artikeln av Lightbody *et al.* (2016). Som beskrivits tidigare består metoden av tre ELISAs som efter beräkningar ger ett så kallat saliva score baserat på mängden bandmask-specifika antikroppar i hästens saliv. Salivproverna centrifugerades i 600 g i 10 min och späddes i provbuffert (PBS 0,05 %, Tween 20, 0,5 % BSA, pH 7.4) innan analys. Plattorna inkuberades 60 min i 25 °C och tvättades sedan tre gånger med

tvättbuffert (PBS, 0.1 % Tween 20, pH 7.4) efter varje steg om inget annat anges. Provbuffert användes som negativ kontroll.

För den specifika ELISAn förbereddes kalibreringsstandard genom spädning av framrenad häst-IgG i provbuffert. ELISA-plattans brunnar täcktes med antigen (12/13 kDa antigen) från *Anoplocephala perfoliata*. Brunnarna blockades sedan med blockeringsbuffert (PBS, 0,1 % Tween 20, 0,5 % BSA, pH 7.4). Salivproven späddes ut i provbuffert och tillsattes till brunnarna i duplikat. På plattan tillsattes även kalibreringsstandard (renad häst-IgG i provbuffert) i duplikat. Anti-häst-IgG-antikroppar från get (sekundära antikroppar) konjugerade med horse radish peroxidase (HRP) späddes ut och tillsattes till brunnarna. Efter inkubation tillsattes 3,3',5,5'-tetrametylbenzidine (TMB) till varje brunn. Enzymreaktionen stoppades genom tillsats av saltsyra (HCl) innan avläsning av OD/absorbansen. Den specifika ELISAn detekterar IgG(T) som finns som en proportion av den renade IgG-kalibreringsreagenten som används och anges därför inte som en definitiv koncentration.

I NSB-ELISAn adderades endast bikarbonatbuffert till brunnarna (utan antigen), alla fortsatta steg är som beskrivet för den specifika ELISAn. För den totala ELISAn täcktes brunnarna istället med anti-häst IgG(T)-antikroppar från get i PBS. Salivproverna späddes i provbuffert och adderades till brunnarna.

Gemensamt för de tre olika testen är att kalibreringsstandard i duplikat även kördes på plattan och användes för att utläsa resultaten från proverna, samt negativa kontroller (provbuffert) för att kunna kompensera för ospecifik bindning/bakgrundssignal på varje platta. Absorbansen mättes vid 450 nm för både kalibreringsstandarder och salivprover och från de värdena subtraherades absorbansen från en negativ kontroll. För NSB-ELISAn subtraherades absorbansen från den negativa kontrollen enbart från kalibreringsstandarderna och inte från salivprovernas absorbans. Standardkurvor (linjär modell) skapades med värden från kalibrator-duplikaten från alla ELISAs.

Från varje prov erhålls flera värden: medelvärdet för salivprovets absorbans från den specifika ELISAn (S), medelvärdet för den negativa kontrollens absorbans från den specifika ELISAn (R), lutningen på kurvan från kalibrator-duplikaten från den specifika ELISAn (M), medelvärdet för salivprovets absorbans från NSB-ELISAn (N), medelvärdet för salivprovets absorbans från den totala ELISAn (T), medelvärdet för den negativa kontrollens absorbans från den totala ELISAn (U), värdet där den totala ELISAns kalibreringskurva skär y-axeln (D) och lutningen på kalibrationskurvan hos den totala ELISAn (L). För att kombinera resultaten från alla ELISAs och räkna ut ett saliva score för varje häst användes denna formel:

$$\text{Saliva score} = \left(\frac{S - R - N}{M} \right) \times \left(\frac{L}{T - U - D} \right) \times 100$$

Resultatet från salivproven delas in i tre kategorier beroende på svaret från ELISAn; negativ (<-0,09), gränsfall (-0,09-0,6) och positiv (>0,6) (Austin Davis Biologics Ltd. 2018). Austin Davis rekommenderar att behandla mot bandmask vid resultaten gränsfall och detekterad förekomst. I vår studie klassificeras <-0,09 som negativ och >-0,09 som att hästen har förekomst av antikroppar mot bandmaskar.

3.4 Statistisk analys

Resultaten från den kvalitativa flotationen och salivbaserade ELISAn samlades i kalkylblad (Microsoft excel) och analyserades med hjälp av GraphPad Prism version 10.1.0. Skillnad mellan saliva score hos de diande och avvanda fölen analyserades med Mann-Whitney test. Korrelation mellan saliva score hos fölen och ålder respektive saliva score för ston samt tidpunkt för provtagning undersöktes med Pearson r korrelationstest. Signifikant förhöjda saliva scores hos fölen på de 5 olika gårdarna och skillnad mellan saliva score beroende på åldersgrupp undersöktes genom Kruskal Wallis-test med multiple comparisons.

4. Resultat

Totalt provtogs 45 föl (44 träckprover och 45 salivprover) och 33 ston från fem gårdar (se tabell 1). Medelåldern för fölen som ingick var 5,6 månader med spridningen 3–7 månader. Alla gårdar som inkluderades hade totalt mellan 15 och 40 föl, betena hade använts i flera år och hagarna mockades inte regelbundet på någon av gårdarna.

4.1 Enkätundersökning

I samband med provtagning fick gårdarna svara på två frågor kring provtagning och behandling av bandmask på gården. Ingen av gårdarna som deltar i studien provtar gårdens hästar regelbundet för bandmask (utökad analys), se tabell 2. Av alla gårdar behandlar dock 40 % (2 av 5) av gårdarna hästarna mot bandmask med ett kombinationspreparat innehållande ivermectin och prazikvantel årligen.

Tabell 2. Svar från enkät om provtagning och behandling av bandmask från de fem gårdarna.

Frågor:	Gård 1	Gård 2	Gård 3	Gård 4	Gård 5
Provtas gårdens hästar årligen för bandmask (utökad analys)? Om ja, förekommer bandmask på gården?	Nej	Nej	Nej	Nej	Nej
Behandlas hästarna på gården årligen mot bandmask?	Nej	Nej	Nej	Ja, med prazikvantel	Ja, med ivomec comp.

4.2 Provtagning

I tabell 3 redovisas föl och ston som provtogs från respektive gård. Det var inte alltid möjligt att samla träckprover från alla föl som salivprov samlats ifrån samt salivprov från korresponderande ston på grund av säkerhetsrisker då vissa hästar var svåra att hantera på betet där provtagning skedde. I vissa fall var inte alla mammor till fölen kvar på gården om provtagning skedde efter avvänjning, därmed kunde inte alla mödrar provtas.

Tabell 3. Föl och ston som provtagits på de fem olika gårdarna. Bokstaven beskriver om det är ett föl (F) eller ett sto (S) som provtagits och siffran är individnumret för hästen. Mödrar till fölen har samma siffra som fölet och står på samma rad.

