



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

NMBU Veterinærhøgskolen
Institutt for produksjonsdyrmedisin
Seksjon for småfeforskning og husdyrhelse

Fordypningsoppgave 2022

Produksjonsdyr og mattrygghet

***Haemonchus contortus* i utvalgte sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø; hvor vanlig er F200Y-mutasjonen?**

Haemonchus contortus in selected sheep flocks in Upper Telemark and Bø; how common is the F200Y-mutation?

Frida Egner og Tora G. Veum
Kull 2016

Veiledere Snorre Stuen, Lucy Robertson og Ian Woolsey

Innholdsfortegnelse

Forord	3
Definisjoner og forkortelser	5
Innledning.....	6
Bakgrunn for studiet.....	6
<i>Haemonchus contortus</i>	7
Formål	24
Material og metoder	25
Studieutvalg.....	25
Innsamling og spørreundersøkelse	26
Laboratoriemetoder	28
Statistiske metoder	31
Resultater.....	32
Besetnings- og innsamlingsdata	32
Tilstedeværelse av <i>H. contortus</i>	35
Tilstedeværelse av F200Y hos <i>H. contortus</i>	39
Diskusjon.....	40
Tilstedeværelse av <i>H. contortus</i>	40
Tilstedeværelse av F200Y hos <i>H. contortus</i>	44
Variabler.....	47
Begrensninger ved studien	48
Konklusjon	52
Takk til bidragsytere.....	53
Summary	54
Referanser.....	55
Vedlegg	64

Forord

Ved valg av fordypningsoppgave ønsket vi først og fremst en oppgave som innebar praktisk arbeid og innsamling av fysisk materiale som skulle analyseres. I andre rekke ønsket vi oss en oppgave som var relevant for vår fremtidige jobb som produksjonsdyr-praktikere. Oppgaven om *Haemonchus contortus* ble et naturlig valg for oss. Vi er begge fra områder hvor en ser en økende forekomst av *H. contortus* i tillegg til at det stadig rapporteres om redusert effekt av antiparasittære midler ved behandling mot nematoder. Vi hadde allerede praktisk erfaring med haemonchose, og ønsket å fordype oss videre på dette området. Vi fikk ta utgangspunkt i besetninger fra Øvre Telemark, Toras hjemdistrikt, noe som gjorde oppgaven enda mer passende og interessant.

Sammendrag

Tittel: *Haemonchus contortus* i utvalgte sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø; hvor vanlig er F200Y-mutasjonen?

Forfattere: Frida Egner og Tora Veum

Veiledere: Snorre Stuen, Institutt for produksjonsdyrmedisin; Lucy Robertson og Ian Woolsey, Institutt for parakliniske fag.

Anthelmintikaresistens hos rundorm er sett i økende grad verden over, inkludert i Norge. Den blodsugende løpeormen, *Haemonchus contortus*, er svært utbredt og en viktig årsak til klinisk sykdom og produksjonstap. Parasitten tilegnes utmerkede egenskaper for resistensutvikling, og fordi vi har et begrenset antall medikamenter med aktuell indikasjon og brukstillatelse, utgjør resistensutviklingen en stor trussel. Dette er et viktig tema som vi i Norge trenger mer kunnskap om. I dette studiet benyttes McMaster eggteiling og droplet digital PCR (ddPCR) for å påvise forekomst av *H. contortus* i innsamlede avføringsprøver fra 16 utvalgte sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø. Videre benyttes ddPCR for å kartlegge tilstedeværelse av F200Y-mutasjonen i isotype-1-beta-tubulingenet assosiert med benzimidazol-resistens (BZ-R) hos *H. contortus*. *H. contortus* ble påvist hos 15 av 16 besetninger med signifikante forskjeller i egg per gram avføring (epg) mellom besetningene i området ($p=0,0002$). Epg *H. contortus* var signifikant høyere hos besetningene <450 moh. ($p=0,0047$), og prosentandelen *H. contortus* utgjorde av totalt strongylideegg var høyere om våren enn om høsten ($p=0,028$). F200Y-mutasjonen ble detektert hos gjennomsnittlig 99,25% av *H. contortus* i prøvene ($p=<0,0001$). Den høye frekvensen av F200Y-mutasjonen kan tyde på et høyt potensial for fenotypisk resistensutvikling i dette området, men videre undersøkelser er nødvendig.

Definisjoner og forkortelser

Bioaktive substanser	Forbindelse som har effekt på levende organismer, i dette tilfellet plantesubstanser med antiparasittær effekt
BZ	Benzimidazol
BZ-R	Benzimidazol-resistens
ddPCR	Droplet digital PCR
Dose-and-move	Skifte til rent beite etter antiparasittær behandling
EHT	Egg hatch test
Fenologi	Hvordan vær og klima påvirker organismers periodiske livssyklus
Fenotypisk resistens	Uttrykt resistens; redusert effekt av anthelmintika
GIN	Gastrointestinale nematoder
Haemonchose	Klinisk sykdom grunnet <i>Haemonchus contortus</i>
Hypobiose	Hvilefase under utvikling
<i>In refugia</i>	Delen av parasittpopulasjonen som ikke er utsatt for anthelmintika
<i>In vitro</i>	Forsøk utført i laboratoriet / utenfor organismen
<i>In vivo</i>	Forsøk utført i levende organismer
IVM	Ivermectin
Kjernebehandling	Behandlingsregime anbefalt av Animalia under norske forhold
Mikrotubuli	Rørformede proteinstrukturer i celleskjelettet
Ovipar	Hunnene legger egg som forlater verten uten å klekke
SNP	Singel nukleotid polymorfisme
«Spring rise»	Økning i eggutskillelse i perioden rundt lamming som følge av redusert immunforsvar hos søya, med påfølgende oppvåkning av hypobiotiske larver

