



Fransk hjärtmask (*Angiostrongylus vasorum*) i Skåne

Sveriges första beskrivna hotspot?

Jessica Andersson

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet
Uppsala 2025



Fransk hjärtmask (*Angiostrongylus vasorum*) i Skåne – Sveriges första beskrivna hotspot?

French heartworm (Angiostrongylus vasorum) in Skåne – First Swedish hotspot?

Jessica Andersson

Handledare:	Giulio Grandi, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper, enheten för parasitologi
Bitr. handledare:	Eva Osterman Lind, Statens veterinärmedicinska anstalt
Examinator:	Johan Höglund, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper, enheten för parasitologi
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:	2025
Upphovsrätt:	Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd. Illustrationerna i arbetet är författarens egna om inget annat uppges.
Nyckelord:	<i>Angiostrongylus vasorum</i> , angiostrongylos, hotspot, högriskområde, hund, PCR, sniglar, Baermann

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Fransk hjärtmask (*Angiostrongylus vasorum*) är en nematod som kan orsaka stora skador och stundvis död hos hunddjur. Sjukdomen heter angiostrongylos och förekommer sporadiskt i Sverige, med undantag för på Kosteröarna. Hösten 2023 avled tre av fyra valpar från en uppfödning i centrala Skåne efter en tids hosta. Efter valparnas död provtogs avföring från den kvarlevande valpen som även den uppvisade hosta. I avföringen påvisades larver av *A. vasorum*. De vuxna hundarna från uppfödningen provtogs och åtta av tio hundar var även de positiva för *A. vasorum*. Detta väckte en misstanke om etablering av ett första högriskområde (hotspot) i Sverige. Syftet med denna studie var att följa upp förekomsten av *A. vasorum* i sniglar och hundar i området följande vår och höst efter det att åtgärder vidtagits för att motverka smittspridning.

Sniglarna samlades in under två tillfällen. En gång i mars och en gång i september 2024. De analyserades genom digestion och mikroskopering. Nematodlarver som påträffades sparades för artbestämning med PCR. Avföring från hundar i området skickades in och analyserades genom Baermann trätt-metod.

Resultatet från sniglarna insamlade i mars var genomgående negativa. Däremot prover undersökta i september visade på en hög förekomst nematodlarver (viktat medelvärde 5,79 larver 95 % KI $\pm$ 0,61) i uppfödarens trädgård där hundarna bor, jämfört med provtagningsplatser längre bort. Där varierade det viktade medelvärde mellan 0-0,17 (95 % KI $\pm$ 0,08). PCR-analys av positiva digestioner /larverna var dock negativt för både *A. vasorum* och rävens lungmask, *Crenosoma vulpis*. Alla avföringsprover (22 st) från hundarna var negativa för *A. vasorum* men det påvisades lungmask i ett fåtal prover (*Crenosoma vulpis*, n=2)

De negativa avföringsproverna samt negativa PCR-resultaten tyder på att detta inte är ett högriskområde. Det är dock viktigt att nämna att trots en lyckad PCR (med fungerande positiva och negativa kontroller) så är det möjligt att *A. vasorum* larver missades för analys på grund av begränsad erfarenhet av metoden (tvättning av larver och DNA-extraktion). Utökade analyser inkluderade andra hunddjur i området såsom räv är motiverat för att säkert avfärda misstanken om högriskområde. Vidare diskuteras även i arbetet den till synes bristande effekten av milbemycin på symptom och utskiljning av larver i träcken.

Nyckelord: *Angiostrongylus vasorum*, angiostrongylos, hotspot, högriskområde, hund, PCR, sniglar, Baermann

Abstract

The French heartworm (*Angiostrongylus vasorum*) is a bursate nematode that can cause major and sometimes even lethal damages in the canine species. The disease is called angiostrongylosis. Sweden has previously only had sporadic cases of angiostrongylosis, with the exception of the Koster islands. During fall 2024, three out of four puppies from a breeder in central Skåne died after a period of coughing. After their death the remaining puppy started coughing and a faecal sample was tested for *A. vasorum*. The test came back positive. Adult dogs from the breeder was then also tested and eight out of ten dogs were positive for *A. vasorum*. This raised the suspicion of Sweden's first documented hotspot. The aim of this study was to examine the occurrence of *A. vasorum* in snails and dogs in the area to identify what could be Sweden's first hotspot.

The slugs were collected during two different occasions (once in March and once in September, 2024). They were digested and the material was then examined microscopically. To determine if the nematode larvae found with microscope belonged to *A. vasorum* or *Crenosoma vulpis* (the fox lungworm), species-specific PCR assays were conducted. Fecal samples from dogs in the same area were submitted and analysed with the baermann funnel method.

All the slugs collected in March were negative for nematode larvae. The slugs collected in September in the breeder's yard were infected (weighted mean 5,79 nematode larvae 95% CI $\pm 0,61$) and harbored more larvae compared to the other sampling sites. The other sampling sites weighted mean varied between 0 – 0,17 larvae (95% CI $\pm 0,08$). Despite the frequent occurrence in the yard, PCR tests of the nematodes were negative for both *A. vasorum* and *C. vulpis*. All of the fecal samples were negative for *A. vasorum* even if lungworm larvae were found in some samples (*C. vulpis*, n=2).

The negative fecal samples combined with the negative PCR from the slugs indicate that this is not a hotspot. It is important to mention that despite a successful PCR setup (with fully working positive and negative controls) it is possible that because of limited experience with sample preparation (purification of larvae from snails and DNA extraction from this material) some *A. vasorum* larvae were missed. Further analysis including repeated tests on potential intermediate hosts as well as on faecal samples and/or necropsy examination of other canine species in the area, such as foxes, is motivated to safely discard the suspicion of a hotspot completely.

This study also discusses the potential lack of efficacy of milbemycin against the clinical symptoms and the faecal excretion of *A. vasorum* larvae.

Keywords: *Angiostrongylus vasorum*, angiostrongylosis, hotspot, canine, PCR, slugs, Baermann funnel

Innehållsförteckning

Förkortningar	9
1. Introduktion	11
1.1 Syfte	11
1.2 Frågeställning	11
2. Litteraturoversikt	12
2.1 Livscykel	12
2.2 Morfologi	13
2.3 Kliniska symtom	14
2.4 Diagnostik	14
2.5 Behandling	15
2.6 Fransk hjärtmask (<i>Angiostrongylus vasorum</i>) i Europa och Sverige	15
2.6.1 Europa	15
2.6.2 Sverige	16
2.7 Förekomst av <i>Angiostrongylus vasorum</i> i sniglar	17
3. Fallbeskrivning	18
4. Material och metod	21
4.1 Sniglar	21
4.1.1 Insamling av sniglar	21
4.1.2 Analys av sniglar	22
4.2 Träckprov	22
4.2.1 Insamling av träckprov	22
4.2.2 Analys av träckprov	22
4.3 PCR	22
4.3.1 DNA extraktion	22
4.3.2 Molekylär identifikation av <i>A. vasorum</i>	23
5. Resultat	25
5.1 Analys av sniglar 1	25
5.2 Analys av sniglar 2	25
5.3 Analys av hundträck	27
5.4 PCR	30
6. Diskussion	32
6.1 Förekomst av nematodlarver i sniglar	32
6.2 Förekomst av nematodlarver i avföring	33
6.3 Fallet och behandlingar	34
6.4 Metodologiska aspekter	35
6.5 Konklusion	35

Referenser.....	37
Populärvetenskaplig sammanfattning	42
Bilaga 1.....	44
Tack!	45

Förkortningar

Förkortning	Betydelse
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet
<i>A. vasorum</i>	<i>Angiostrongylus vasorum</i> (Fransk hjärtmask)
<i>C. vulpis</i>	<i>Crenosoma vulpis</i> (Rävens lungmask)

1. Introduktion

Angiostrongylus vasorum är en nematod som på svenska kallas fransk hjärtmask. Den har en indirekt livscykel med hunddjur som slutvärd och sniglar eller snäckor som mellanvärd i vilka utvecklingen av larvstadier sker (Rosen *et al.* 1970). Larverna som infekterar hunddjuren migrerar från tarmen upp till lungkärnen där de orsakar skador. Skadorna kan leda till symtom så som hosta, dyspné, tachypné, motionsintolerans och koagulopatier (Brennan *et al.* 2004). Skadorna kan i vissa fall vara letala.

I Sverige diagnostiserades första fall av fransk hjärtmask hos hund och räv 2003 på Sydkoster (Åblad *et al.* 2003); efter det har det förekommit fall på ett flertal platser i landet. Förekomsten av smitta har trots detta varit låg i jämförelse med andra länder (Grandi *et al.* 2017).

Under hösten 2023 avled tre av fyra valpar i en kull från en ort i centrala Skåne. Alla valpar hade symtom på hosta och den kvarlevande valpens avföring påvisade larver av *A. vasorum*. Flertal vuxna hundar från uppfödningen var även positiva för *A. vasorum*. Detta gav misstanke om att Sverige hade fått sin första endemiska hotspot.

1.1 Syfte

Syftet med arbetet var att följa upp förekomsten av *A. vasorum* hos sniglar och hundar för att identifiera om parasiten etablerat sig.

1.2 Frågeställning

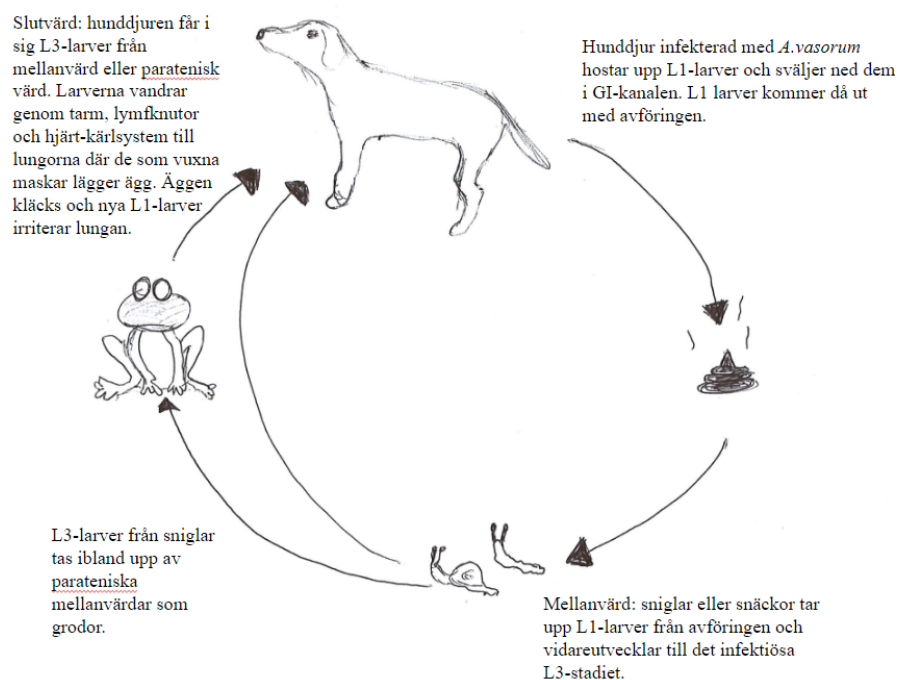
Förekomst av *A. vasorum* i hundar (slutvärden) och sniglar (mellanvärden) i området för det tidigare utbrottet.