Gård 1		Gård 2		Gård 3		Gård 4		Gård 5	
Föl	Ston	Föl	Ston	Föl	Ston	Föl	Ston	Föl	Ston
F1		F1	S1	F1	S1	F1	S1	F1	S1
F2		F2	S2	F2	S2	F2	S2	F2	S2
F3		F3	S3	F3		F3	S3	F3	S3
F4		F4	S4	F4	S4	F4	S4	F4	S4
F5	S5	F5	S5	F5		F5	S5	F5	
F6	S6	F6		F6	S6	F6		F6	
F7	S7	F7		F7		F7	S7	F7	S7
F8	S8	F8		F8				F8*	S8
F9	S9		S9	F9				F9	S9
F10	S10		S10					F10	S10
F11	S11		S11						

*Ej träckprov

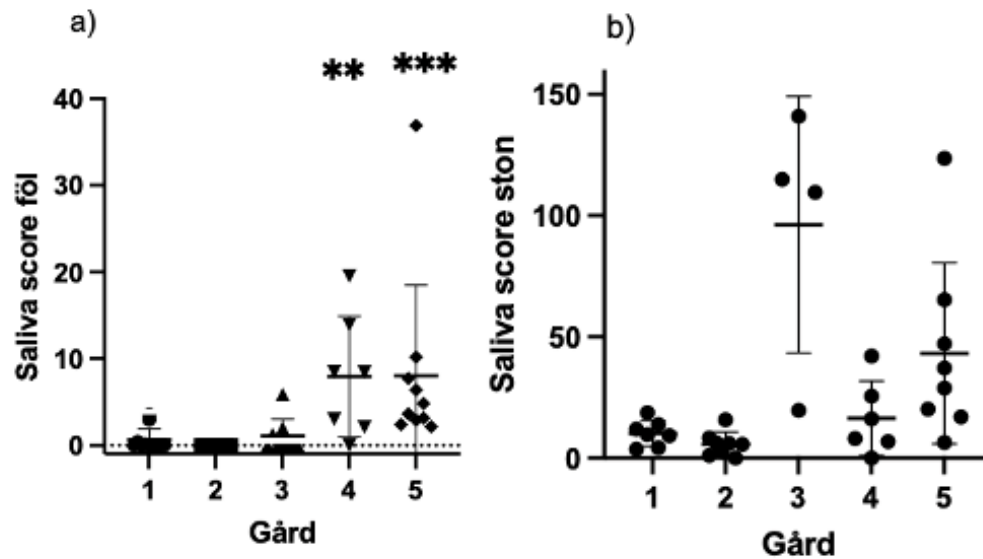
4.3 Provanalys

Provanalysen innefattar den kvalitativa flotationen och den salivbaserade ELISAn. Inga bandmaskägg påvisades i något av träckproverna från fölen. Resultatet från ELISAn varierade, se bilaga 2 för samtliga utfall. Saliva score beräknades utifrån tre ELISAs genom en ekvation som beskrivits i metoden. Därefter definieras diagnosen utefter vilket saliva score hästen fått, här benämns de som negativa vid $<-0,09$, gränsfall vid $-0,09-0,6$ och positiva vid $>0,6$, se bilaga 2. Både gränsfall och positiv klassas som att hästen har förekomst av antikroppar mot bandmask.

Av de 45 föl som provtagits med salivprov påvisades inga antikroppar hos 47 % (21 st), hos resterande 53 % påvisades antikroppar (3 st hade gränsfall och 21 st var positiva). Bland de avvanda fölen hittades antikroppar mot bandmask hos 37,5 % (3 av 8), bland de diande fölen hittades antikroppar hos 57 % (21 av 37). Ingen signifikant skillnad ($p = 0,4695$) i saliva scores påvisades mellan de diande och avvanda fölen vid analys med Mann-Whitney test.

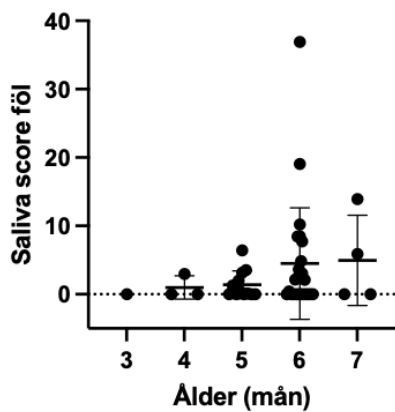
På gård 1 påvisades antikroppar hos 36 % (4 av 11) av fölen, inga antikroppar påvisades hos något föl på gård 2 (8 av 8). På gård 3 hade 50 % (5 av 10) av fölen förekomst av antikroppar. På gård 4 hade 86 % (6 av 7) förekomst av antikroppar. Samtliga föl (10 av 10) på gård 5 var positiva för bandmask. Se figur 3 för spridning av saliva scores på varje gård. Signifikant höjda antikropps nivåer påvisades hos fölen på gård 4 och 5 vid analys genom Kruskal-Wallis test med multiple comparisons.

Antikroppar mot bandmask påvisades hos 31 av de 33 provtagna stona (94 %) och alla dessa klassades som positiva (saliva score >0,6). På gårdsnivå hade 100 % av gårdarna ston med antikroppar mot bandmask. För fördelning på varje gård, se figur 3.



Figur 3. a) Spridning av saliva scores hos fölen på de fem olika gårdarna (n=45), medelvärden och standardavvikelse finns utmärkt för varje gård. Alla föl från gård 2 hade saliva scores <-0,09. Signifikant förhöjda antikropps nivåer identifierades genom Kruskal-Wallis test med multiple comparisons test och är markerade med ** ($p<0,01$) och *** ($p<0,001$). b) Fördelning av saliva scores hos stona på de fem olika gårdarna (n=33). Medelvärden och standardavvikelse finns utmärkta för varje gård. Observera skillnaden i skalor mellan diagrammen.

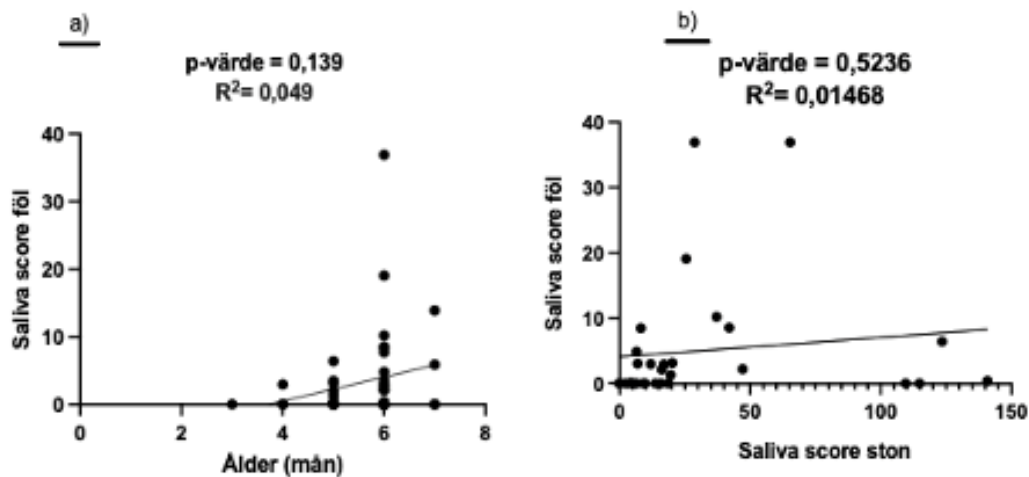
Ingen skillnad påvisades mellan de olika åldersgrupperna hos fölen (3–7 månader) avseende fölens saliva score. Fördelningen med utmarkerat medelvärde och standardavvikelse för varje ålderskategori illustreras i figur 5.