Innledning

Bakgrunn for studiet

H. contortus, “sauens løpeorm”, er svært utbredt og en viktig årsak til klinisk sykdom og produksjonstap hos sau (Besier et al., 2016). Dette er tilfelle både på verdensbasis (Falzon et al., 2014) og i Norge, hvor parasitten særlig har vært problematisk på lavlandsbeiter (skogsbeiter) sør i landet (Animalia, 2021a).

H. contortus overvintrer ikke i betydelig grad på beitet, men som hypobiotiske larver i sauene (Troell et al., 2005). Dyra smitter ut beiten ved utslipp om våren og smittepresset øker normalt gjennom beitesesongen (Abbott et al., 2007; Arsenopoulos et al., 2021; Sargison et al., 2007). Mot høsten og vinteren går larvene igjen i hypobiose. Hvilke faktorer som spiller inn og når dette forekommer er enda uvisst. Hypobiosen utgjør en betydelig utfordring når det gjelder å treffe optimalt behandlingstidspunkt (Arsenopoulos et al., 2021), da det mistenkes at parasittmidlene som brukes i Norge har begrenset/ingen effekt på de hypobiotiske larvene. Oppdatert kunnskap om dette er viktig for sauenæringa både med tanke på dyrevelferd, miljø og økonomi.

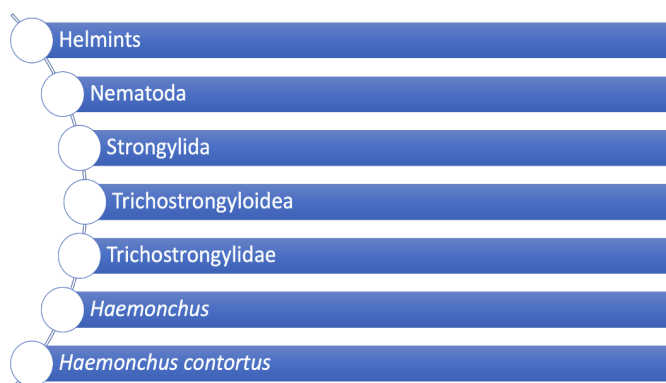
Bønder er avhengig av medikamentell behandling med anthelmintika for å holde smittepresset nede, samt unngå direkte og indirekte produksjonstap. Anthelmintika-resistens har økt drastisk i prevalens og omfang de siste tiårene og utgjør en stor utfordring på verdensbasis (Kaplan & Vidyashankar, 2012). I Norge har vi lenge vært skånet for dette med god effekt av de antiparasittære midlene vi har, men etter 2012 har det skjedd flere påvisninger av resistens også her i landet (Domke et al., 2012; Odden et al., 2019). Denne utviklingen gir grunn til bekymring. Med tanke på det begrensede utvalget vi har av preparater med korrekt indikasjon og tillatelse, er det svært viktig å kartlegge resistensutbredelsen nærmere.

Inntrykket vi har fått fra bøndene i denne studien er at forekomsten av haemonchose er økende i området. Flere og flere bønder har de siste årene erfart klinisk sykdom for første gang, eller blitt mer vant til å håndtere sykdommen som har etablert seg i besetningen deres (Veum, 2021). Den økte prevalensen i dette området er ikke godt nok dokumentert i form av studier, men lokale veterinærer har hatt mistanke om resistens i flere av besetningene (Veum, 2021). Det faktum at flere og flere besetninger opplever problemer knyttet til parasitten gjør vår studie svært aktuelt i Øvre Telemark.