2. Litteraturoversikt

2.1 Livscykel

Angiostrongylus vasorum, även kallad fransk hjärtsmask är en nematod som kan orsaka infektion hos rävar, domesticerade hundar samt andra hunddjur (Rosen *et al.* 1970; Bolt *et al.* 1992; Morgan *et al.* 2005). Nematoden har en indirekt livscykel med hunddjur som slutvärd och olika arter av sniglar och snäckor som mellanvärd (Barçante *et al.* 2003). Det finns även parateniska mellanvärdar (transportvärdar) som grodor och paddor beskrivna i litteraturen. I experimentella försök har man sett att grodor också kan agera som mellanvärd (Bolt *et al.* 1993).

A. vasorum har 5 larvstadier (L1-L5) innan de når sitt vuxna stadium (Anderson 2000:162–163; Morgan *et al.* 2005; Saari 2019). Infekterade hunddjur utsöndrar förstastadielarver, L1, med avföringen. En mellanvärd förtär hunddjurens avföring innehållande L1-larver. Larverna utvecklas till det infektiösa L3-stadiet i mellanvärden. Slutvärden konsumerar sedan larver av L3-stadier via infekterade mellanvärdar eller parateniska mellanvärdar. L3 larverna penetrerar slutvärdens tarmmukosa/slemhinna och tar sig till abdominala lymfknutor. I lymfknutorna utvecklas larverna till L5-stadiet innan de via kärlsystemet tar sig till lungkärl och hjärtats högra kammare där de utvecklas till vuxna maskar. De honliga maskarna lägger ägg som transporteras till lungkapillärerna. När äggen kläcks penetrerar de nya L1-larverna bronkväggen vilket orsakar irritation. Larverna hostas upp och sväljs sedan av slutvärden. L1-larverna kommer sedan att utsöndras med slutvärdens faeces cirka 6-8 veckor efter smittan. (Rosen *et al.* 1970; Morgan *et al.* 2005). Se figur 1 för förenklad livscykel.



Figur 1. Livscykel för *A. vasorum*.

2.2 Morfologi

Det finns många nematoder inom ordningen strongylida. För att skilja dessa åt är morfologin en central del. Angiostrongylus-larvernas förstastadium (L1) är 310-380 μm långa och 14-16 μm breda (Rosen *et al.* 1970). Svansen är 30-34 μm lång och beskrivs ha en vass spets med typiskt karakteristisk taggigt utseende på dorsalsidan (se figur 2).

Vid stadium L2 är larverna 420-450 μm långa och 40-42 μm breda (Guilhon & Cens 1973; Ferdushy & Hasan 2010). Kroppen är något mindre genomskinlig än L1-stadiet på grund av brunfärgade granulat i cellerna som täcker inre organ.

Enligt Ash (1970) är L3-larverna 508-610 μm långa och 27-34 μm breda. Esofagus uppmättes av Ash (1970) till 170-212 μm och svansen 32-41 μm .

I L4- och L5-stadiet börjar kön på larverna bli tydliga, honornas vulva kan skiljas från anus och hanarnas bursor och spikler går att skönja (Rosen *et al.* 1970).

Vuxna maskar av *A. vasorum* har 3 läppar som är omöjliga att särskilja i maskarnas kraniala del. Likt L4- och L5- stadierna är könsbestämning möjlig, men hos de vuxna maskarna är könsorganen rörliga och fungerande. Honornas reproduktiva delar (livmoder, äggledare och äggstock) tillsammans med de mörkfärgade tarmarna ger honan ett randigt utseende. Det beskrivs som "barber pole"-utseende

(Rosen *et al.* 1970). Enligt Guilhon & Cens (1973) är honorna 15-20,5 mm långa och 220 – 306 µm breda. Hanarna är något mindre, 14 – 15,5 mm långa och 170 – 235 µm breda.



Figur 2. Svans från L1 *A. vasorum* med typiskt taggigt utseende. Bild av Bodil Christensson, SVA (2009)

2.3 Kliniska symtom

Livscykeln för *A. vasorum* innefattar migration, utveckling och förökning av larver i lungornas kärl och bronker (Rosen *et al.* 1970; Cesare & Traversa 2014). Detta medför att de vanligaste symtomen på sjukdom (angiostrongylos) är respiratoriska. Larverna och äggens rörelse och utveckling i lungan leder till en granulomatös inflammation och med efterföljande fibrosbildning. Detta kan orsaka kliniska tecken som hosta, tachypné, dyspné och motionsintolerans (Brennan *et al.* 2004; Saari 2019; Conboy & Sykes 2021). Angiostrongylos beskrivs även kunna orsaka koagulopati, buksmärta, kräkningar, avmagring, nedsatt allmäntillstånd (Koch & Willesen 2009; Saari 2019).

De tidigare beskrivna förändringarna av lungan kan ofta ses vid röntgen i form av ökat interstitiellt, alveolärt och/eller peribronchiellt mönster (Boag *et al.* 2004; Brennan *et al.* 2004; Gallagher *et al.* 2012). I allvarligare fall kan ibland även pneumothorax, pleural effusion, subkutant emfysem och högersidig hjärtförstoring ses röntgenologiskt.

2.4 Diagnostik

För att påvisa förekomst av *A. vasorum* finns ett flertal diagnostiska verktyg tillgängliga. Analys av avföringsprover kan utföras med Baermanns trattmetod (Morgan *et al.* 2010; Cesare & Traversa 2014). Sensitiviteten ökar när provet innehåller avföring från tre olika dagar då utsöndringen av parasitlarver sker intermitterant (Koch & Willesen 2009). Metoden är dock mer tidskrävande än ett direktutstryk vilket kan göra direktutstryk mer fördelaktigt vid akut behov av diagnos

(Morgan *et al.* 2010). Vid förekomst av nematodlarver i provet diagnostiseras *A. vasorum* morfologiskt eller via PCR.

Diagnostisering via bronchoalveolar lungsköljning har hög sensitivitet och anses vara ett säkert ingrepp hos friska hundar (Hawkins *et al.* 1990; Vail *et al.* 1995; Barçante *et al.* 2008).

Serologisk diagnostik finns även tillgänglig för påvisande av antigen av *A. vasorum* i serum (Verzberger-Epshtein *et al.* 2008; Schnyder *et al.* 2011).

2.5 Behandling

Effektiva behandlingar mot angiostrongylos som beskrivs i litteraturen är, makrocycliska laktoner (milbemycinoxim, moxidektin och ivermektin) och en bensimidazol (fenbendazole) (Martin *et al.* 1993; Brennan *et al.* 2004).

I Sverige är de makrocycliska laktonerna milbemycinoxim och moxidektin godkända för behandling av infektion med *A. vasorum*. Moxidektin finns dock enbart tillgänglig i kombinationspreparat, moxidektin + imidakloprid (FASS Djurläkemedel u.å.a).

Makrocycliska laktoner verkar genom att öka membranpermeabiliteten för kloridjoner i glutamatreglerande kloridjonkanaler (FASS Djurläkemedel u.å.b; FASS Djurläkemedel u.å.c). Detta leder till paralys och död hos parasiten.

Enligt FASS begränsar preparat med milbemycinoxim infektion av *A. vasorum* med larver i L5-stadium och adulta maskar. Dosen ska vara 0,5-1 mg milbemycinoxim/kg kroppsvikt fyra gånger med en veckas mellanrum (FASS Djurläkemedel u.å.d; FASS Djurläkemedel u.å.a; FASS Djurläkemedel u.å.c; FASS Djurläke-medel u.å.e).

Preparat med moxidektin har indikation för behandling av *A. vasorum*-infektion och profylax mot L4 och L5. Behandlingen sker som en engångsdos med minst 2,5 mg moxidektin/kg kroppsvikt och bör följas upp för ev. ytterligare behandling efter 1 mån (FASS Djurläkemedel u.å.b).

2.6 Fransk hjärtsmask (*Angiostrongylus vasorum*) i Europa och Sverige

2.6.1 Europa

Det första fyndet av *A. vasorum*-infektion återberättar Schnyder *et al.* (2017) ska ha skett i 1800-talets Frankrike, vilket gav nematoden sitt namn fransk hjärtsmask

(Railliet & Henry 1913; Koch & Willesen 2009). Smittan ska då ha förekommit endemiskt i ett område runt Toulouse, Frankrike. Idag finns smittan spridd över stora delar av Europa och världen. Prevalensen varierar dock oerhört eftersom smittan förekommer i endemiska foci (även kallat hotspots) med sporadiska fall runt om (Koch & Willesen 2009).

Under de senaste åren har ett flertal undersökningar av seroprevalensen i olika europeiska länder utförts. I en studie av Schnyder *et al.* (2013) uppmättes seroprevalensen till 0,3 % i Tyskland och 1,0 % i Storbritannien. Samma typ av undersökning i Italien visade på en 0,6 % seroprevalens i norra Italien och 0,8 % i centrala Italien (Guardone *et al.* 2013).

2.6.2 Sverige

I Sverige beskrevs det första fallet av *A. vasorum* 2003 hos räv och hund på Syd-koster (Åblad *et al.* 2003). Efter detta har det förekommit sporadiska fall även runt om på fastlandet. Se tabell 1 för antal och fördelning av indexfall under åren 2012-2023.

Tabell 1. Statistik från Jordbruksverket över antal indexfall av *A. vasorum* hos hundar i Sverige mellan år 2012-2023 (Jordbruksverket 2012-2023). * betyder att det även förekom indexfall på räv.

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Skåne		1	1	1	1		1	1		2	4	4
Blekinge		1										
Halland												1
Kronoberg					2							
Jönköping					1			1				1
Västra götaland	1	1*	1	4	2					1	2	3*
Östergötland				1			1				1	
Södermanland			1								1	
Örebro											1	
Värmland												1
Västmanland											1	
Stockholm				2	1				1		2	2
Uppsala		1									1	1
Gävleborg			1									
Jämtland		1		1								
Västernorrland		1		1	1							
Norrbottn				1								

Seroprevalensen i Sverige undersöktes mellan åren 2011-2015 av Grandi *et al.* (2017) och uppmättes till 0,1 % vilket tyder på att smittan är ovanlig i jämförelse med andra europeiska länder. Däremot har Danmark sedan flera år tillbaka haft en endemisk smitta (Saeed *et al.* 2006; Lemming *et al.* 2020). Prevalensen hos rävar på Själland, Danmark vid senaste undersökning låg kring 37 % (Lemming *et al.* 2020). Med endemisk smitta i vårt grannland Danmark diskuterar Mauritzson i sin

artikel från 2016 att särskilt Skåne skulle kunna ligga i riskzonen för att få in smitta som etableras. Något som inte konfirmerades i hennes undersökning av förekomsten hos skånska jakthundar (Mauritzson 2016).