Figur 4. Spridning av saliva scores hos fölen i de olika åldersgrupperna 3–7 månader ($n=45$), medelvärde och standardavvikelse finns utmärkt för varje åldersgrupp. Ingen skillnad påvisades mellan åldersgrupperna. Skillnader i antikropps nivåer mellan olika ålderskategorier analyserades genom Kruskal-Wallis test med multiple comparison test.

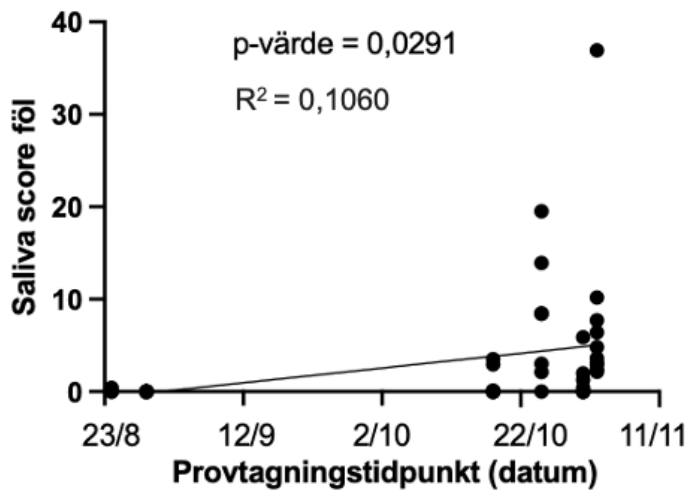
4.3.1 Korrelation

Ingen korrelation kunde påvisas mellan fölens ålder och saliva score ($R^2=0,049$, $F_{1,44}=2,27$, $P=0,139$), se figur 4. Ingen korrelation kunde heller identifieras mellan fölens saliva score och korrelerande stons saliva score ($R^2=0,0001$, $F_{1,44}=0,03$, $P=0,87$), se figur 4.



Figur 5. Enkla linjära regressionskurvor för korrelation mellan a) ålder och saliva score, och b) mödrarnas saliva score och fölens saliva score.

Signifikant korrelation identifierades mellan tidpunkt för provtagning och saliva score ($R^2 = 0,1060$, $F_{1,44} = 5,099$, $P = 0,0291$) med enkel linjär regression, se figur 6.



Figur 6. Enkel linjär regressionskurva för korrelation mellan provtagningsstidpunkt (datum 2023) och saliva score hos fölen. Se tabell 1 för exakta provtagningsdatum. Signifikant korrelation identifierades mellan fölens saliva score och provtagningsstillfälle ($p < 0,05$).

5. Diskussion

5.1 Förekomst av bandmask hos föl

Samtliga 44 träckprover från de provtagna fölen var negativa för bandmask vid analys med kvalitativ flotation, men det är osannolikt att inget föl var infekterat med bandmask med bakgrund av resultaten från den salivbaserade ELISAn. Av alla provtagna föl hade 53 % förekomst av antikroppar mot bandmask i saliven (se bilaga 2). Det här resultatet överensstämmer med Höglund *et al.* (1998) där antikropsrespons sågs cirka två månader innan bandmaskäggs identifierades i träcken hos föl. Antikroppar identifierades tidigast vid cirka 6 månaders ålder och bandmaskäggs tidigast vid 8 månaders ålder. Mest sannolikt bildas antikroppar mot bandmasken innan parasiten börjar släppa ifrån sig proglottider innehållande ägg, prepatensperioden är därmed längre än tiden det tar för antikroppar att bildas. Om fölen som ingår i den här undersökningen skulle fortsätta provtas för analys av träck skulle troligtvis ägg påvisas när fölen hunnit bli några månader äldre.

Ingen korrelation kunde identifieras mellan ålder och förekomst av antikroppar i saliven hos fölen (Figur 5). Vid analys av skillnader i saliva score mellan åldersgrupperna (Figur 4) påvisades inte heller någon skillnad. Dessa resultat kan bero på liten spridning i ålder hos de provtagna fölen, fölen var mellan 3–7 månader gamla, medelvärdet för deras ålder var 5,6 månader och majoriteten var 6 månader gamla (25 av 45 st). En annan möjlig förklaring är att åldern inte har särskilt stor relevans för mängden antikroppar i saliven hos fölen. Det kunde inte identifieras någon signifikant korrelation mellan fölens saliva score och korresponderande stons saliva score, det beror sannolikt på att det inte finns något samband men kan också ha sin förklaring i att alla mödrar till fölen inte provtogs och att nästan alla ston (94 %) hade måttlig/hög förekomst av antikroppar.

Baserat på fölens saliva scores, hade fölen på gård 4 och 5 signifikant höjda antikropsnivåer medan gård 1 och 3 inte hade signifikant höjda nivåer och på gård 2 kunde inga antikroppar påvisas hos något föl (Figur 3). En förklaring kan vara att

betena på gårdarna var kontaminerade i olika utsträckning, en annan förklaring är att mödrarna till fölen var infekterade i olika grad. Variationen i saliva score mellan gårdarna kan även bero på att gårdarna provtogs vid olika datum (Tabell 1). En signifikant korrelation mellan provtagningsdatum och saliva score har påvisats vilket illustreras i figur 6 och från den kan det utläsas att ju senare på säsongen som fölen provtogs, desto högre saliva score erhöll de. På gård 2 provtogs alla föl tidigt på hösten (slutet av augusti) vilket skulle kunna medföra att fölen inte har hunnit bilda antikroppar även om de är infekterade. Detta skulle även kunna gälla för gård 1 och 3 som inte har signifikant höjda antikropps-nivåer. Fölen på gård 2 provtogs med salivprov cirka två veckor efter behandling med enkel dos pyrantel. Det är dock osannolikt att behandlingen skulle ha förorsakat att antikroppar inte påvisats hos något föl eftersom antikroppar kvarstår i fem veckor i saliven efter de har bildats (Lightbody *et al.* 2016). Det är dessutom mindre troligt att behandlingen skulle ha avdödat alla bandmaskar eftersom enkel dos pyrantel inte har full effekt mot bandmask, utan dubbel dos (13,2 mg/kg pyrantelbas) rekommenderas för behandling av bandmask (Lyons *et al.* 1989). Provtagningen på gård 4 och 5 genomfördes vid de senaste provtagnings-tidpunkterna (Tabell 1) och antikropps-nivåerna hos fölen på dessa gårdar är troligtvis signifikant höjda på grund av detta.