Haemonchus contortus

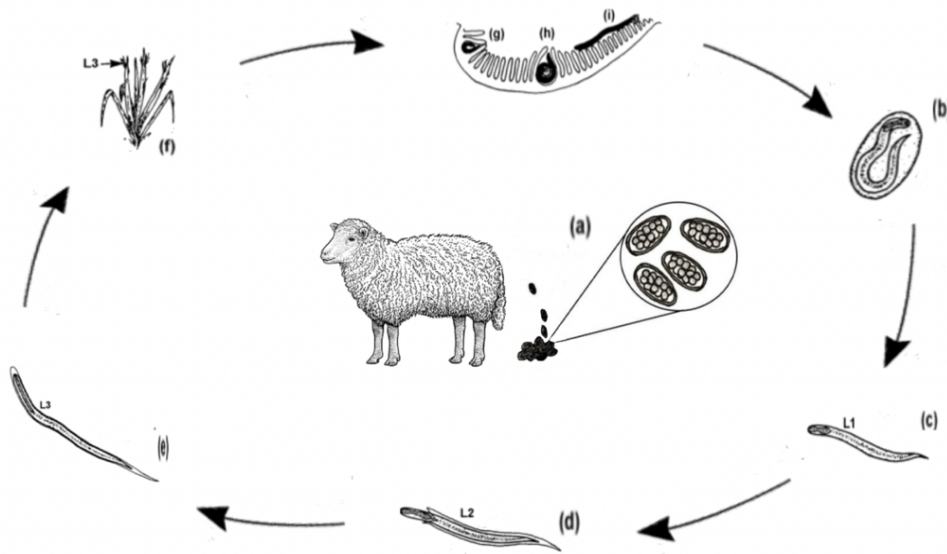
Taksonomi/klassifisering/utseende

H. contortus er en parasitt i rekken Nematelminthes, under klassen nematoder (se figur 1). Parasitten blir ofte kalt “blodsugende løpeorm”, da det er unge og voksne ormer som suger blod i løpen hos småfe hovedsakelig (Arsenopoulos et al., 2021), men også hos storfe (Delano et al., 2002). *H. contortus* tilhører ordenen Strongylida og danner tynnskallede og fargeløse egg, som embryoneres i det fri (Gjerde, 2011). Familien, Trichostrongylidae, innehar ovipare ormer med en direkte livssyklus. Videre tilhører *H. contortus* slekten *Haemonchus*. Larvene av *H. contortus* er større enn de andre nematode-larvene som finnes i løpen hos småfe, og har en munnkapsel med lansett som brukes til å sugе blod (Gjerde, 2011).



Figur 1. Taksonomi: rekke, klasse, orden, overfamilie, familie, slekt og art.

Livssyklus



Figur 2. Utviklingsstadiene til *H. contortus*. (a) Ikke-embryonert egg skilles ut med feces. (b) L1 utvikles inne i egget. (c) L1 klekkes og utvikler seg via L2 (d) til infektive L3 (e). (f) L3 vandrer fra feces over til gress og smitter beitende dyr. (g) L3 utvikler seg via L4 (h) til voksne ormer (i) i løpen. Søya skiller så ut nye egg. Modifisert figur: (Gjerde, 2011).

Egg på morulastadiet blir skilt ut av verten med feces, og embryonerer i det fri (se figur 2). Embryoneringen krever fuktighet (O'Connor et al., 2007) og en temperatur over 10°C (O'Connor et al., 2006). Ved gode forhold kan embryoneringen ta under ett døgn, mens ved lave temperaturer går utviklingen saktere, og kan ta flere uker (O'Connor et al., 2006). L1 klekkes fra egget, og begynner å ta til seg føde; hovedsakelig bakterier fra feces (Gjerde, 2011). Deretter vil L1 bli inaktiv og foreta hudskifte til L2. L2 vil så ta til seg føde, og utvikles til infektive L3 (Abbott et al., 2007). Utviklingen til L3 er sterk avhengig av temperatur. O'Connor konkluderte i 2006 (O'Connor et al., 2006) med at *H. contortus* kan utvikles når temperaturen er mellom 10°C og 40°C, men at optimumstemperaturen er mellom 25°C og 37°C. En rekke andre studier har blitt gjennomført for å undersøke hvilke forhold som må være tilstede for at egg av *H. contortus* skal utvikles til infektive L3. McRea konkluderte i 2014 (McRae et al., 2014) med at utviklingen krever minst 18°C og 50 mm

regn, mens Rossanigo og Gruner konkluderte i 1995 (Rossanigo & Gruner, 1995) med at ingen utvikling forekommer under 9°C. Fellesnevnerne for samtlige studier er at parasitten trives best i fuktige og varme omgivelser. En svensk studie fra 2004 (Waller et al., 2004) viste at *H. contortus* forekommer i kaldere klimaer, utover miljøforholdene beskrevet i referansene ovenfor. Ved optimal temperatur vil utviklingen fra egg til L3 fullføres i løpet av fire dager (O'Connor et al., 2006). Ved lave temperaturer vil utviklingen stoppe; minimumstemperaturen for utvikling til L3 varierer mellom isolater fra ulike geografiske områder (Emery et al., 2016).

Verten blir smittet peroralt med L3 i beitegress, som ved høy temperatur og fukt, har vandret fra feces til gresstrå. L3 oppsøker ikke aktivt gresstrå, men vandrer rundt på bakken og treffer gresstråene tilfeldig (Santos et al., 2012). Larvene som blir liggende øverst i jordsmonnet vil fungere som et reservoar for smitte hele sommeren (Gjerde, 2011). I vertens løpe mister L3 sin ytre kutikula, og trenger så ned i kjertlene i slimhinnen. L3 vokser og skifter hud til L4. L4 vokser og utvikler seg i slimhinnen, og vender så tilbake til slimhinneoverflaten, hvor de blir kjønnsmodne L5 (Gjerde, 2011).