Scenariot i Danmark visar hur snabbt infektionen kan etablera sig i ett nytt område. Saeed *et al.* (2006) återberättar i sin artikel att innan 1989 så hade *A. vasorum* enbart diagnosticerats vid obduktion av två hundar som hade besökt Frankrike varefter prevalensen/förekomsten steg kraftigt. Artikelförfattaren menar att detta beror på att smittan kan importerats med hundar som i sin tur infekterat sniglar inom ett nytt område. Infektionen kan därefter etablera sig hos rävar, som är ett hunddjur, i samma område och de kan sprida infektionen ytterligare.

2.7 Förekomst av *Angiostrongylus vasorum* i sniglar

Studier i andra europeiska länder avseende *A. vasorum* i mellanvärden (olika sniglar) har visat på varierande prevalens. I en studie utförd i Swansea (hotspot för *A. vasorum*) i Södra Wales uppmättes prevalensen till 29,4 % (Aziz *et al.* 2016). I samma studie var prevalensen i Bristol (som inte har en endemisk smitta) endast 0,3 %. Skribenten förtydligar dock att insamlingstillfällena på de olika platserna skedde under olika årstider, vilket medför att prevalenserna ej är jämförbara.

Utanför Köpenhamn uppmättes prevalensen i medeltal till 9,4 % (Ferdushy *et al.* 2009) men med en stor variation mellan de olika undersökta områdena (0-26 %).

Även i sydvästra Tyskland varierade prevalensen något mellan de olika områden. Otterberg, Rhineland-Palatinate identifierades som hotspot med en prevalens på 9,9 % (Lange *et al.* 2018).

I studien från Köpenhamn (Ferdushy *et al.* 2009) artbestämde larver till *A. vasorum* enligt morfologiska kriterier enligt Rosen *et al.* (1970) och Ash (1970), medan man i Storbritannien (Aziz *et al.* 2016) och Tyskland (Lange *et al.* 2018) använde sig av PCR.

3. Fallbeskrivning

Hösten 2023 hämtade en djurägare från Uppsala fyra valpar (A, B, C & D) av rasen pomeranian från en uppfödare i centrala Skåne. Innan valparna förflyttades spenderade djurägaren en vecka hos uppfödaren med sina vuxna hundar (hund 1, 2 och 3) även dessa av rasen pomeranian. Valparna anlände till Uppsala i början av september samma år; de var då 12 veckor, friska och besiktigade. Den 4/10-23 vaccinerades tre av fyra valpar mot valpsjukesvirus, kennelhosta, parvovirus och hepatitis contagiosa canis. Valp A vaccinerades ej på grund av ett hornhinnesår. Den 8/10-23 började valp B hosta. Den 10/10-23 uppsöktes veterinär och röntgen visade på lungförändringar. Efter detta besök beslutades det att ta uppföljande röntgenbilder 2-3 veckor senare. Den 13/10-23 uppsöktes veterinär igen eftersom även valp A utvecklat hosta och nedsatt allmäntillstånd. Valp A fick då antibiotika (amoxicillin och klavulansyra) samt meloxicam. Dessutom hade valp C börjat hosta och fick annan antibiotika (doxycyklin) samt meloxicam. Valp C blev ej bättre och avlivades 18/10. Den 25/10-23 ramlade valp A ihop hemma och avled. Valp B som hade insjuknat först avlivades 27/10-23 efter den var gravt andningspåverkad. Valp D hade då börjat hosta och veterinären rekommenderade att ta ett träckprov som skickades in för analys 30/10-23. I träckprovet påvisades larver av fransk hjärtsmask (*Angiostrongylus vasorum*). Valpen behandlades då med kombinationspreparatet milbemycin och prazikvantel (Milbemax® vet, Elanco Denmark) fyra gånger med en veckas mellanrum. Vid uppföljande provtagning 27/11-23 påvisades larver fortfarande. Den 5/12-23 ändrades behandlingen till ett kombinationspreparat med imidaklopid och moxidektin (Advocate®). Träckprov 18/12-23 visade att larver av fransk hjärtsmask fortfarande fanns kvar trots avmaskning. Valp D behandlas ytterligare en gång till med Advocate® 18/12-23. Träckprov 2/1-24 var negativt. Ytterligare avföringsprov 22/1-24 var även det negativt.

Djurägarens tre vuxna hundar (hund 1, 2, 3) hade även de börjat hosta i december 2023, varefter träckprov skickades för undersökning. Både hund 1 och 2 var positiva för fransk hjärtsmask, men hund 3 negativ. Samtliga hundar behandlades med Milbemax® vet, Elanco Denmark samtidigt som valp D i november. Hundarna inledde behandling med Advocate® 18/12-23. Träckprov från hund 1, 2 & 3 var negativa 22/1-24.

Uppfödningen i centrala Skåne:

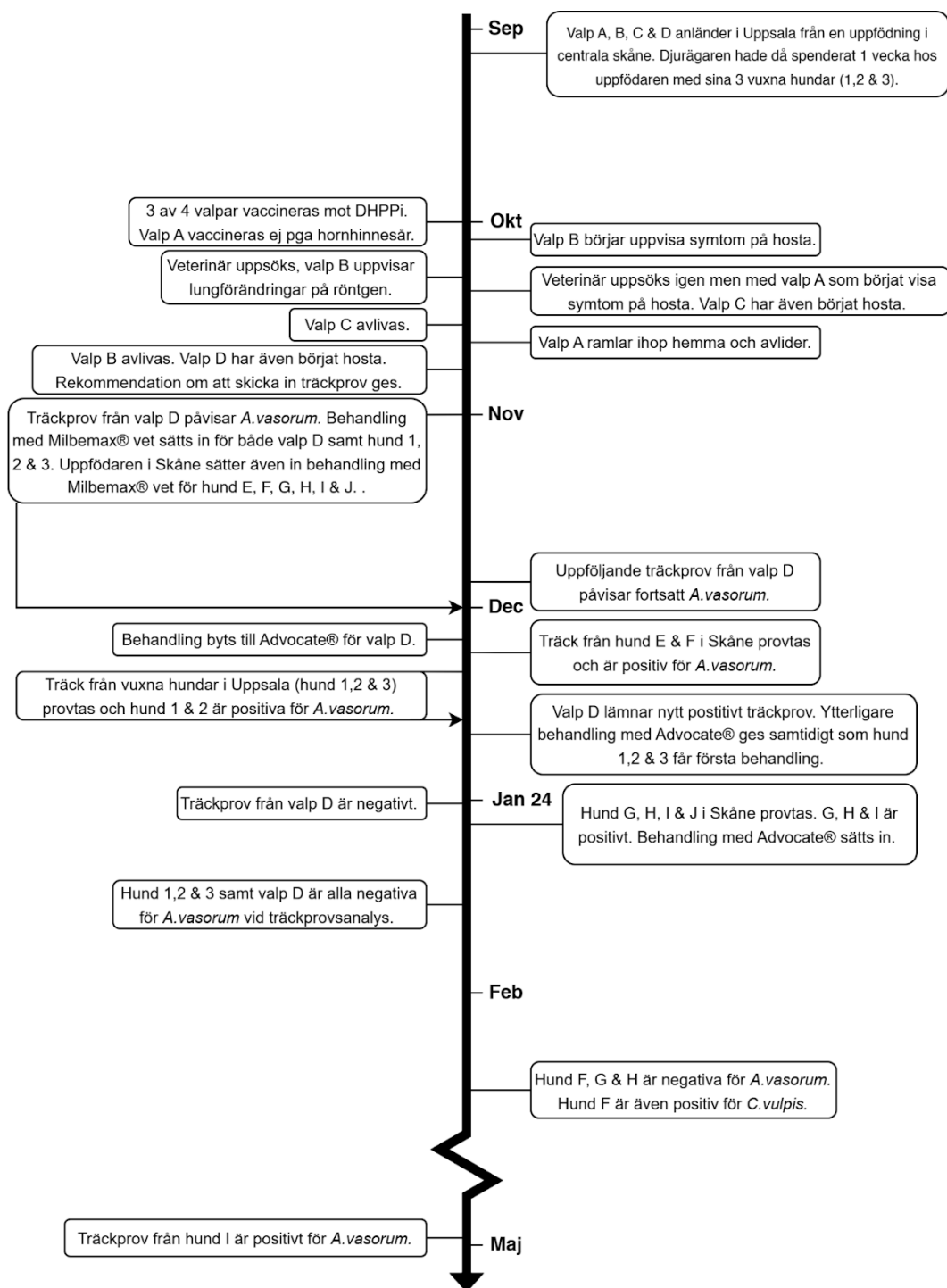
När valp D i Uppsala diagnosticerades med fransk hjärtsmask i oktober 2023 avmaskade även uppfödaren i Skåne sina pomeranianhundar med Milbemax® vet, Elanco Denmark. Efter tre veckors behandling den 6/12-23 analyserades träck från två vuxna hundar (E & F). Båda hundarna hade larver. Ytterligare fyra

hundar (G, H, I & J) hos uppfödaren undersöktes 9/1-24. Alla utom Hund J var positiva för fransk hjärtmask och de behandlades då med Advocate®. Nya träckprover togs från hundarna F, G och H som befanns negativa 23/2-24, men hund F var positiv för *C. vulpis*. Ny provtagning gjordes 30/4-24 av hund I som var positiv (ytterligare behandling eller provtagning ej känd).

Se tabell 2 för hundarnas symtom och behandling uppdelat i kolumner samt figur 3 för tidslinjer för de olika beskrivna händelserna.

Tabell 2. Hundar/valpar samt symtom, behandling och provsvar efter behandling. Behandling med Milbemax® vet, Elanco Denmark skedde fyra gånger med en veckas mellanrum och behandling med Advocate® skedde 1 gång om inget annat anges.