En del i frågeställningen till detta arbete var att ta reda på om de nuvarande avmaskningsrekommendationerna som Tydén *et al.* (2022) tagit fram avseende bandmask för föl bör gälla. Från vår studie kan det utgöras att mer än hälften av fölen hade förekomst av bandmask och majoriteten av stona på samma bete hade också det. Det är utifrån detta befogat att behandla föl mot bandmask om det finns infekterade hästar på samma beten då fölen mest sannolikt också är infekterade då. Studien innehåller dock ett relativt litet stickprov och borde genomföras i större skala för att kunna dra en mer tillförlitlig slutsats.

Ett bifynd som noterades är att 94 % (31 av 33) av alla provtagna ston hade antikroppar mot bandmask och förekomsten hos stona på gårdsnivå var 100 %. I kontrast till det här resultatet redovisade Osterman-Lind *et al.* (2023) att 9,7 % av alla hästar i Sverige var infekterade med bandmask och 61 % av alla gårdar testade år 2017. Att det skiljer sig så mycket från vårt resultat beror sannolikt på att Osterman-Lind *et al.* (2023) använde sig av koprologisk undersökning som har lägre sensitivitet i jämförelse med serologi samt att de gårdar som inkluderas i deras studie regelbundet provtar och behandlar för bandmask. Att gårdarna provtar och behandlar hästar mot bandmask regelbundet medför ett minskat smittryck och djurägarna blir dessutom medvetna om parasitens förekomst vilket skulle kunna få till följd att de även nyttjar andra resurser för att minska parasittrycket. Gårdarna i vår studie provtar inte hästarna årligen enligt enkätundersökningen och 3 av 5 gårdar behandlar inte mot bandmask vilket sannolikt ökar förekomsten av parasiten hos hästarna.

5.2 Jämförelse mellan koprologisk och serologisk diagnostik

Vid jämförelse mellan koprologisk och serologisk diagnostik har stora skillnader identifierats. Den koprologiska metoden påvisade inga bandmaskägg i träcken från fölen medan den serologiska påvisade antikroppar mot bandmask hos ungefär hälften av fölen. Sensitiviteten är högre för salivbaserad ELISA (83 %) (Lightbody *et al.* 2016) i jämförelse med kvalitativ flotation (60 %) (Reinemeyer & Nielsen 2018) avseende att påvisa en bandmask hos en häst vilket är förenligt med resultaten från vår studie. ELISA hittar fler infekterade hästar än vad koprologisk analys gör eftersom ELISA även identifierar de som är infekterade med lågt antal bandmaskar (Lightbody *et al.* 2016). Bandmaskarna har sannolikt inte släppt ifrån sig proglottider med ägg vid provtagningstidpunkten i denna undersökning på grund av prepatensperioden som kan vara uppemot 16 veckor (Walden *et al.* 2014) och att det krävs en mellanvärd innan bandmasken är infektiös vilket kan fördröja tiden ytterligare innan fölen infekteras (Reinemeyer & Nielsen 2018). Det är sannolikt av de anledningarna inga ägg påvisats hos fölen. För att kunna dra fler slutsatser kring skillnaden mellan de diagnostiska metoderna bör fler provtagningar genomföras, helst med samma föl som följs under en längre tid och där bandmaskägg påvisas i träcken.

Båda diagnostiska metoderna har styrkor och svagheter. Den kvalitativa flotationen är relativt enkel att utföra, billig och har hög specificitet, dock har den låg sensitivitet och är tidskrävande (Niesen & Reinemeyer 2018). ELISAn har relativt hög sensitivitet och specificitet men sensitiviteten kan påverkas av individuell antikroppsrespons och positivt resultat behöver inte betyda att hästen har en pågående infektion (Lightbody *et al.* 2016). Som nämnts i litteraturöversikten finns det även andra diagnostiska metoder såsom PCR och denna kan ha fördelar över de koprologiska och serologiska metoderna enligt Traversa *et al.* (2008). Studien presenterar att PCR påvisat positiva prover när den koprologiska metoden uppvisat negativa resultat från samma prover, detta indikerar att PCR har högre sensitivitet. Nackdelen med ELISA är att positivt resultat inte behöver betyda pågående infektion vilket PCR kan skilja på. En nackdel med PCR är dock att den inte kan estimera parasitbörda hos hästen (Traversa *et al.* 2008) medan antikropps nivåerna från ELISA reflekterar mängden bandmaskar hästen är infekterad med (Proudman & Trees 1996). PCR skulle kunna tillämpas vid fortsatt undersökning av förekomst av bandmask hos föl.

Mängden förbrukad anthelmintika kan minska om diagnostisk används för att avgöra om behandling krävs i jämförelse med om samtliga hästar behandlas utan föregående diagnostik. Lightbody *et al.* (2018) har genomfört en studie där 237 hästar inkluderades och av dessa var 85 % under gränsvärdet för behandling mot

bandmask vid analys med salivbaserad ELISA. Enbart de 35 hästarna som hade saliva scores som klassificerades som gränsvärde (-0,09-0,6) eller måttlig-hög (>0,6) förekomst av antikroppar behövde därmed behandlas.

5.3 Metoddiskussion

Stickprovet som använts till denna studie är förhållandevis litet i proportion till de 8500–9500 föl som registreras varje år (Hästnäringens nationella stiftelse 2021). För att kunna applicera resultatet från denna studie på alla föl som finns i Sverige skulle ett större stickprov krävas.

Stickprovet är i det här fallet inte ett slumpmässigt urval av individer från populationen. Gårdar som inkluderades ligger i Mälardalsregionen på grund av att det ska vara praktiskt möjligt att genomföra i och med att studien utgår från Sveriges lantbruksuniversitet i Uppsala. Det innebär att urvalet i första hand blir representativt för Mälardalsregionen, men bandmask finns enligt Nielsen & Reinemeyer (2018) i nästintill hela världen och mellanvärden (kvalster) förekommer också i princip överallt. Därmed kan det också antas att studien väl representerar andra delar av landet, men prov bör samlas in från fler lokaliseringar i Sverige för att få ett mer representativt resultat. Det var också frivilligt att delta vilket medför ett urval och selekterar i synnerhet fram engagerade djurägare.

För att de flesta föl skulle vara runt sex månader gamla vid tidpunkten för provtagning varierande denna mellan gårdarna. Att träckprov och salivprov inte samlades in samtidigt på de olika gårdarna ledde till fler provtagningstillfällen vilket gör det lättare att dra slutsatser kring när på säsongen som fölen blir infekterade med bandmask. En nackdel är att det ökar svårigheten med att jämföra resultaten från de olika diagnostiska metoderna och bedöma förekomsten av bandmask eftersom prepatensperioden är 6–16 veckor enligt Walden *et al.* (2014) och resultatet kan därmed skilja beroende på provtagningsdatum. Om liknande studier genomförs i framtiden bör provtagningen synkroniseras mellan gårdarna avseende tidpunkt för att få ett mer jämförbart resultat.