Forskning fra Sverige viser at *H. contortus* kan overvintre på beitet, men at graden av overvintring ikke er av praktisk betydning for overføring av smitte mellom beitesesonger under nordiske forhold (Troell et al., 2005). Parasitten overlever, som tidligere nevnt, som hypobiotiske L4 i verten (O'Connor et al., 2006; Troell et al., 2005).

De hypobiotiske larvene fortsetter sin utvikling om våren, samtidig med lamming og laktasjon (Höglund et al., 2021). Høydrektige og lakterende søyer vil ha nedsatt immunrespons (Beasley et al., 2010); dette påvirkes av søyenes genotype og rase (Courtney et al., 1984;

Egner og Veum – *H. contortus* hos sau i utvalgte besetninger i Øvre Telemark og Bø

Rocha et al., 2004; Williams et al., 2010), kullstørrelse (Höglund et al., 2021), laktasjonsstadiet og næringstilførsel (Beasley et al., 2010). Egg-tallet i avføringen vil stige betraktelig; fenomenet kalles "spring rise". «Spring rise» starter 2-4 uker før lamming og varer i ca. 6-8 uker (Animalia, 2012). Etter denne perioden reduseres egg-tallet til de nivåene som var før immunitetsnedsettelsen. Mekanismen varierer i styrke mellom individer og flokker, og er mindre uttalt hos søyer med ett lam enn hos søyer med flere lam (Animalia, 2012).

Forekomst

H. contortus er spesielt utbredt i tropiske og subtropiske klimasoner (O'Connor et al., 2007). Klimatiske forhold som temperatur, nedbør og sesong, sammen med management, ansees som hovedfaktorer for forekomsten av *H. contortus* (Rinaldi et al., 2015). I Norge er parasitten sagt til hovedsakelig gi problemer hos sau på lavslandsbeiter i Sør-Norge, spesielt i nedbørsrike områder (Veterinærinstituttet, u.å.-a). Det er også bekreftet funn av egg (McMaster) fra *H. contortus* hos lam i Innlandet og i Nord-Norge (Domke et al., 2013).

Klimaendringene har ført til endringer i fenologi og distribusjon av virvelløse dyr over hele verden (Rose et al., 2016). En studie på hvordan klimaendringene påvirker forekomsten av *H. contortus* hos sau i Europa simulerte en fremtidig økning i smittepresset i Nord-Europa (Rose et al., 2016). Uten vellykkede kontrollmetoder vil dermed insidensen av haemonchose sannsynlig øke med tiden.

H. contortus er i all hovedsak en parasitt hos småfe, men infestasjoner kan også forekomme hos storfe (*Bos taurus*) (Delano et al., 2002). Det finnes lite ny forskning på forekomsten av *H. contortus*, og gastrointestinale nematoder (GIN) generelt, hos storfe i Norge. Storfe har

dog en bedre immunitetsutvikling mot *H. contortus* enn småfe (Craig, 2009). Det er også lite ny forskning på forekomsten av parasitten hos geit (*Capra hircus*). Egg av *H. contortus* er påvist i avføring fra geit på kysten, men det ble ikke funnet voksne ormer ved obduksjon av geiter fra det samme området (Domke et al., 2013). En vet per i dag at kamelider (*Camelidae*) er mottakelig for mange av de samme gastrointestinale parasittene som småfe, blant annet *H. contortus* (Veterinærinstituttet, u.å.-b). I Sverige er det funnet *H. contortus* hos importert alpakka som var resistent mot flere parasittmidler (Hektoen, 2015).

H. contortus har blitt påvist hos flere ville drøvtyggere, noe som kan tyde på lav vertsspesifisitet. I alpene fant de at parasitten var til stede hos artene rådyr (*Capreolus capreolus*), gemse (*Rupicapra r. rupicapra*), alpesteinbukke (*Capra ibex ibex*), domestisk geit (*Capra hircus*) og sau (*Ovis aries*) (Cerutti et al., 2010). I 2018 ble det påvist 62% positive avføringsprøver for Strongylide-egg hos reinsdyr (*Rangifer tarandus*) i Nord-Norge, men det ble ikke undersøkt om *H. contortus* var til stede i prøvene (Idland et al., 2021). Forekomsten av *H. contortus* hos rådyr har blitt undersøkt i Ukraina og Tyrkia, hvor begge land fant en relativt høy forekomst av parasitten (Bolukbas et al., 2012; Kuzmina et al., 2010). En regner per i dag ikke med at hjortevilt er av betydning for utsmittning av småfe-beiter, men dette har ikke blitt undersøkt i Norge.

Kliniske sykdomsbilder

De kliniske symptomene ved haemonchose forårsakes i all hovedsak av larvenes blodsuging (Arsenopoulos et al., 2021). L4 og L5 kan suge opptil 30-50 µl blod per orm per dag, noe som kan føre til klinisk manifestasjon av anemi 10-12 dager etter infeksjon (Arsenopoulos et al., 2021). Det er estimert at en sau med 1000 blodsugende *H. contortus* kan miste så mye som 50 ml blod i løpet av et døgn (Arsenopoulos et al., 2021).