Hund/ Valp	Symtom	Behandlad med Milbemax® vet, Elanco Denmark	Positivt/negativt träckprov efter behandling med Milbemax® vet, Elanco Denmark	Behand- lad med Advo- cate®	Positivt/negativt träckprov efter behandling med Advocate®
Valp A	Hosta	Avliden innan träckprov	-	-	-
Valp B	Hosta	Avliden innan träckprov	-	-	-
Valp C	Hosta	Avliden innan träckprov	-	-	-
Valp D	Hosta	Ja	Positivt 27/11-23	Ja	Negativt efter 2 behandlingar. 2/1-24
Hund 1	Hosta	Ja	Positivt 9/12-23	Ja	Negativt 22/1-24
Hund 2	Hosta	Ja	Positivt 9/12-23	Ja	Negativt 22/1-24
Hund 3	Hosta	Ja	Negativ 9/12-23	Ja	Negativt 22/1-24
Hund E	Hosta	Ja	Positivt 6/12-23	Ja	-
Hund F	Hosta	Ja	Positivt 6/12-23	Ja	Negativt 23/2-24
Hund G	Symtomfri	Ja	Positivt 9/1-24	Ja	Negativt 23/2-24
Hund H	Symtomfri	Ja	Positivt 9/1-24	Ja	Negativt 23/2-24
Hund I	Symtomfri	Ja	Positivt 9/1-24	Ja	Positivt 30/4-24.
Hund J	Symtomfri	Ja	Negativt 9/1-24	-	-



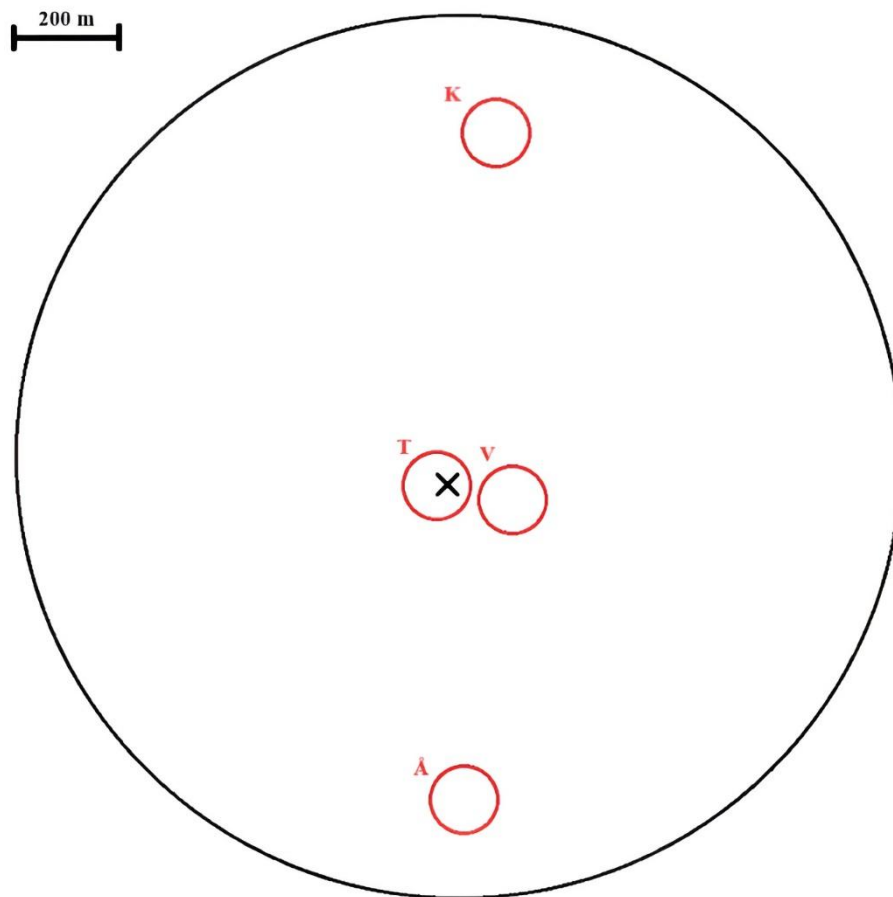
Figur 3. Tidslinje över händelser för hundarna/valparna

4. Material och metod

4.1 Sniglar

4.1.1 Insamling av sniglar

Sniglarna plockades vid två tillfällen (30 mars 2024 och 18 september 2024) inom en radie på 1 km runt om uppfödarens bostad i centrala Skåne. De delades upp i plastlådor, en för varje insamlingsplats (se figur 4 för karta över insamlingsplatser). Plastlådorna försågs med lufthål samt var fyllda med fuktigt papper, blöt jord, sallad och gurka. De förvarades därefter i 10 dagar utomhus (ca. 5-15 °C) efter första insamlingen (30 mars 2024) innan analys utfördes. Vid andra insamlingen (18 september 2024) förvarades lådorna i 3 dagar inomhus (ca. 20-23 °C).



Figur 4. Karta över insamlingsplatser av sniglar. X markerar uppfödarens bostad. De röda cirklarna är områden där sniglar samlats in. Cirkel T är uppfödarens trädgård. Cirkel V är längs bilvägen utanför bostaden. Cirkel A är en åker som hundarna promenerar över ofta. Cirkel K är vid en kyrka där hundarna ej passerar så ofta.

4.1.2 Analys av sniglar

Sniglarna (tre-fem stycken från samma insamlingsområde) analyserades gruppvis. Efter dekapitation klipptes de i 2-3 mm bitar. Digestionsvätskan innehöll 0,6 % pepsin och 0,7 % HCl. Finfördelad snigelmassa blandades sedan med 200 ml digestionsvätska under omröring vid 37-41 °C i 30 minuter. Vätskan filtrerades med kirurgisk gasväv varefter den fördelades i Falconrör (50 ml per rör). Dessa centrifugerades vid 500 G i 3 min. Sedimentet/bottensatsen sögs upp efter centrifugering och undersöktes under mikroskop för artbestämning enligt Ash (1970) och Rosen (1970). Efter morfologisk artbestämning av funna larver samlades material upp för bekräftande PCR.

4.2 Träckprov

4.2.1 Insamling av träckprov

Djurägare med hundar i området 5 km runt om uppfödarens bostad uppmanades via inlägg på sociala medier att skicka in träckprover för analys. De instruerades att skicka in 1-2 matskedar träck insamlade under tre dagar. De fick även fylla i en remiss (se bilaga 1) med djurets namn, ålder, postnummer, ev. symtom på hosta och uppgifter om senaste avmaskning.

4.2.2 Analys av träckprov

Avföringen analyserades med Baermanns trätteknik (Thienpont 1986). Avföring (3-4 msk) placerades i dubbla ark gasväv och förslöts med en träpinne varefter den placerades i en Baermanntratt fylld med ljummet vatten. Efter 24-72 h tömdes 15 cl av bottenvätskan ut i ett provrör som centrifugerades vid 1500 G i 5 min. Bottensatsen/sedimentet undersöktes under mikroskop för eventuell förekomst och artbestämning av L1-larver enligt Ash (1970) och Rosen (1970).

4.3 PCR

4.3.1 DNA extraktion

DNA extraherades från 2 x 100 µl sediment från två nematodpositiva snigeldigestioner (totalt fyra extraktioner från två digestioner). Utöver provmaterial från snigeldigestionerna användes tre positiva kontroller med *A. vasorum* (vuxen hona och larver) samt en vuxen hona av *C. vulpis*. Maskar och larver från positiva kontroller tvättades och lades i 200 µl MilliQ H₂O innan DNA extraherades Nucleospin® Tissue kit (Macherey Nagel GMBH & Co) enligt instruktion i det medföljande protokoll med ett fåtal justeringar. Efter tillsatts av proteinas K fick proverna stå 20 h i 56 °C istället för 1-3 h. Vid lyseringen fanns det fortsatt

synliga icke-nedbrutna partiklar i eppendorf-rören med material från snigel-digestionerna. Rören centrifugerades vid 10000 RPM x 5 min och supernatanten fördes över i nya rör för ytterligare extraktion. Avslutningsvis analyserades DNA kvalitet och koncentration med NanoDrop 8000 (ThermoScientific).

4.3.2 Molekylär identifikation av *A. vasorum*

DNA från isolerade larver/maskar analyserades med konventionell PCR enligt Jefferies *et al.* (2009), (2011) och Massetti *et al.* (2024). Metoden skiljer sig från de nämnda studierna genom valet av konventionell PCR. Tre olika primerpar (två specifika för *A. vasorum* I2F2-I2R2 och ett I2F10-I2R9 *C. vulpis*) användes (Tabell 3). De olika primerparen tillsattes i separata rör tillsammans med DNA-templat och en master mix med HotStarTaq® Plus DNA Master Mix Kit (Tabell 4).

Extraherat DNA späddes till en koncentration mellan 10-30 ng/μl baserat på NanoDrop (ThermoScientific)-mätningarna. Till 1 μl av det utspädda DNA:t tillsattes 9 μl master mix för respektive PCR-reaktionen. Sammanlagt 24 PCR analyser utfördes varav 8 var positiva eller negativa kontroller. DNA:t amplifierades sedan med ett program med 95 °C denaturerande temperatur i 3 min efterföljt av 40 cykler vid 95 °C i 15 s, 60 °C i 20 s och 72 °C i 40 sek samt ett avslutande steg vid 72 °C i 10 min. Programmet var ett sammantaget program från tre olika studier (Tabell 5). Efter amplifiering användes TapeStation 4150 (Agilent) med D1000 ScreenTape (Agilent) för att visualisera PCR-produkterna. Medföljande instruktioner till D1000 ScreenTape följdes. Först visualiserades enbart positiva kontroller. Där sågs det att primerparet med I2F10-I2R9 gav tydligare resultat än I2F2-I2R2 för *A. vasorum*. Därefter kördes enbart PCR-produkter med primerparen I2F10-I2R9 och CVULPISits2F- CVULPISits2R.

Tabell 3. Primers till PCR samt sekvens, storlek och referens.

Art	Primer	Sekvens 5'-3'	Storlek (bp)	Referens
<i>A. vasorum</i>	I2F2 (forward)	GCGTGTGTTTCATGTTTGGAC	180	(Jefferies <i>et al.</i> 2009)
	I2R2 (reverse)	CATTACTAGCATACAAGCACATG		
<i>A. vasorum</i>	I2F10 (forward)	CGCATGATGAAAGAATGCTG	121	(Jefferies <i>et al.</i> 2011)
	I2R9 (reverse)	GACGACGACGACAACCACT		
<i>C. vulpis</i>	CVULPISits2 F (forward)	GATAGTGTAGATCATCATTGCTA C	213	(Massetti <i>et al.</i> 2024)
	CVULPISits2 R (reverse)	CGGGTAATCACGTCTGAGCT		

Tabell 4. Volym per prov för blandning av MasterMix, primers samt vatten.