Fler faktorer som den här studien inte tog hänsyn till kan påverka resultatet, till exempel storleken på betet och antal hästar på betet som Jürgenschellert *et al.* (2020) bland annat nämner som betydelsefulla aspekter för prevalensen. Senaste avmaskningen inkluderades dock i enkätundersökningen vilket är viktigt för att se om fölen behandlats med anthelmintika verksamt mot bandmask. Matthews & Austin (2023) redogör för de essentiella delarna för att få en hållbar kontroll över helminterna hos hästar, det innefattar bland annat regelbunden mockning av beten och låg beläggningstäthet. Fortsatt beskrivs användning av fekal äggräkning för att

identifiera låga och höga äggutsöndrare och för att bedöma effekten av anthelmintika viktigt. Användning av specifika antikroppstester för att identifiera hästar som kräver behandling är också en del av kontrollen. Att låta beten vila eller dela beten med idisslare de första 6 månaderna av betessäsongen minskar också förekomsten av helminter (Matthews & Austin 2023). Om liknande studier genomförs i framtiden bör fler aspekter som nämns här inkluderas i enkätundersökningen för att utesluta eventuella förväxlingsfaktorer (confounders) som kan snedvrída resultatet.

I den här undersökningen diade majoriteten av fölen eftersom de befann sig i hagar tillsammans med sina mödrar. Det var enbart åtta föl från gård 3 och 5 som provtogs efter avvänjning. Digivning skulle kunna interferera med resultatet från den salivbaserade ELISAn eftersom mjölken från stoet bland annat innehåller IgG3 och IgG5 (Wagner 2006). Lightbody¹ uppgav att hon genomfört en mini-studie om digivningens inverkan på analys av salivprov från föl med ELISA och att det kan leda till falskt positiva resultat på grund av att stoets mjölk kontaminerar fölets munhåla med antikroppar. Våra resultat visar att även en del av de avvanda fölen hade hög förekomst av antikroppar mot bandmask i saliven (3 av 8) vilket gör det mer sannolikt att de föl som diar också har egna antikroppar och inte fått munhålan kontaminerad via mjölken från stoet. Det påvisades ingen signifikant skillnad i saliva scores mellan diande och avvanda föl, vilket kan bero på att det var få avvanda föl (8 st) samt att de var något äldre än de diande fölen (5–7 månader). För att erhålla ett resultat som är mer tillförlitligt bör alla föl vara avvanda vid provtagning, dock kan det vara svårt att få tag på många föl i åldern sex månader som är avvanda.

Ytterligare en faktor som kan påverka ELISA-resultatet är att hästarna inte fastade 30 minuter innan salivprovtagning. Salivproduktionen kan av den orsaken vara högre än väntat vilket gör proven utspädda och det är risk för att antikroppar inte påvisas trots att de förekommer. Om metoden upprepas hade provtagning i stall gjort att fastan på 30 minuter skulle kunna appliceras och det hade även minskat säkerhetsrisker med att provta ute på betet. Lightbody¹ beskrev att den totala ELISAn synliggör om salivproven är tillräckligt koncentrerade. I det här fallet verkar inte resultaten ha påverkats eftersom alla hästar enligt analysresultaten hade tillräckligt med total IgG(T) i salivproverna vilket den totala ELISAn åskådliggör.

Eftersom antikroppar finns kvar i saliven i fem veckor efter avmaskning (Lightbody *et al.* 2016) kan ELISA-metoden under den tiden inte avgöra om alla bandmaskar dött vid behandlingen. Det kan även vara svårt att avgöra om positivt ELISA-svar fem veckor efter behandling beror på återinfektion (om hästen befinner sig på bete)

¹ Lightbody, Kirsty. Austin biologics ltd. Videosamtal 16/11/2023.

eller bristande behandlingssvar. Salivbaserad ELISA kan användas året om för att undersöka förekomst av antikroppar mot bandmask men eftersom hästarna infekteras under betessäsongen ger det sannolikt ett mer riktigt resultat om provtagning sker på hösten och ger då riktlinjer kring behandling och om förebyggande åtgärder behöver sättas in. Faktorer som avmaskning bör även tas hänsyn till samt tidsperioden det tar från att parasiten intas till att bandmaskarna fäst till tarmväggen för att säkerställa att det har gått tillräckligt lång tid för att antikroppar ska ha bildats. Resultatet från denna studie visade att fölen som provtogs i slutet av augusti inte hade några antikroppar eller gränsfall i saliven medan i mitten på oktober (18/10) kunde antikroppar påvisas hos vissa föl. Framtida studier skulle kunna provta föl under tiden mellan dessa datum för att se mer exakt när antikropparna mot bandmask ökar och därmed ge en riktlinje för när hästar bör provtas.

6. Konklusion

Avseende förekomst av bandmask hos föl påvisades bandmaskinfektion hos drygt hälften av fölen med salivbaserad ELISA och det skilde sig i förekomst mellan gårdarna. Denna studie kommer till slutsatsen att de nuvarande avmaskningsrekommendationerna för föl gällande bandmask bör fortsätta gälla då flertalet föl sannolikt är infekterade om andra hästar på betet är infekterade med bandmask.

Det kan konkluderas att resultaten från undersökningen av bandmaskinfektion är beroende av vilken diagnostisk metod som nyttjas. De diagnostiska metoderna har demonstrerat betydligt olika resultat där den koprologiska inte påvisade några bandmaskägg alls medan den serologiska hittade antikroppar hos ungefär hälften av alla provtagna föl. Korrelation påvisades mellan provtagningsdatum och antikropps nivåer för fölen vilket indikerar att tidpunkten för provtagning har betydelse för när bandmask kan påvisas med salivbaserad ELISA.

Det bör forskas vidare inom området för att fullständigt kunna bedöma förekomsten av bandmask hos föl och då skulle även PCR kunna övervägas som diagnostisk metod för att erhålla ett mer tillförlitligt resultat. Studien bör även genomföras i större skala och med större spridning av gårdar geografiskt för att få ett mer representativt resultat samt provta föl som inte diar i större utsträckning vid analys med salivbaserad ELISA.

Referenser

- Austin Davies Biologics Ltd. (2018). *The EquiSal Test*. <http://equisal.co.uk/The-EquiSal-Test/The-EquiSal-Test> [2023-10-22]
- Back, H., Nyman, A. & Osterman Lind, E. (2013). The association between *Anoplocephala perfoliata* and colic in Swedish horses—A case control study. *Veterinary Parasitology*, 197 (3), 580–585.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.020>
- Bain, S.A. & Kelly, J.D. (1977). Prevalence and pathogenicity of *Anoplocephala perfoliata* in a horse population in South Auckland. *New Zealand Veterinary Journal*,
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00480169.1977.34343> [2023-09-26]
- Bohórquez, A., Meana, A. & Luzón, M. (2012). Differential diagnosis of equine cestodosis based on E/S and somatic *Anoplocephala perfoliata* and *Anoplocephala magna* antigens. *Veterinary Parasitology*, 190 (1), 87–94.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.06.001>
- Borgsteede, F.H.M. & van Beek, G. (1996). Data on the prevalence of tapeworm infestations in horses in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, 18 (3), 110–112.
<https://doi.org/10.1080/01652176.1996.9694629>
- Burčáková, L., Königová, A., Kuzmina, T.A., Austin, C.J., Matthews, J.B., Lightbody, K.L., Peczak, N.A., Syrota, Y. & Várady, M. (2023). Equine tapeworm (*Anoplocephala* spp.) infection: evaluation of saliva- and serum-based antibody detection methods and risk factor analysis in Slovak horse populations. *Parasitology Research*,
<https://doi.org/10.1007/s00436-023-07994-1>
- Chachaj, B. & Seniczak, S. (2005). The influence of sheep, cattle and horse grazing on soil mites (Acari) of lowland meadows. *Folia Biologica*, 53 (4), 127–132.
<https://doi.org/10.3409/173491605775789362>
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Maurelli, M.P. & Utzinger, J. (2010). FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature Protocols*, 5 (3), 503–515.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2009.235>
- FASS (2023). Prazikvantel. *Fass Djurläkemedel*
<https://www.fass.se/LIF/substance?userType=1&substanceId=IDE4POF4UAPYKVE>
RT1 [2023-10-17]