Graden av infeksjon, kombinert med responsen til immunforsvaret, vil avgjøre symptombildet hos det enkelte individ. En skiller mellom perakutt, akutt og kronisk haemonchose (Arsenopoulos et al., 2021). Perakutt infeksjon forekommer ved svært høy infeksjonsbyrde, og fører til alvorlig anemi og hemorrhagisk abomasitt; i slike tilfeller kan affiserte individer dø uten forutgående symptomer (Arsenopoulos et al., 2021). Akutt haemonchose forekommer ved høy infeksjonsbyrde, og rammer ofte søyer rundt lamming grunnet fenomenet “spring rise” (Animalia, 2020a) eller lam på sensommer/høst ved høyt smittepress på sommerbeite (Abbott et al., 2007). Symptombildet forårsakes av anemi og påfølgende hypoproteinemi.

Klinisk ses letargi, bleke slimhinner, ødemer og melena (se figur 3 og 4) (Arsenopoulos et al., 2021). Kronisk haemonchose forekommer ofte ved et lavere smittepress og gir et protraisert forløp. Klinisk ses redusert melkeproduksjon, redusert tilvekst og redusert ullproduksjon (Arsenopoulos et al., 2021). Haemonchose gir som regel mørk og fast avføring, men kan i sjeldne tilfeller gi diare (Delano et al., 2002). Diaré er mer sannsynlig forårsaket av samtidig infeksjon med andre gastrointestinale nematoder (Arsenopoulos et al., 2021).



Figur 3. Submandibulært ødem.
Foto: Oddvar Helle, Norges Veterinærhøgskole.



Figur 4. Bleike øyeslimhinner.
Foto: Åshild Ø- Våge.

Immunitetsutvikling

Det er vist at ulike saueraser har ulik evne til å utvikle immunitet mot løpeorm (Albuquerque et al., 2019). Lam begynner immunitetsutvikling ved 4-5 måneders alder, og oppnår gradvis immunitet frem til 2 års alderen, når maksimal immunitet vil være oppnådd (Abbott et al.,

2007). Dette innebærer at lam er svært mottakelige for smitte og utvikling av sykdom hele den første beitesesongen (Brik et al., 2019). Immunitetsutviklingen forutsetter at dyrene får i seg en tilstrekkelig mengde parasitter, med høye inntak av infektive L3. Tidligere ueksponeerte, eldre søyer vil også bruke lang tid (ca. 7 uker) på å utvikle effektive immunreaksjoner ved eksponering (Gjerde, 2011). Også hos immune dyr vil infektive L3 kunne etablere seg i løpen og forårsake sykdom og spredning av egg (Emery et al., 2016).

Etablering av larver vil være direkte proporsjonal med smitteopptaket, mens utstøting av L4/L5 varierer med smittepresset (Gjerde, 2011). En stadig stigende prosentdel av de etablerte ormene blir utstøtt med stigende larveinntak. Hos immune dyr vil et massivt opptak av L3 over et kort tidsrom kunne føre til at hele populasjonen av voksne ormer, og til dels også larvene, blir støtt ut. Fenomenet kalles “self cure”, og i sammenheng med denne utstøtningen kan dyrene få diare (Gjerde, 2011).

Differensialdiagnoser

Tabell 1. Differensialdiagnoser til haemonchose.

Perakutt/akutt haemonchose	Kronisk haemonchose (voksne)	Kronisk haemonchose (yngre)
- <i>Fasciola hepatica</i> -Store blodtap	- <i>Fasciola hepatica</i> -Gastrointestinale nematoder -Dårlig fôr/beite -Paratuberkulose	- <i>Fasciola hepatica</i> -Koboltmangel -Gastrointestinale nematoder -Dårlig fôr/beite

Fordi kronisk haemonchose ofte har diffuse symptomer som redusert allmenntilstand, avmagring, redusert tilvekst, redusert melkeproduksjon og anemi, er det mange aktuelle differensialdiagnoser (se tabell 1). Vurdering av blant annet antall affiserte individer, lokal

epidemiologi, tidspunkt på året og besetningens management er nødvendig for å differensiere mellom de ulike årsakene til sykdom.

Fasciolose, forårsaket av *Fasciola hepatica* (den store leverikteren), er en svært aktuell differensialdiagnose til haemonchose. Akutt fasciolose opptrer på seinhøsten og vises ved bleike slimhinner, letargi, dyspné, buksmerter og eventuelt død (Fiss et al., 2013). Dette er en svært aktuell differensialdiagnose til akutt haemonchose på senhøsten ved sterkt utsmittede beiter. Kronisk fasciolose opptrer på seinvinteren/våren og vises ved letargi, avmagring, eventuelt redusert melkeproduksjon, anemi, hypoalbuminemi og påfølgende ødemdannelse (Animalia, 2021c). Denne formen er en aktuell differensialdiagnose til akutt haemonchose hos søyer rundt lamming.

Mineralmangel, som koboltmangel, kan gi anemi, redusert tilvekst og redusert allmenntilstand, og er derfor en aktuell differensialdiagnose til haemonchose (Constable et al., 2017). Dårlig fôr/beiteforhold kan føre til underernæring og kan også være årsak til lignende symptomer (Arsenopoulos et al., 2021). Paratublerkulose kan gi avmagring som eneste kliniske symptom, og er derfor er annen aktuell differensialdiagnose (Constable et al., 2017). Andre aktuelle differensialdiagnoser er infeksjon med andre gastrointestinale nematoder, dette med tanke på avmagring.