	1 prov
HotStarTaq ® Plus DNA MasterMix	5 µl
Forward Primer 10 µM	0,5 µl
Reverse Primer 10 µM	0,5 µl
tabH2O	3 µl

Tabell 5. Olika PCR-protokoll för olika primerpar från tre olika studier. Dessa studiers PCR-protokoll ligger grund för denna studiers PCR-protokoll (Jefferies et al. 2009, 2011; Massetti et al. 2024)

Primerpar:
I2F2/I2R2

Temp °C	Tid
95	15:00
40 cykler	
94	00:30
62	00:30
72	01:00
72	05:00

Primerpar:
I2F10/I2R9

Temp °C	Tid
95	10:00
45 cykler	
95	00:15
62	00:15
Ej specificerat	
72	10:00

Primerpar:
CVULPISits2F/2R

Temp °C	Tid
95	02:00
40 cykler	
95	00:15
60	01:00
Ej specificerat	
72	10:00

5. Resultat

5.1 Analys av sniglar 1

Vid första insamlingen 30 mars 2024 insamlades totalt 82 sniglar. Alla var levande vid start av analys. Från en trädgård (T) digererades 24 sniglar, från en väg (V) 30 sniglar, vid kyrkan (K) åtta sniglar och från en åker (Å) 20 sniglar. Nematodlarver påvisades inte i något prov.

Se tabell 6 för plats, antal sniglar per digestion och antal påvisade nematodlarver.

Tabell 6. Analys av sniglar 30 mars 2024 där plats för insamling (se figur 3 för karta), antal sniglar per digestion.

Plats (se figur 4 för karta)	Antal sniglar
T	5
T	5
T	5
T	5
T	4
V	10
V	10
V	5
V	5
K	4
K	4
Å	8
Å	3
Å	5
Å	4

5.2 Analys av sniglar 2

Vid andra insamlingen 18 september 2024 undersöktes 94 sniglar. Av dessa hade 90 st självdött något eller några dygn innan digestion. Från trädgården (T) digererades 20 ”självdöda” och fyra ”levande” sniglar. Totalt påvisades 28 nematodlarver med utseende som i figur 5. I samtliga prov från T påvisades nematoder. Det viktade medelvärdet för platsen T var 5,79 (95 % KI $\pm$ 0,61). Nematoderna mättes till 380-550 μ m i längd. Dessa sparades och undersöktes med PCR.

Från vägen (V) digererades 24 ”självdöda” sniglar och en nematodlarv påvisas i en digestion vilket gav ett viktat medelvärde på 0,17 (95 % KI $\pm$ 0,08) för platsen V. Även denna nematod sparades för PCR undersökning.

Från de kvarstående platserna Åker (Å) och Kyrka (K) digererades 24 respektive 22 ”självdöda” sniglar varav samtliga var negativa.

Se tabell 7 för att se plats, antal sniglar och antal påvisade nematodlarver per digestion.

Tabell 7. Analys av sniglar 18 september 2024 där plats för insamling (se figur 6 för karta), antal sniglar per digestion samt antal påvisade nematoder framgår.

Plats (se figur 4 för karta)	Antal sniglar	Antal nematodlarver
T	5 döda	3
T	5 döda	8
T	5 döda	7
T	5 döda	9
T	4 levande	1
V	5 döda	0
V	5 döda	0
V	4 döda	1
V	5 döda	0
V	5 döda	0
Å	5 döda	0
Å	4 döda	0
Å	5 döda	0
Å	5 döda	0
Å	5 döda	0
K	5 döda	0
K	5 döda	0
K	5 döda	0
K	4 döda	0
K	3 döda	0



Figur 5. Visar nematodlarv från snigel i trädgård (T). Längd mellan 380 och 550 μm .

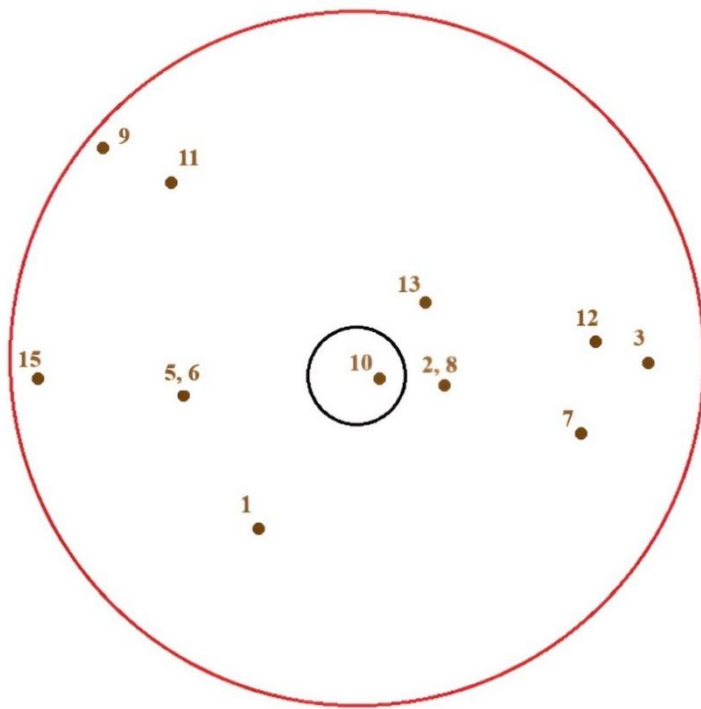
5.3 Analys av hundträck

Avföringsprov från sammanlagt 22 hundar av olika raser analyserades med Baermann-teknik i oktober 2024. Proverna kom från flatcoated retriever, hovawart, rottweiler, storpudel, dvärgpudel, strävvhårig vorsteh, cocker spaniel, american staffordshire, cane corso, pomeranian och blandras. De varierande i ålder mellan fem månader och 12 år och 55 % var hanhundar och 45 % tikar. Samtliga var negativa för *A. vasorum*. Hundarna med provnummer 16-22 (Tabell 8) var uppfödarens hundar varav 16 och 17 hade undersökts tidigare 9/1-24 och 23/2-24. De benämns i fallbeskrivningen som hund G och H. Hos 17 och 18 påvisade *C. vulpis* (Figur 8) medan hos tre hundar påvisades larver misstänkta att vara *Dictyocaulus* spp. (hund 15, 17, 19) (se figur 7) i avföringen. Uppgifter om de olika hundarna redovisas i Tabell 8.

Tabell 8. Analys av avföring via Baermanns tratteknik med information från remiss om ras, ålder, kön och bostad. Streck i ruta betyder att ägaren ej uppgav informationen.

Provnummer	Ras	Ålder	Kön	Plats på kartan (figur 5)	Resultat
1	Blandras	1 år	Tik	1	Neg
2	Flatcoated retriever	3 år	Tik	2	Neg
3	Hovawart	9 år	Hane	3	Neg
4	Rottweiler	9 år	Tik	-	Neg
5	Storpudel	2 år	Tik	5	Neg

6	Dvärgpudel	1 år	Tik	6	Neg
7	Strävhårig vorsteh	3 år	Hane	7	Neg
8	Cocker Spaniel	7 år	Tik	8	Neg
9	American staffordshire	10 år	Hane	9	Neg
10	Blandras	4 år	Hane	10	Neg
11	Blandras	12 år	Hane	11	Neg
12	Cane Corso	1 år	Tik	12	Neg
13	Flatcoated retriever	2 år	Hane	13	Neg
14	Blandras	10 år	Hane	-	Neg
15	Blandras	10 år	Hane	15	Neg (enbart 3 st misstänkt <i>Dictyocaulus</i> spp., se figur 6)
16	Pomeranian	4 år	Tik	Uppfödarens bostad	Neg
17	Pomeranian	8 år	Tik	Uppfödarens bostad	<i>Crenosoma vulpis.</i> (misstänkt <i>Dictyocaulus</i> spp., se figur 6)
18	Pomeranian	5 mån	Tik	Uppfödarens bostad	<i>Crenosoma vulpis.</i> (misstänkt <i>Dictyocaulus</i> spp., se figur 6)
19	Pomeranian	4 år	Hane	Uppfödarens bostad	Neg
20	Pomeranian	5 mån	Hane	Uppfödarens bostad	Neg
21	Pomeranian	10 år	Hane	Uppfödarens bostad	Neg
22	Pomeranian	10 år	Hane	Uppfödarens bostad	Neg



Figur 6. Karta över området där avföring samlats in ifrån. Den svarta ringen representerar figur 4 och är området för uppfödarens bostad och insamlingsområde av sniglar. De olika bruna prickarna är bostadsplats för hundar som fått sin avföring analyserad.



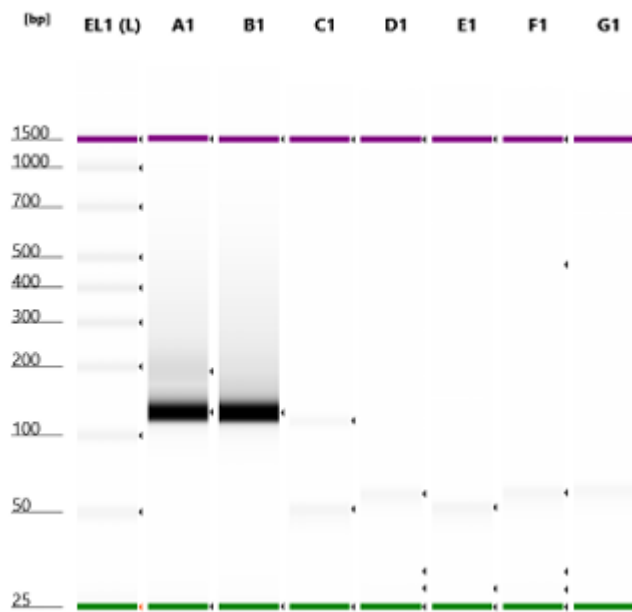
Figur 7. Misstänkt *Dictyocaulus* spp.



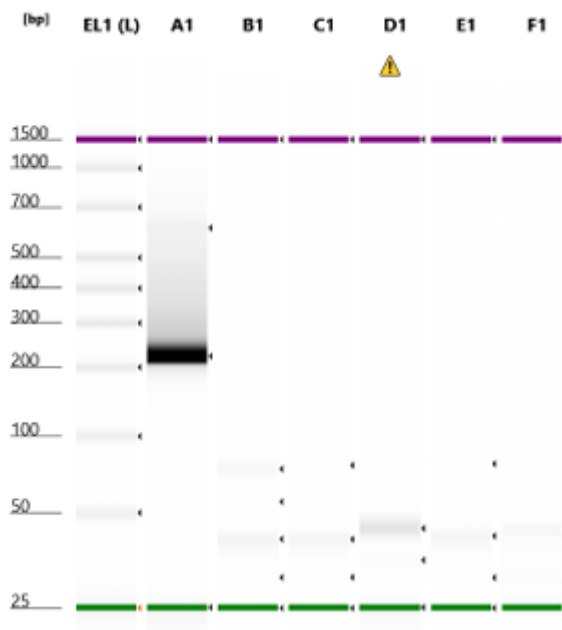
Figur 8. *Crenosoma vulpis* stadie L1.