- Fogarty, U., del Piero, F., Purnell, R.E. & Mosurski, K.R. (1994). Incidence of *Anoplocephala perfoliata* in horses examined at an Irish abattoir. *The Veterinary Record*, 134 (20), 515–518. <https://doi.org/10.1136/vr.134.20.515>
- Hayrapetyan, H., Tran, T., Tellez-Corrales, E. & Madiraju, C. (2023). Enzyme-linked immunosorbent assay: Types and applications. I: Matson, R.S. (red.) *ELISA: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer US. 1–17. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2903-1_1
- Hedberg-Alm, Y., Penell, J., Riihimäki, M., Osterman-Lind, E., Nielsen, M.K. & Tyden, E. (2020). Parasite occurrence and parasite management in Swedish horses presenting with gastrointestinal disease-A case-control study. *Animals (Basel)*, 10 (4), 638-. <https://doi.org/10.3390/ani10040638>
- Hästnäringens nationella stiftelse (2021). *Avelsrapport 2021 - Hästar och uppfödare i Sverige*. [29-11-2023] <https://hastnaringen.se/ny-rapport-samlar-statistik-over-aveln-i-sverige/>
- Höglund, J., Nilsson, O., Ljungström, B.-L., Hellander, J., Osterman Lind, E. & Ugglå, A. (1998). Epidemiology of *Anoplocephala perfoliata* infection in foals on a stud farm in south-western Sweden. *Veterinary Parasitology*, 75 (1), 71–79. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00188-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00188-X)
- Ihler, C.F., Rootwelt, V., Heyeraas, A. & Dolvik, N.I. (1995). The prevalence and epidemiology of *Anoplocephala perfoliata* infection in Norway. *Veterinary Research Communications*, 19 (6), 487–494. <https://doi.org/10.1007/BF01839337>
- Jacobs, D. (2015). *Principles of Veterinary Parasitology*. Newark, United States: John Wiley & Sons, Incorporated. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=7104315> [2023-09-18]
- Jürgenschellert, L., Krücken, J., Austin, C.J., Lightbody, K.L., Bousquet, E. & von Samson-Himmelstjerna, G. (2020). Investigations on the occurrence of tapeworm infections in German horse populations with comparison of different antibody detection methods based on saliva and serum samples. *Parasites & Vectors*, 13, 462. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04318-5>
- Kjær, L.N., Lungholt, M.M., Nielsen, M.K., Olsen, S.N. & Maddox-Hyttel, C. (2007). Interpretation of serum antibody response to *Anoplocephala perfoliata* in relation to parasite burden and faecal egg count. *Equine Veterinary Journal*, 39 (6), 529–533. <https://doi.org/10.2746/042516407X217876>
- Kornaś, S., Cabaret, J., Skalska, M. & Nowosad, B. (2010). Horse infection with intestinal helminths in relation to age, sex, access to grass and farm system. *Veterinary Parasitology*, 174 (3), 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.007>
- Lightbody, K.L., Davis, P.J. & Austin, C.J. (2016). Validation of a novel saliva-based ELISA test for diagnosing tapeworm burden in horses. *Veterinary Clinical Pathology*, 45 (2), 335–346. <https://doi.org/10.1111/vcp.12364>

- Lightbody, K.L., Matthews, J.B., Kemp-Symonds, J.G., Lambert, P.A. & Austin, C.J. (2018). Use of a saliva-based diagnostic test to identify tapeworm infection in horses in the UK. *Equine Veterinary Journal*, 50 (2), 213–219. <https://doi.org/10.1111/evj.12742>
- Love, S. & Mair, T.S. (2012). Chapter 19 - Infectious diseases and parasitology. I: Mair, T.S., Love, S., Schumacher, J., Smith, R.K., & Frazer, G. (red.) *Equine Medicine, Surgery and Reproduction*. (Second Edition). Oxford: W.B. Saunders. 399–422. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-2801-4.00019-5>
- Lyons, E.T., Drudge, J.H., Tolliver, S.C., Swerczek, T.W. & Collins, S.S. (1989). Determination of the efficacy of pyrantel pamoate at the therapeutic dose rate against the tapeworm *Anoplocephala perfoliata* in equids using a modification of the critical test method. *Veterinary Parasitology*, 31 (1), 13–18. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(89\)90004-6](https://doi.org/10.1016/0304-4017(89)90004-6)
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Collins, S.S., Drudge, J.H. & Granstrom, D.E. (1997). Transmission of some species of internal parasites in horses born in 1993, 1994, and 1995 on the same pasture on a farm in central Kentucky. *Veterinary Parasitology*, 70 (4), 225–240. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01155-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01155-7)
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Drudge, J.H., Granstrom, D.E. & Stamper, S. (1992). Activity of praziquantel against *Anoplocephala perfoliata* (Cestoda) in horses. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 59 (1), 1-4.
- Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Stamper, S., Drudge, J.H., Granstrom, D.E. & Collins, S.S. (1995). Activity of praziquantel (0.5 mg kg⁻¹) against *Anoplocephala perfoliata* (Cestoda) in equids. *Veterinary Parasitology*, 56 (1), 255–257. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)00661-U](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)00661-U)
- Matthews, J.B. & Austin, C.J. (2023). Using diagnostics in supporting sustainable worm control in horses. *Equine*, 7, 6. <https://doi.org/10.12968/ukve.2023.7.6.231>
- Marchiondo, A.A., White, G.W., Smith, L.L., Reinemeyer, C.R., Dascanio, J.J., Johnson, E.G. & Shugart, J.I. (2006). Clinical field efficacy and safety of pyrantel pamoate paste (19.13% w/w pyrantel base) against *Anoplocephala* spp. in naturally infected horses. *Veterinary Parasitology*, 137 (1), 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.12.019>
- Mfitilodze, M.W. & Hutchinson, G.W. (1989). Prevalence and intensity of non-strongyle intestinal parasites of horses in northern Queensland. *Australian Veterinary Journal*, 66 (1), 23–26. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1989.tb09708.x>
- Nielsen, M.K. (2023). Apparent treatment failure of praziquantel and pyrantel pamoate against anoplocephalid tapeworms. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 22, 96–101. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2023.06.002>
- Nilsson, O., Ljungström, B.L., Höglund, J., Lundquist, H. & Ugglå, A. (1995). *Anoplocephala perfoliata* in horses in Sweden: prevalence, infection levels and

intestinal lesions. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 36 (3), 319–328.
<https://doi.org/10.1186/BF03547677>