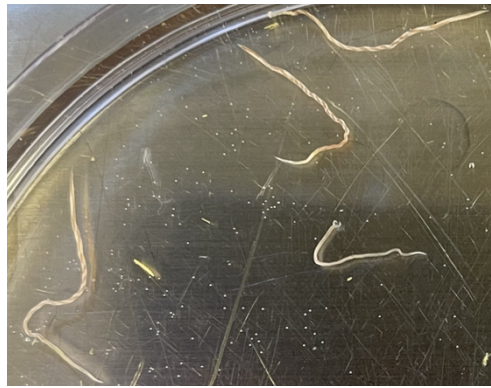
Patologi

Ved obduksjon av dyr som dør av haemonchose vil en finne et blekt kadaver med ødemer. Løpeslimhinnen kan være hyperemisk med petekkier, fortykket og ødematøs, og inneha knuter (Arsenopoulos et al., 2021). Innholdet i løpen og bakover i tarmen vil være mørkt/svart

grunnet blodtilblanding. I løpeinnholdet og på slimhinnen vil en kunne finne 2-3 cm lange ormer (se figur 5 og 6), med røde striper (Animalia, 2020a).



Figur 5. *H. contortus* i løpeinnhold.
Foto: Tor Olav Blekenberg.



Figur 6. *H. contortus* på petriskål.
Foto: Frida Egner.

Forebyggende tiltak

I teorien bør det være enkelt å bekjempe *H. contortus* fordi den ikke overvintrer på beitet i betydelig grad. Dermed kan en bli kvitt parasitten ved å behandle livdyr slik at de ikke sprer smitte ved utslipp om våren (Kho et al., 2020). I praksis har dette vist seg å være vanskelig. En av årsakene til dette kan være redusert behandlingseffekt på hypobiotiske larver (Kultscher et al., 2019). I tillegg er *H. contortus* en stor eggprodusent som medfører at et relativt lavt larvetall trengs for å holde smitten gående (Kho et al., 2020). De forebyggende tiltakene baserer seg likevel på å holde et lavt smittepress på hjemmebeite, da mesteparten av smitteopptaket vanligvis skjer her (Animalia, 2020a). I tillegg er tiltak for å styrke sauenes motstandskraft (som f.eks. fôring og avl) essensielt.

Beitetiltak

Strategisk beitebruk for å forhindre at smittepresset bygger seg opp gjennom beitesesongen er essensielt (Arsenopoulos et al., 2021). Nok beiteareal, beiterotasjon, og at arealer som blir beitet flere ganger samme sesong slås eller pusses før neste beiteperiode, er trolig de viktigste

Egner og Veum – *H. contortus* hos sau i utvalgte besetninger i Øvre Telemark og Bø

beitetiltakene (Arsenopoulos et al., 2021; Sayers & Sweeney, 2005). Utsmittede vår- og sommerbeiter bør helst ikke brukes som høstbeiter.

Fôring/management

Friske dyr i godt hold med optimal fôring er generelt mer motstandsdyktige mot parasitter (Arsenopoulos et al., 2021). Forskning har vist at proteintilgangen er av spesiell betydning for motstandskraften mot rundorm, inkludert *H. contortus* (Hosseini et al., 2012; Khan et al., 2017; Steel, 2003). Godt stell og fôring er derfor essensielt for å forebygge sykdom forårsaket av parasittinfeksjoner. Eventuelle mangler bør utredes ved forekomst av klinisk sykdom.

Ekstra fokus på fôringen mot slutten av drektighetsperioden anbefales for at søyene skal klare å bære fram foster, være forberedt på overgangen til laktasjon samt holde seg selv friske og i størst mulig grad parasittfrie (Animalia, 2020a).

Mange organismer, som bakterier og planter, inneholder bioaktive substanser (Patil et al., 2009). Noen av disse er godt karakteriserte og testet under kontrollerte forhold, og har vært utgangspunkt for utvikling av legemidler. Eksempelvis stammer avermektinene, som har effekt mot GIN, fra en jordbakterie (Ōmura & Shiomi, 2007). Det er også pågående forskning for å avdekke planter som kan inneholde substanser med antiparasittære egenskaper. Mot *H. contortus* har for eksempel bjørnebær (*Rubus plicatus*) vist antiparasittære egenskaper *in vitro* (Akkari et al., 2016), *Mitragyna inermis* har vist antiparasittær effekt *in vivo* (Alowanou et al., 2019) og *Spigelia anthelmia* har vist god effekt mot eggklekking *in vitro* (Araújo et al., 2017). Ingen av produktene er etter vår kjennskap kommersielt tilgjengelige.