5.4 PCR

Inget av de fyra snigelproven som analyserades med PCR var positiva varken för *A. vasorum* eller *C. vulpis*. Däremot sågs tydliga band vid ≈ 133 bp respektive 224 bp hos de positiva kontrollerna och inget band noterades med de negativa. Figur 9 visar D1000 ScreenTape (Agilent) resultat för *A. vasorum* med primerpar I2F10-I2R9 och figur 10 visar för *C. vulpis* med primerpar CVUPLISits2F-CVULPISits2R



Figur 9. PCR produkter från PCR med primerpar I2F10-I2R9 specifika för *A. vasorum* visualiserade med D1000 ScreenTape (Agilent). EL1 (L) är en elektronisk stege. A1 positiv kontroll från en vuxen hona av *A. vasorum*. B1 positiv kontroll med L1-larver av *A. vasorum*. C1 och D1 är från ett och samma snigelprov plats T. E1 och F1 är från det andra provet (även det plats T). G1 är en negativ kontroll. A1 och B1 visar på PCR-produkter vid 133 bp. C1-G1 är alla negativa.



Figur 10. PCR produkter från PCR med primerpar CVULPISits2F-CVULPISits2R specifika för *C. vulpis* visualiserade med D1000 ScreenTape (Agilent). EL1 (L) är en elektronisk stege. A1 är en positiv kontroll från en vuxen hona av *C. vulpis*. B1 och C1 är från samma prov av digrerad snigelmassa med nematoder. D1 och E1 är från det andra provet med digrerad snigelmassa med nematoder. F1 är en negativ kontroll. A1 visar på majoritet PCR-produkter vid 224 bp. B1-F1 är alla negativa.

6. Diskussion

6.1 Förekomst av nematodlarver i sniglar

Från analyserna av sniglarna plockade 18 september ses en tydligt ökad förekomst nematodlarver i uppfödarens trädgård (T). Sniglar plockade enbart ca. 100 meter bort på vägen (V) hade en betydligt lägre förekomst och ännu längre bort var förekomsten 0. Liknande visade Ferdushy *et al.* (2009) i sin studie att förekomsten av *A. vasorum* kan variera stort mellan olika platser med relativt nära avstånd. Ferdushy *et al.* (2009) misstänkte låg faunadiversitet som orsak till detta. Som tidigare nämnt var förekomsten högst på platsen trädgården (T) vilket var platsen där hundarna bodde. Där bestod en stor del av platsens fauna av uppfödarens hundar, vilket ökade misstanken om att nematoderna var av arter som uppföras av hundar. På grund av detta och den tidigare förekomst av *A. vasorum* hos hundarna var fransk hjärtmask högst upp på listan av misstänkta nematoder. Morfologiskt liknade nematoderna *A. vasorum* då längden var samma som beskrivs i litteraturen (Ash 1970; Rosen *et al.* 1970). Svansen hade dock ett mer spetsigt utseende än fingerformat som Ash (1970) beskriver att L3-stadiet ska ha. PCR visade sig sedan negativt för *A. vasorum* vid analys av två digestioner, vilket tyder på att det skulle vara nematoder av andra arter. Varken morfologin eller PCR tyder på *C. vulpis* som också hade påvisats i uppfödningen. En sekvensering av ITS-2 region varit intressant för att artbestämma de nematoder som återfanns i sniglarna.

Tydligt i denna studie var säsongsvariationen. Förekomsten av nematodlarver varierade mycket mellan provtagningen i mars och provtagningen i september. Detta stämmer överens med en studie av Aziz *et al.* (2016) i vilken man såg en stor variation i förekomst av *A. vasorum* beroende på om proven togs på sommaren och hösten. Där var förekomsten lägre på sommaren än hösten. Detta misstänkte de berodde på den ökade tiden nematodlarverna har att smitta och utveckla sig i sniglarna. I denna studie kunde som tidigare nämnts inte förekomst av *A. vasorum* bekräftas, men de påvisade nematoderna följer samma mönster. Som orsak till denna säsongsvariation diskuterade Lange *et al.* (2018) i sin artikel temperaturskillnader. Specifikt nämner de skillnaderna mellan larvernas önskade klimat med höga temperaturer och sniglarnas föredragna tempererade och fuktiga klimat. Varken sniglarnas eller larvernas föredragna klimat stämmer överens med Sveriges kalla och torra vintrar som ibland sträcker sig in i mars. Det är inte heller studerat om larverna kan överleva en övervintring i sniglar i Sverige. Sammantaget med den goda effekten av den slutliga avmaskningen skulle detta kunna förklara den icke-existerande förekomsten från första provtagningen.

Tidigare studier visar att förekomsten av *A. vasorum* hos sniglar och hundar kan variera under olika årstider, och då hundar vanligen testas positivt under vinter och våren (Morgan *et al.* 2010). Detta sammantaget med *A. vasorum*s prepatensperiod på 28-108 dagar (Moudgil *et al.* 2023) innebär att smittorisken ökar under andra halvan av kalenderåret. Avföringsproverna i denna studie analyserades enbart på hösten. Även detta kan ha bidragit till det negativa resultatet. I en utökad studie hade analyser kunnat utföras på både vår och höst för att identifiera en ev. säsongsvariation även där.

6.2 Förekomst av nematodlarver i avföring

I arbetet analyserades avföringsprov endast på hösten. Cirka 25 provtagningskit skickades ut till hundägare inom en radie av X km kring det ursprungliga fyndet, varav 22 kom i retur med träckprov och med ett godkännande om att resultatet fick publiceras. Trots det låga antalet deltagande så hade bostäderna för hundarna god spridning (se karta i figur 5). Det genomgående negativa resultatet hos de geografiskt spridda hundarna tyder i viss grad på att smittan var koncentrerad enbart till uppfödarens hundar. Detta överensstämmer med tidigare beskrivningar av endemiska fokus av *A. vasorum* (Koch & Willesen 2009). I mitt fall var fyndet begränsat till en bostad, vilket väcker frågan om det kan räknas som ett utbrott kring ett endemiskt fokus.

Samtliga hundar var negativa under hösten hos den djurägare som ursprungligen var drabbad. Detta visar att de åtgärder som vidtogs (avmaskning med Advocate®) fungerade och lett till att *A. vasorum* inte längre fanns kvar. Även det faktum att samtliga hundar som analyserades i närheten av hans bostad var negativa, tyder på att risken för ett etablerat fokus för smittan är lågt. Detta kan bero på att Sverige inte är en optimal plats för spridning av fransk hjärtmask, vilket ytterligare styrks av den låga seroprevalensen som Grandi *et al.* (2017) uppmätte samt det låga antalet anmälda indexfall i Sverige (Jordbruksverket 2012).

Samtidigt går det inte att utesluta att det negativa resultatet var en följd av att antalet undersökta prov var lågt. I en tidigare studie från 2016 (Mauritzson 2016) analyserades avföring från 88 kliniskt friska jakthundar i Skåne för endoparasiter och med fokus på *A. vasorum*. Även enligt denna undersökning var samtliga hundar negativa för parasiten. Smittan drabbar dock som tidigare nämnt inte bara domesticerade hundar utan även vilda hunddjur som exempelvis rödrev (*Canis vulpes*). I detta fall togs kontakt med lokala jägare som uppmanades att skicka in rävar som sköts/påträffades döda i området. Inskickande av rävar borde ha underlättats av en pågående kampanj med syfte att övervaka rävens dvärgbandmask,

Echinococcus multilocularis. Dessvärre inkom inga rävar för analys under tiden för denna studie.

Återigen är även begreppen endemiskt fokus och hotspot som används frekvent i detta arbete intressanta. Är detta fall något som kan falla under en sådan definition? Lessler *et al.* (2017) diskuterar i en artikel begreppet hotspot och dess olika definitioner. De föreslår flera alternativa begrepp till hotspot, exempelvis ”belastad hotspot” som är ”ett område med ökad sjukdomsincidens eller prevalens eller geografiskt kluster av fall”. ”Belastad hot spot” skulle passa in i detta fall med ökad prevalens i uppfödarens bostad under hösten 2023.

6.3 Fallet och behandlingar

Från fallbeskrivningen väcktes intresse kring effekten av insatta antiparasitära behandlingar (avmaskningar). Samtliga hundar i Skåne och Uppsala som behandlades med Milbemax® vet, Elanco Denmark (bortsett från de avlidna valparna och hund F), var fortsatt positiva för *A. vasorum* vid avslutad behandling. Däremot efter behandling med Advocate® var samtliga hundar negativa. Båda dessa läkemedel innehåller besläktade aktiva substanser tillhörande gruppen makrocycliska laktoner. Milbemax® vet, Elanco Denmark skiljer sig dock från Advocate® både vad gäller hur preparatet tillförs och i farmakokinetiska egenskaper. Milbemax® vet, Elanco Denmark administreras via tablett och når maximal plasmakoncentration efter 2-4 h och har en halveringstid på 1-4 dagar (FASS Djurläkemedel u.å.c). Detta till skillnad från Advocate® som är ett spot-on-preparat och når maximal plasmakoncentration efter 4-9 dagar och med en halveringstid på cirka 28 dagar (FASS Djurläkemedel u.å.b). Detta leder till att parasiterna exponeras under längre tid och för en högre koncentration vid användning av Advocate®.

Även preparatens indikationer skiljer sig åt. Milbemax® vet, Elanco Denmark har enligt FASS Djurläkemedel (u.å.c) som indikation ”begränsning av infektion orsakad av out-vecklade vuxna (L5) och vuxna parasitstadier”. Däremot har Advocate® två indikationer (FASS Djurläkemedel u.å.c), både ”Profylax mot angiostrongylos (larvstadiet L4 och outvecklade vuxna stadier av *Angiostrongylus vasorum*” samt ”Behandling av *Angiostrongylus vasorum*”.

Milbemycinoxim (den aktiva substansen i Milbemax® vet, Elanco Denmark) har i en studie visats vara effektivt för att avdöda *A. vasorum* vid giva en gång per månad och bedömdes ha en effektivitet på 98,8 % (Böhm *et al.* 2014). Hundarna i Skåne och Uppsala medicinerades fyra gånger med en veckas mellanrum och trots detta förekom det rikligt med larver av *A. vasorum* i avföringen. Conboy (2004) visade i en studie att protokoll med 4-gångers medicinering är det mest optimala. I den studien var 14 av 16 hundar negativa för *A. vasorum* efter det rekommenderade behandlingsprotokollet. Av de tio hundar i Uppsala och Skåne som medicinerades

nerades med Milbemax® vet, Elanco Denmark var åtta positiva efter behandling. Enbart en valp var provtagen innan insatt behandling med Milbemax® vet, Elanco Denmark. Sammantaget visar mina resultat att behandlingseffekt var utebliven. Orsaken till detta kräver ytterligare undersökning och bör utredas vidare.

I denna studie gick det ej att kontrollera eventuellt behandlingsfel (lack of compliance), till exempel utgången medicin eller felaktig dosering.