- Osterman-Lind, E., Holmberg, M. & Grandi, G. (2023). Selective anthelmintic treatment in horses in Sweden based on coprological analyses: Ten-year results. *Animals*, 13 (17), 2741. <https://doi.org/10.3390/ani13172741>
- Owen, R. ap R., Jagger, D.W. & Quan-Taylor, R. (1988). Prevalence of *Anoplocephala perfoliata* in horses and ponies in Clwyd, Powys and adjacent English marches. *Veterinary Record*, 123 (22), 562–563
- Pavone, S., Veronesi, F., Genchi, C., Fioretti, D.P., Brianti, E. & Mandara, M.T. (2011). Pathological changes caused by *Anoplocephala perfoliata* in the mucosa/submucosa and in the enteric nervous system of equine ileocecal junction. *Veterinary Parasitology*, 176 (1), 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.041>
- Proudman, C. j. & Trees, A. j. (1996). Correlation of antigen specific IgG and IgG(T) responses with *Anoplocephala perfoliata* infection intensity in the horse. *Parasite Immunology*, 18 (10), 499–506. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3024.1996.d01-18.x>
- Proudman, C.J., French, N.P. & Trees, A.J. (1998). Tapeworm infection is a significant risk factor for spasmodic colic and ileal impaction colic in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 30 (3), 194–199. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1998.tb04487.x>
- Proudman, C.J., Holmes, M.A., Sheoran, A.S., Edwards, S.E.R. & Trees, A.J. (1997). Immunoepidemiology of the equine tapeworm *Anoplocephala perfoliata* : age-intensity profile and age-dependency of antibody subtype responses. *Parasitology*, 114 (1), 89–94. <https://doi.org/10.1017/S0031182096008086>
- Rehbein, S., Lindner, T., Visser, M. & Winter, R. (2011). Evaluation of a double centrifugation technique for the detection of *Anoplocephala* eggs in horse faeces. *Journal of Helminthology*, 85 (4), 409–414.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X10000751>
- Reinemeyer, C. & Nielsen, M. (2018). *Handbook of Equine Parasite Control*. 2nd ed. Newark: Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781119382829>
- Reinemeyer, C.R., Smith, S.A., Gabel, A.A. & Herd, R.P. (1984). The prevalence and intensity of internal parasites of horses in the U.S.A. *Veterinary Parasitology*, 15 (1), 75–83. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(84\)90112-2](https://doi.org/10.1016/0304-4017(84)90112-2)
- von Samson-Himmelstjerna, G. (2012). Anthelmintic resistance in equine parasites – detection, potential clinical relevance and implications for control. *Veterinary Parasitology*, 185 (1), 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.010>
- Skotarek, S.L., Colwell, D.D. & Goater, C.P. (2010). Evaluation of diagnostic techniques for *Anoplocephala perfoliata* in horses from Alberta, Canada. *Veterinary Parasitology*, 172 (3), 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.05.005>

- Slocombe, J.O.D. (1979). Prevalence and treatment of tapeworms in horses. *The Canadian Veterinary Journal*, 20 (5), 136–140
- Slocombe, J.O.D. (2006). A modified critical test and its use in two dose titration trials to assess efficacy of praziquantel for *Anoplocephala perfoliata* in equids. *Veterinary Parasitology*, 136 (2), 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.10.025>
- SVA (2023). Invärtes parasiter (endoparasiter) hos häst. <https://www.sva.se/amnesomraden/djursjukdomar-a-o/invartes-parasiter-endoparasiter-hos-hast/> [2023-10-15]
- Tomczuk, K., Kostro, K., Grzybek, M., Szczepaniak, K., Studzińska, M., Demkowska-Kutrzepa, M. & Roczeń-Karczmarz, M. (2015). Seasonal changes of diagnostic potential in the detection of *Anoplocephala perfoliata* equine infections in the climate of Central Europe. *Parasitology Research*, 114 (2), 767–772. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4279-9>
- Traversa, D., Fichi, G., Campigli, M., Rondolotti, A., Iorio, R., Proudman, C.J., Pellegrini, D. & Perrucci, S. (2008). A comparison of coprological, serological and molecular methods for the diagnosis of horse infection with *Anoplocephala perfoliata* (Cestoda, Cyclophyllidae). *Veterinary Parasitology*, 152 (3), 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.032>
- Tydén, E., Hedberg Alm, Y., Riihimäki, M., Anlén, K., Nyman, S., Hedenby, J., Osterman Lind, E., Wartel, M. & Svedberg, P. (2022). *Hästens mag-tarmparasiter - Att förebygga och behandla*. Uppsala: SLU Repro. https://www.sva.se/media/tilhmqmf/hastens_mag-tarmparasiter.pdf [2023-09-24]
- Tydén, E. (2023). *Bandmaskägg*. [Fotografi]. [2023-10-30] Används med upphovspersonens tillstånd.
- Wagner, B. (2006). Immunoglobulins and immunoglobulin genes of the horse. *Developmental & Comparative Immunology*, 30 (1), 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.06.008>
- Walden, H.S., Jordan, M.E. & DiPietro, J.A. (2014). Chapter 58 - Cestodes. I: Sellon, D.C. & Long, M.T. (red.) *Equine Infectious Diseases*, (Second Edition). St. Louis: W.B. Saunders. 490-494.e2. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0891-8.00058-0>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Bandmask är en parasit som hästar och andra djurslag kan infekteras av, den vanligaste bandmasken hos häst kallas *Anoplocephala perfoliata* på latin. Hästen får i sig larvstadiet av bandmasken när den betar gräs och den utvecklas till en vuxen mask i hästens mag-tarmkanal. Masken fäster till tarmväggen och producerar ägg som kommer ut med hästens avföring. På betet kan äggen sedan utvecklas till larver inuti kvalster (mellanvärd) som finns bland gräset och andra hästar kan då infekteras när de får i sig kvalstret med betesgräset. Vid infektion med många bandmaskar kan parasiten orsaka sjukdom hos hästen, ett symptom av bandmaskinfektion är kolik vilket betyder magsmärtor. Bandmask kan behandlas med specifika avmaskningsmedel och den nuvarande rekommendationen gällande föl är att avmaska föl på hösten om parasiten förekommer på betena.

Andelen hästar som är infekterade av bandmask har undersökts av många och med olika typer av metoder vilket bland annat leder till att resultatet varierar, i Sverige är 3–65 % av alla vuxna hästar infekterade av bandmask enligt olika studier. Förekomsten hos föl är studerad i mindre utsträckning och undersöks därför i detta arbete.