Genetikk

Som tidligere beskrevet kan det være individuelle variasjoner i immunitet mot rundorm hos sau, som resulterer i at enkeltdyr kan opptre som gjengangere ved *Haemonchus*-problemer (Arsenopoulos et al., 2021). Et studie på nematoder hos sau konkluderte med at 80% av egg-tallet ble detektert i 20-30% av dyrene, mens majoriteten av dyrene kun hadde en lav parasittbyrde (Sréter et al., 1994). Det er derfor viktig at bøndene holder oversikt over hvilke dyr som blir syke slik at gjengangere og deres avkom kan utrangeres.

Behandling

Anbefalinger for håndtering av parasitter hos sau

Animalia publiserte i 2021 oppdaterte anbefalinger for antiparasittær behandling av sau i Norge (2021b). Anbefalingene baserer seg på to ulike behandlingsopplegg; kjernebehandling og tilleggsbehandling, med målsetning om å holde en så høy parasittpopulasjon som mulig *in refugia* (Arsenopoulos et al., 2021; Torres-Acosta & Hoste, 2008). Ved å ha en stor andel larver som ikke er eksponerte for parasittmiddel (*in refugia*) vil man kunne bremse utviklingen av anthelmintikaresistens (Muchiut et al., 2018). Kjernebehandling baserer seg på administrering av anthelmintika til alle dyrene i besetningen til spesifikke tider i løpet av året (Torres-Acosta & Hoste, 2008), mens tilleggsbehandlingen baserer seg på ekstra behandlinger av utvalgte individer med høyere parasittbelastning (Sréter et al., 1994) og kun behandling av de enkeltindividene som trenger det (van Wyk et al., 2006).

Kjernebehandlingen anbefalt av Animalia under norske forhold (se tabell 2) er nødvendig i de fleste sauebesetninger for å forhindre sykdom og redusert produksjon grunnet rundorm

Egner og Veum – *H. contortus* hos sau i utvalgte besetninger i Øvre Telemark og Bø

(Animalia, 2020). Behovet for behandling bør imidlertid alltid undersøkes for å unngå unødvendig bruk av anthelmintika.

For best mulig behandlingseffekt ved kjernebehandlingen om høsten er det viktig å behandle før larvene går i hypobiose. Parasittmidlene som brukes i Norge har mistenkt dårligere effekt på hypobiotiske larver enn andre larvestadier. Den foreslåtte årsaken til sistnevnte er redusert stoffskifte hos larvene (Sargison et al., 2007). Noen besetninger i vår studie sier de opplever bedre effekt av å behandle søyene rundt lamming enn om høsten. Dette er ikke godt dokumentert, men kan ha sammenheng med at behandlingen ved innsett utføres etter *H. contortus* har gått i hypobiose. Det finnes dog ingen forskning, etter det vi kjenner til, som viser at behandling ved «spring rise» er bedre enn behandling ved innsett.

For tidlig behandling om høsten er heller ikke ideelt fordi dyra kan ta opp ny smitte fra miljøet i etterkant av behandling. Derfor sier anbefalingene til Animalia at høstbehandlingen skal gjøres etter innsett, eventuelt etter frosten har kommet for dyr som går ute gjennom vinteren (2021b).

Tabell 2. Oversikt over anbefalt kjernebehandling (*Animalia*, 2020) i Norge.

Når	Ulike alternativer	Hvem	Hvorfor
Høst	Før paring. Etter innsett, eventuelt etter frosten dersom helårs utegang. Rundt lamming påfølgende vår («spring rise»).	Vanligvis nødvendig å behandle alle livdyr. Dersom lavt smittepress kan det være tilstrekkelig å behandle påsettlam, gimrer og tynne voksne søyer.	For å redusere utsmittning av beitene neste vår (spring rise) og for at dyrene skal slippe belastningen ved å gå med rundorm gjennom drektighetsperioden.
Vår	Bruk av utmarksbeite: behandling ved utslipp utmarksbeite. Innmarksbeite hele sommeren: behandling ca. 3-5 uker etter utslipp på vårbeite, samt vurdere beiteskifte i forbindelse med behandlingen. Helårs utegang: behandling i forbindelse med klipping og evt. flytting til sommerbeite.	Lam.	Etter vårbeiteperioden vil lamma ofte ha en del parasitter tatt opp fra hjemmebeitet.

Tilleggsbehandling defineres av *Animalia* som antiparasittær behandling som kun skal gjøres ved behov (2021b). Tidspunkt for behandling mot rundorm på sommer- og høstbeite vurderes ut fra prøvetaking.

I utgangspunktet skal kjernebehandlingen være tilstrekkelig for å forhindre klinisk sykdom forårsaket av *H. contortus* (*Animalia*, 2021a). Tilleggsbehandlinger skal kun gjøres ved behov/dersom kliniske symptomer og prøvetaking indikerer at det er nødvendig (*Animalia*, 2020a). Tilleggsbehandling er oftest aktuelt for søyer før utslipp om våren og lam om høsten.

I utgangspunktet gjelder dette enkelt dyr, men i alvorlige tilfeller kan hele flokken kreve behandling (*Animalia*, 2020a).

Etter en sesong med klinisk sykdom bør alle livdyr behandles før paring, i tillegg til prøvetakning påfølgende lamming og eventuell behandling før utslipp (Animalia, 2020a).