6.4 Metodologiska aspekter

Viktiga aspekter att nämna i denna studie är de metodologiska. Varken metoden för digestion eller DNA-extraktion från sniglar är rutinanalyser. I tidigare studier så som Aziz *et al.* (2016) och Lange *et al.* (2018) extraherades DNA från larver separerade från digererad snigelmassa eller direkt från 10 mg av snigelfoten. Vid extraktionen i detta arbete kunde larver ej separeras helt från snigelvävnad. Efter lysering under extraktionsprocessen bildades en geleaktig massa från kvarvarande partiklar som slängdes innan fortsatt extraktion.

Vidare så analyserades enbart två positiva digestioner med PCR. Detta på grund av begränsad tid och resurser inom ramen för detta arbete. Resultaten hade varit något mer tillförlitliga om alla prover hade analyserades med PCR.

I tidigare studier digererades sniglarna individuellt (Ferdushy *et al.* 2009; Patel *et al.* 2014), och inte som samlingsprover som i denna studie. Hur detta kan ha påverkat utfallet av undersökningen är oklart.

6.5 Konklusion

I denna studie är det tydligt att *A. vasorum* kan orsaka allvarliga kliniska symtom och att det är en viktig differentialdiagnos vid utredning av hundar med hosta. Detta tycks vara första gången i Sverige som analys av sniglar utförts med syfte att diagnosticera *A. vasorum*. Det finns fortfarande en del frågor som hade varit intressanta för framtida studier. Ett exempel på detta är en utökad analys av hunddjurens avföring i området (innefattande rävspillning/obduktion av rävar). Detta för att säkrare kunna avfärda misstanken om området runt uppfödarens bostad som högriskområde. Sett till fallbeskrivningen väcks också tankar kring den bristande behandlingseffekten hos milbemycinoxim.

Slutligen är det av stor vikt att nämna att hunddjur som kontinuerligt lever i en infekterad miljö har mycket större risk att bli infekterade jämfört med chansen vi har att påvisa infektionen hos sniglar. Detta innebär att det är viktigt att ha med angiostrongylos som differentialdiagnos vid utredning av hosta hos hund. Det kan vara bästa sättet att identifiera potentiella högriskområden. Dock för att kunna be-

kräfta en etablering av parasiten i ett visst område kan det vara aktuellt med analys av sniglar samt undersökning av rävpopulationen. I denna studie bekräftas inte en etablering av parasiten i området för det tidigare utbrottet.

Referenser

- Anderson, R.C. (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*. 2nd ed. CABI Pub.
- Ash, L.R. (1970). Diagnostic morphology of the third-stage larvae of *Angiostrongylus cantonensis*, *Angiostrongylus vasorum*, *Aelurostrongylus abstrusus*, and *Anafilaroides rostratus* (Nematoda: Metastrongyloidea). *The Journal of Parasitology*, 56 (2), 249–253
- Aziz, N.A.A., Daly, E., Allen, S., Rowson, B., Greig, C., Forman, D. & Morgan, E.R. (2016). Distribution of *Angiostrongylus vasorum* and its gastropod intermediate hosts along the rural-urban gradient in two cities in the United Kingdom, using real time PCR. *Parasites & Vectors*, 9, 56. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1338-3>
- Barçante, J.M.P., Barçante, T.A., Ribeiro, V.M., Oliveira-Junior, S.D., Dias, S.R.C., Negrão-Corrêa, D. & Lima, W.S. (2008). Cytological and parasitological analysis of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs. *Veterinary Parasitology*, 158 (1), 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.08.005>
- Barçante, T.A., Barçante, J.M. de P., Dias, S.R.C. & Lima, W. dos S. (2003). *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: emergence of third-stage larvae from infected *Biomphalaria glabrata* snails. *Parasitology Research*, 91 (6), 471–475. <https://doi.org/10.1007/s00436-003-1000-9>
- Boag, A.K., Lamb, C.R., Chapman, P.S. & Boswood, A. (2004). Radiographic findings in 16 dogs infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Record*, 154 (14), 426–430. <https://doi.org/10.1136/vr.154.14.426>
- Bolt, G., Monrad, J., Frandsen, F., Henriksen, P. & Dietz, H.H. (1993). The common frog (*Rana temporaria*) as a potential paratenic and intermediate host for *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology Research*, 79 (5), 428–430. <https://doi.org/10.1007/BF00931834>
- Bolt, G., Monrad, J., Henriksen, P., Dietz, H.H., Koch, J., Bindseil, E. & Jensen, A.L. (1992). The Fox (*Vulpes vulpes*) as a Reservoir for canine angiostrongylosis in Denmark: Field survey and experimental infections. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 33 (4), 357–362. <https://doi.org/10.1186/BF03547302>
- Brennan, S.F., McCarthy, G., McAllister, H., Bassett, H. & Jones, B.R. (2004). Clinical signs, diagnosis and treatment of three dogs with angiostrongylosis in Ireland. *Irish Veterinary Journal*, 57 (2), 103. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-57-2-103>
- Böhm, C., Schnyder, M., Thamsborg, S.M., Thompson, C.M., Trout, C., Wolken, S. & Schnitzler, B. (2014). Assessment of the combination of spinosad and milbemycin oxime in preventing the development of canine *Angiostrongylus vasorum* infections. *Veterinary Parasitology*, 199 (3), 272–277. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.10.024>

- Cesare, A.D. & Traversa, D. (2014). Canine angiostrongylosis: recent advances in diagnosis, prevention, and treatment. *Veterinary Medicine : Research and Reports*, 5, 181. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S53641>
- Conboy, G. (2004). Natural infections of *Crenosoma vulpis* and *Angiostrongylus vasorum* in dogs in Atlantic Canada and their treatment with milbemycin oxime. *Veterinary Record*, 155 (1), 16–18. <https://doi.org/10.1136/vr.155.1.16>
- Conboy, G.A. & Sykes, J.E. (2021). 117 - Nematode Infections of the Respiratory Tract. I: Sykes, J.E. (red.) *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 5 ed., W.B. Saunders. 1505–1527. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00117-8>
- FASS Djurläkemedel (u.å.a). *Interceptor vet*.
<https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20090428000076#linkindication> [2024-10-11]
- FASS Djurläkemedel (u.å.b). *Advocate® för små hundar*.
<https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20030402000067#linkindication> [2024-10-11]
- FASS Djurläkemedel (u.å.c). *Milbemax vet*.
<https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20090626000014#linkdosage> [2024-10-11]
- FASS Djurläkemedel (u.å.d). *Milpro vet*.
<https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20130425000034#linkindication> [2024-10-11]
- FASS Djurläkemedel (u.å.e). *Mektix vet*.
<https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20200803000113#linkindication> [2024-10-11]
- Ferdushy, T. & Hasan, M.T. (2010). *Angiostrongylus vasorum*: the 'French Heartworm'. *Parasitology Research*, 107 (4), 765–771. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2026-4>
- Ferdushy, T., Kapel, C.M.O., Webster, P., Al-Sabi, M.N.S. & Grønvold, J. (2009). The occurrence of *Angiostrongylus vasorum* in terrestrial slugs from forests and parks in the Copenhagen area, Denmark. *Journal of Helminthology*, 83 (4), 379–383. <https://doi.org/10.1017/S0022149X09377706>
- Gallagher, B., Brennan, S.F., Zarelli, M. & Mooney, C.T. (2012). Geographical, clinical, clinicopathological and radiographic features of canine angiostrongylosis in Irish dogs: a retrospective study. *Irish Veterinary Journal*, 65 (1), 5. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-65-5>
- Grandi, G., Lind, E.O., Schaper, R., Ågren, E. & Schnyder, M. (2017). Canine angiostrongylosis in Sweden: a nationwide seroepidemiological survey by enzyme-linked immunosorbent assays and a summary of five-year diagnostic activity (2011-2015). *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59 (1), 85. <https://doi.org/10.1186/s13028-017-0351-7>
- Guardone, L., Schnyder, M., Macchioni, F., Deplazes, P. & Magi, M. (2013). Serological detection of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and specific antibodies

- in dogs from central and northern Italy. *Veterinary Parasitology*, 192 (1), 192–198. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.10.016>
- Guilhon, J. & Cens, B. (1973). *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). Etude biologique et morphologique. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 48 (4), 567–596. <https://doi.org/10.1051/parasite/1973484567>
- Hawkins, E.C., DeNicola, D.B. & Kuehn, N.F. (1990). Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease in the dog and cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 4 (5), 267–274. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1990.tb03120.x>
- Jefferies, R., Morgan, E.R., Helm, J., Robinson, M. & Shaw, S.E. (2011). Improved detection of canine *Angiostrongylus vasorum* infection using real-time PCR and indirect ELISA. *Parasitology Research*, 109 (6), 1577–1583. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2414-4>
- Jefferies, R., Morgan, E.R. & Shaw, S.E. (2009). A SYBR green real-time PCR assay for the detection of the nematode *Angiostrongylus vasorum* in definitive and intermediate hosts. *Veterinary Parasitology*, 166 (1), 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.07.042>
- Jordbruksverket (2012). *Statistik över anmälningsskyldiga djursjukdomar*. <https://jordbruksverket.se/djur/personal-inom-djurens-halso--och-sjukvard/anmalningsskyldighet/statistik-over-anmalningsskyldiga-djursjukdomar> [2024-10-02]
- Koch, J. & Willeßen, J.L. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: An update. *The Veterinary Journal*, 179 (3), 348–359. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.11.014>
- Lange, M.K., Penagos-Tabares, F., Hirzmann, J., Failing, K., Schaper, R., Van Bourgonie, Y.R., Backeljau, T., Hermosilla, C. & Taubert, A. (2018). Prevalence of *Angiostrongylus vasorum*, *Aelurostrongylus abstrusus* and *Crenosoma vulpis* larvae in native slug populations in Germany. *Veterinary Parasitology*, 254, 120–130. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.03.011>
- Lemming, L., Jørgensen, A.C., Nielsen, L.B., Nielsen, S.T., Mejer, H., Chriél, M. & Petersen, H.H. (2020). Cardiopulmonary nematodes of wild carnivores from Denmark: Do they serve as reservoir hosts for infections in domestic animals? *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 13, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.08.001>
- Lessler, J., Azman, A.S., McKay, H.S. & Moore, S.M. (2017). What is a hotspot anyway? *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 96 (6), 1270–1273. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0427>
- Martin, M.W.S., Ashton, G., Simpson, V.R. & Neal, C. (1993). Angiostrongylosis in Cornwall: Clinical presentations of eight cases. *Journal of Small Animal Practice*, 34 (1), 20–25. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1993.tb02570.x>
- Masseti, L., Schnyder, M., Wiethoelter, A., Brianti, E., McDonagh, P., Traub, R. & Colella, V. (2024). A Taq-Man-based multiplex quantitative PCR for the simultaneous detection and quantification of *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma*