Eftersom metoderna för att påvisa bandmask skiljer sig mycket i tillförlitlighet använder denna studie två olika metoder för att jämföra resultatet mellan dessa. Den första metoden kallas kvalitativ flotation och använder avföring från fölen som provmaterial, ett flotationsmedium (socker-salt-lösning) tillsätts till provmaterialet för att bandmaskäggen ska flyta upp till ytan och separeras från resten av avföringen. I det sista steget söker man efter ägg från bandmasken med hjälp av ett mikroskop. Den andra metoden som nyttjas är salivbaserad enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) som letar efter antikroppar mot bandmask i saliven. För analysen av saliv med ELISA skickades proverna till ett laboratorium i Storbritannien (Austin Davis Biologics Ltd) medan den kvalitativa flotationen av avföringsproverna analyserades på parasitlaboratoriet på Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) i Uppsala.

Föl och ston från fem olika gårdar i Mälardalsregionen provtogs under hösten 2023 (från 23:e augusti till 2:a november), totalt provtogs 45 föl och 33 ston. Från fölen

samlades både träckprov och salivprov in medan från stona togs enbart salivprov för att se om bandmask överhuvudtaget förekommer på gårdarna. De flesta ston som provtogs var mödrar till fölen, om det inte var möjligt att provta mödrar så provtogs andra ston som befann sig på gården.


Efter analys med kvalitativ flotation påvisades inga bandmaskägg från något avföringsprov från fölen. Den salivbaserade ELISAn hittade antikroppar hos 53 % (24 av 45) av fölen och hos 94 % (31 av 33) av stona. Ett signifikant samband kunde också ses mellan tidpunkt för provtagning och resultat från ELISAn där antikropps-förekomsten ökade ju senare på hösten provtagningen ägde rum. Utifrån resultatet bör de nuvarande avmaskningsrekommendationerna avseende bandmask behållas eftersom fölen sannolikt är infekterade om betena är kontaminerade med parasiten. Mest sannolikt är provtagningsdatumet av större betydelse än åldern på fölen för när det är möjligt att diagnosticera infektion med bandmask hos föl.

Vidare forskning inom området bör genomföras för att erhålla ett mer tillförlitligt resultat gällande förekomsten av bandmask hos föl. Framtida studier bör använda ett större stickprov och vidare geografisk distribution för att få ett representativt resultat som kan appliceras för hela landet.

Tack

Varmt tack till min handledare Frida Martin och biträdande handledare Eva Tydén för all hjälp och stöttning under arbetets gång. Tack till Austin Davies för att de analyserat samtliga salivprover kostnadsfritt. Stort tack till alla gårdar som medverkat och personalen som hjälpt till vid provtagning. Tack till Amanda Kövamees som gått upp tidigare mornar för att hjälpa till med provtagning.

Bilaga 1. Följesedel för träckprov och salivprov

 Forskningsstudie om förekomst av hästparasiter

Fyll i allt utom de skuggade rutorna!

FÖLJESEDEL FÖR TRÄCKPROV OCH SALIVPROV

Provtagningsdatum.....

Gård.....
Adress.....
Postadress.....
Tel.....
Signatur provtagare.....

Hästens namn/id	Född: År, Månad	Senast avmaskad: Datum och preparat	Provtas gårdens hästar årligen för bandmask (utökad analys)? Om ja, förekommer bandmask på gården?	Behandlas hästarna på gården årligen mot bandmask? <i>Ja/nej/endast vuxna hästar</i>	Bandmask (förekomst/ej förekomst)
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					

Grå rutor fylls i av laboratoriet

Medgivande från hästägare/hästhållare
Jag godkänner härmed att ovanstående hästar deltar i studien om förekomst av bandmask och att träckprov och salivprov tas från hästarna. Jag är införstådd med att deltagande i studien är frivillig och att jag när som helst kan dra ur min häst ur studien.
Till de hästar jag inte äger själv har djurägarna gett sitt samtycke till mig.

.....
Ort och datum

.....
Signatur och namnförtydligande

Vid frågor kontakta Frida Martin, leg vet, forskare vid BVF/SLU email: frida.martin@slu.se

Följesedel för träckprov och salivprov som användes i samband med gårdsbesök.

Bilaga 2. Resultat från koprologisk och serologisk undersökning

Resultat från koprologisk och serologisk undersökning för både föl och ston. Id för hästarna börjar med en siffra som representerar gården, en bokstav som representerar om det är ett föl (F) eller ett sto (S) och sista siffran är individnumret. Mödrar till fölen befinner sig på samma rad som fölet.

Id föl	Ålder	Träck resultat	Saliva score föl	Diagnos ELISA föl	Saliva score sto	Diagnos ELISA sto
1F1	5 mån	Negativ	0,41	Gränsfall		
1F2	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ		
1F3	3 mån	Negativ	<-0,09	Negativ		
1F4	5 mån	Negativ	3,52	Positiv		
1F5	4 mån	Negativ	2,96	Positiv	11,92	Positiv
1F6	5 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	9,32	Positiv
1F7	5 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	3,63	Positiv
1F8	5 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	18,68	Positiv
1F9	4 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	9,69	Positiv
1F10	4 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	13,82	Positiv
1F11	5 mån	Negativ	0,1	Gränsfall	4,34	Positiv
2F1	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	5,65	Positiv
2F2	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	<-0,09	Negativ
2F3	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	6,44	Positiv
2F4	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	15,77	Positiv
2F5	7 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	2,4	Positiv
2F6	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ		
2F7	5 mån	Negativ	<-0,09	Negativ		
2F8	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ		
					6,06	Positiv
					8,37	Positiv
					1,16	Positiv
3F1	6 mån	Negativ	0,4	Gränsfall	140,89	Positiv
3F2	5 mån	Negativ	1,28	Positiv	19,66	Positiv
3F3	5 mån	Negativ	1,99	Positiv		
3F4*	5 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	114,84	Positiv

3F5*	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ		
3F6*	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	109,5	Positiv
3F7*	7 mån	Negativ	<-0,09	Negativ		
3F8*	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ		
3F9*	7 mån	Negativ	5,89	Positiv		
4F1	6 mån	Negativ	3,03	Positiv	6,92	Positiv
4F2	6 mån	Negativ	2,1	Positiv	16,21	Positiv
4F3	6 mån	Negativ	19,05	Positiv	25,54	Positiv
4F4	6 mån	Negativ	<-0,09	Negativ	<-0,09	Negativ
4F5	6 mån	Negativ	8,43	Positiv	8,1	Positiv
4F6	7 mån	Negativ	13,93	Positiv		
4F7	6 mån	Negativ	8,49	Positiv	42,01	Positiv
5F1	6 mån	Negativ	2,16	Positiv	47,11	Positiv
5F2	6 mån	Negativ	3,63	Positiv	65,28	Positiv
5F3	5 mån	Negativ	6,4	Positiv	123,48	Positiv
5F4	6 mån	Negativ	36,92	Positiv	28,83	Positiv
5F5*	6 mån	Negativ	2,41	Positiv		
5F6*	6 mån	Negativ	7,73	Positiv		
5F7	6 mån	Negativ	10,19	Positiv	37,11	Positiv
5F8	5 mån		3,14	Positiv	20,2	Positiv
5F9	6 mån	Negativ	2,91	Positiv	17,02	Positiv
5F10	6 mån	Negativ	4,83	Positiv	6,52	Positiv

*Avvanda vid provtagning

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. **Som student äger du upphovsrätten** till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag ger härmed min tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag ger inte min tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.