- vulpis, and species of respiratory capillarids in canids. *International Journal for Parasitology*, 54 (3–4), 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2023.12.001>
- Mauritzson, F. (2016). *Endoparasite burden in hunting dogs in the south of Sweden: with focus on Angiostrongylus vasorum*. Sveriges veterinärförbund.
- Morgan, E.R., Jefferies, R., van Otterdijk, L., McEniry, R.B., Allen, F., Bakewell, M. & Shaw, S.E. (2010). *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs: Presentation and risk factors. *Veterinary Parasitology*, 173 (3), 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.06.037>
- Morgan, E.R., Shaw, S.E., Brennan, S.F., De Waal, T.D., Jones, B.R. & Mulcahy, G. (2005). *Angiostrongylus vasorum*: a real heartbreaker. *Trends in Parasitology*, 21 (2), 49–51. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.11.006>
- Moudgil, A.D., Moudgil, P., Nehra, A.K. & Vohra, S. (2023). Chapter 7 - Parasites of the respiratory system. I: Rana, T. (red.) *Organ-Specific Parasitic Diseases of Dogs and Cats*. Academic Press. 175–204. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95352-8.00003-5>
- Patel, Z., Gill, A.C., Fox, M.T., Hermosilla, C., Backeljau, T., Breugelmans, K., Keevash, E., McEwan, C., Aghazadeh, M. & Elson-Riggins, J.G. (2014). Molecular identification of novel intermediate host species of *Angiostrongylus vasorum* in Greater London. *Parasitology Research*, 113 (12), 4363–4369. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4111-6>
- Railliet, A. & Henry, A. (1913). Contribution a l'étude des Nématodes parasites de l'oeil du chien. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire (Paris)*, 1913 (31), 209–215.
- Rosen, L., Ash, L.R. & Wallace, G.D. (1970). Life history of the canine lungworm *Angiostrongylus vasorum* (Baillet). *American Journal of Veterinary Research*, 31 (1), 131–143
- Saari, S. (2019). *Canine Parasites and Parasitic Diseases*. Academic Press, An imprint of Elsevier.
- Saeed, I., Maddox-Hyttel, C., Monrad, J. & Kapel, C.M.O. (2006). Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 139 (1), 168–179. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.02.015>
- Schnyder, M., Bilbrough, G., Hafner, C. & Schaper, R. (2017). *Angiostrongylus vasorum*, “The French Heartworm”: a Serological Survey in Dogs from France Introduced by a Brief Historical Review. *Parasitology Research*, 116 (1), 31–40. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5489-8>
- Schnyder, M., Schaper, R., Bilbrough, G., Morgan, E.R. & Deplazes, P. (2013). Seroepidemiological survey for canine angiostrongylosis in dogs from Germany and the UK using combined detection of *Angiostrongylus vasorum* antigen and specific antibodies. *Parasitology*, 140 (11), 1442–1450. <https://doi.org/10.1017/S0031182013001091>
- Schnyder, M., Tanner, I., Webster, P., Barutzki, D. & Deplazes, P. (2011). An ELISA for sensitive and specific detection of circulating antigen of *Angiostrongylus vasorum*

- in serum samples of naturally and experimentally infected dogs. *Veterinary Parasitology*, 179 (1–3), 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.01.054>
- Thienpont, D. (1986). *Diagnosing Helminthiasis by Coprological Examination*. 2. ed. Janssen Research Foundation.
- Vail, D.M., Mahler, P.A. & Soergel, S.A. (1995). Differential cell analysis and phenotypic subtyping of lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid from clinically normal dogs. <https://doi.org/10.2460/ajvr.1995.56.03.282>
- Verzberger-Epshtein, I., Markham, R.J.F., Sheppard, J.A., Stryhn, H., Whitney, H. & Conboy, G.A. (2008). Serologic detection of *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs. *Veterinary Parasitology*, 151 (1), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.09.028>
- Åblad, B., Christensson, D., Osterman Lind, E., Ågren, E. & Mörner, T. (2003). *Angiostrongylus vasorum* etablerad i Sverige. *Svensk Veterinärtidning*, 2003 (Vol. 55, 12), 11–15

Populärvetenskaplig sammanfattning

Fransk hjärtmask är en parasit som kan infektera hundar, rävar och andra hunddjur. Parasiten ger skador i lungor som gör att de drabbade djuren får hosta och problem med andningen. De kan även få andra symtom och vissa hundar dör av parasiten. Fransk hjärtmask börjar sitt liv som larv i hunddjurens avföring och för att utvecklas till en vuxen mask behöver larverna tas upp av en så kallad mellanvärd. Dessa mellanvärdar är vanligen sniglar och snäckor. Larver som utvecklats i mellanvärderna kan infektera hunddjur genom att hundarna äter infekterade sniglar och snäckor. I hunddjuren tar larverna sig genom tarmen, till kärlsystemet och vidare upp till hjärtat och lungorna där de blir vuxna maskar och lägger ägg. Denna rörelse, förflyttning och äggkläckning kommer irritera lungorna vilket triggar till en hosta. Hunddjuren kommer då att hosta upp de nykläckta larverna för att sedan svälja ned dem. När larverna sväljs kommer de följa tarmarna ut tillsammans med avföringen. Från avföringen kan sniglar och snäckor ta upp larver som sedan gör dem farliga för andra hunddjur att äta.

Sverige har haft en relativt låg förekomst av fransk hjärtmask med enstaka fall, bortsett från Kosteröarna som haft en högre förekomst av smitta. Öarna har dock varit isolerade vilket troligen minskat smittspridningen. Svenska fastlandet har därmed enbart haft sporadiska fall.

Under hösten 2023 dog tre av fyra valpar i en uppfödning från centrala Skåne. Den kvarlevande valpen testade då positivt för fransk hjärtmask. Resterande vuxna hundar i uppfödningen provtogs också för fransk hjärtmask. Åtta av tio hundar av positiva. Det fanns då en misstanke om att Sverige hade fått sin första stora smitta på fastlandet. För att undersöka detta vidare undersöktes två typer av material. Sniglar som tidigare nämnt kan agera mellanvärd undersöktes för att utvärdera smittan i miljön. Avföring från hundar boende på en 5 km radie från uppfödaren analyserades för att se eventuell vidare spridning. Sammantaget skulle detta ge en bild av området och om det är ett högriskområde för hunddjur.

Sniglarna plockades vid två olika tillfällen, en gång i mars och en gång i september. För att sedan undersöka ev. parasitförekomst användes kemikalier för att bryta ned sniglarna till så små beståndsdelar som möjligt. Sedan filtrerades beståndsdelarna så att ev. parasiter blev kvar. Detta material undersöktes sedan med mikroskop. Om parasiter återfanns så analyserades ett urval med en DNA-baserad metod för att ev. artbestämma dem som fransk hjärtmask. Avföringen analyserades även den genom filtrering för att fånga upp ev. parasiter. Sedan studerades det filtrerade materialet under mikroskop.

Resultatet från provtagningen i mars från sniglarna var negativt. Inga parasiter hittades. Vid provtagningen i september hittades 28 parasiter, specifikt i sniglarna plockad i uppfödarens trädgård, som till längden såg ut som fransk hjärtsmask. Ca. 100 m bort hittades en liknande parasit. Sniglar från provtagningsplatser längre bort än så var alla negativa för parasiter. Den DNA-baserade metoden för de funna parasiterna var negativt för fransk hjärtsmask. Alla avföringsprover var negativa.

Det som sedan återfanns intressant var det negativa DNA-resultatet samt säsongsvariationen. Viktigt att nämna är att DNA-metoden inte är en validerad metod vilket gör att resultatet inte är helt tillförlitligt. Utseendemässigt fanns det även skillnader i hur fransk hjärtsmask ser ut och hur parasiterna funna i sniglarna såg ut. Fortsatt är det intressant att sniglarna i trädgården där hundarna bor hade så hög förekomst av nematodlarver.

Vidare diskuterades även hundarnas avmaskning då alla hundar (uppfödarens) hade behandlats med avmaskningstabletter (Milbemax® vet, Elanco Denmark) men var fortsatt positiva. Avmaskningstabletterna fick då bytas ut mot ett annat preparat som droppas i nacken på hundarna (Advocate®) varefter hundarna testade negativt. En tydligt bristande behandlingseffekt kunde alltså ses vid användning av Milbemax® vet, Elanco Denmark.

Sammanfattningsvis så är inte misstanken om ett högriskområde runt uppfödarens bostad så stark som tidigare. För att säkert kunna bortkasta misstanken krävs analyser av fler avföringsprov från fler hunddjur i området, specifikt från räv då även de kan smittas och smitta.

Bilaga 1



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

VH-fakulteten
Institution för husdjurens biovetenskaper
(HBIO)

Avföringsprover för analys av fransk hjärtmask

Instruktioner för provtagning

- Samla avföring från 3 olika dagar i 3 separata plastpåsar (hundbajspåsar). Ta minst 1–2 msk avföring från varje tillfälle, totalt 3–6 msk avföring.
- Pressa ut luften från påsarna, förslut dem och märk varje påse med hundens namn och provtagningsdatum.
- Placera alla påsar i ytterligare en plastpåse och förslut och märk även denna med namn.
- Fyll i remissen nedan och placera den samt påsen med avföringsprover i det vadderade kuvertet.
- Använd samma kuvert du fick från oss för att skicka tillbaka proverna. Klistra på returetiketten som fanns i kuvertet tillsammans med den här följesedeln.

Remiss

Postnummer:		Provtagningsdatum:	
Hundens namn:	Ras:	Ålder:	Kön:

Ytterligare frågor

Uppvisar hunden hosta? Om ja, hur länge har hunden uppvisat hosta?

När avmaskades hunden senast? Vilket preparat användes (exv. ~~Milbemax~~ Droncit osv.)?
Okej att skriva vet ej på båda frågor.

Kontaktuppgifter för att ta del av provresultat

Djurägarens e-postadress:

☐ Jag godkänner att provresultatet publiceras i examensarbetet postnummervis (ej med namn på vare sig djurägare eller hunden)
Tack för hjälpen! Har du frågor omkring mitt studentprojekt eller omkring fransk hjärtmask kan du kontakta mig via e-post (jeon0014@stud.slu.se).

Tack!

Ett stort tack till alla djurägare för ert deltagande och engagemang i denna studie. Även ett speciellt tack till uppfödaren i Skåne och djurägaren i Uppsala, er hjälp har varit stor.

Jag vill även tacka mina handledare Giulio Grandi och Eva Osterman-Lind för all hjälp med planering, laborationer och skrivande. Vidare vill jag även tacka personalen på parasitologen på SVA för eran hjälp under laborationerna.

Slutligen vill jag tacka mina kära vänner och min sambo för all hjälp och stöttning under arbetets gång.

Publicering och arkivering

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. Du hittar en länk till SLU:s publiceringsavtal på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>

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

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