Dersom prøvetakning over tid viser høye egg tall rundt lamming, til tross for korrekt behandling (se «behandlingsrespons» og «resistensproblematikk») om høsten, kan dette tyde på dårlig effekt mot hypobiotiske larver. Da anbefales behandling av påsettlam, gimrer og tynne søyer før paring og alle søyer før utslipp (Animalia, 2020a).

I tillegg til antiparasittær behandling etter prøvetaking, bør produsentene igangsette forebyggende tiltak (se under «forebyggende tiltak») som reduserer behandlingsbehovet på sikt (Arsenopoulos et al., 2021).

Antiparasittære midler

I dag finnes tre hovedgrupper anthelmintika mot GIN hos drøvtyggere; benzimidazoler (BZ), makrosykliske laktoner (ML) og levamisol (LEV) (Baltrušis et al., 2018). I Norge benyttes hovedsakelig BZ og avermektiner/ML (Animalia, 2020a), fremstilt i tabell 3. Det anbefales å veksle mellom disse preparatgruppene hvert 2-3 år som en del av resistensforebyggingen (Animalia, 2020a).

Levamisolgruppen anbefales ikke brukt mot *H. contortus* (Animalia, 2020b), og per 22/4-22 finnes det ingen markedsførte preparater i denne gruppen i Norge.

Tabell 3. Oversikt over de vanligste gruppene antiparasittære legemidler brukt mot rundorm hos sau i Norge (Animalia, 2020b).

Legemiddelgrupper mot rundorm hos sau	Preparater registrert i Norge	Virkestoff	Indikasjon
Benzimidazoler /”Hvit gruppe”	Panacur vet.®	Fenbendazol	Nematoder, cestoder.
	Valbazen vet.®	Albendazol	Nematoder, trematoder og cestoder.
	Curaverm vet.®	Fenbendazol	Nematoder, cestoder.
Avermektiner /”blank gruppe”	Ivomec vet.®	Ivermektin	Nematoder
	Ivermax®	Ivermektin	Nematoder
	Dectomax® inj	Doramektin	Nematoder

Utover de tre overnevnte gruppene har vi en relativt ny gruppe; amino-acetonitril derivater (AAD). Dette er en bredspektret gruppe med god effekt mot nematoder. Monepantel (Zolvix®) kan fås på godkjenningsfritak (Elanco, 2014). Fordi Norge foreløpig har en god resistenssituasjon og god behandlingseffekt av de midlene vi har fra før av, er det ikke ansett som hverken nødvendig eller ønskelig å ta i bruk dette preparatet til rutinemessig behandling. Unntaket er ved karantenebehandling i forbindelse med import av småfe, hvor risikoen for introduksjon av resistente parasitter vil være stor (Animalia, 2020b).

Til tross for høy prevalens av parasitter verden over har det vært liten utvikling av nye anthelmintika-grupper de siste årene (Abongwa et al., 2017). Økonomi spiller en vesentlig rolle her; kostnaden av utviklingen av ett nytt medikament til husdyrbruk er estimert til 400 millioner amerikanske dollar (Abongwa et al., 2017).

Behandlingsrespons

Ved sykdom må en vurdere årsaker til at behandlingen ikke har fungert tilstrekkelig; underdosering, feil oppbevaring eller midler som har gått ut på dato, opptak av ny smitte etter behandling, suboptimal behandlingsrespons grunnet hypobiose eller resistens (Animalia, 2020a). Ved høyt smittepress kan sykdom oppstå til tross for at søyene er behandlet, fordi stor parasittbelastning gir større overlevelsessjans for noen av parasittene (Animalia, 2020a).

Etter behandling viser syke dyr normalt rask bedring i allmenntilstand, mens det kan ta lang tid før de kommer opp i normalt hold og normal produksjon (Animalia, 2021b). Støtteterapi og tilleggsfôring bør vurderes, samt behov for oppfølgingsundersøkelser. Markert påkjente dyr kan stryke med (Arsenopoulos et al., 2021).

Resistensproblematikk

Parasitter som overlever en standard anbefalt dose av et parasittmiddel regnes som resistente. Mer presist kan vi si at vi har resistens ved en reduksjon på 95% eller mindre, målt i epg i feces etter behandling (Animalia, 2021b).

Anthelmintika-resistens har økt dramatisk i prevalens og omfang de siste tiårene og utgjør en stor utfordring på verdensbasis (Kaplan & Vidyashankar, 2012). I 2012 påviste Domke (Domke et al., 2012) resistens mot benzimidazoler (BZ-R) hos *H. contortus* i Rogaland og Hordaland og i 2016 påviste Hektoen og Hamnes (Hamnes & Hektoen, 2016) BZ-R hos *H. contortus* på Østlandet. I tillegg ble ivermektin-resistens påvist i en flokk i Rogaland i 2018 (Odden et al., 2019).

I kjølvannet av påvisningen av BZ-R i Rogaland (Domke et al., 2012) ble doktorgradsprosjektet ARTIST startet ved NMBU. Formålet med prosjektet er å kartlegge prevalensen av gastrointestinale helminter og resistente stammer av disse hos sau i utvalgte områder i Norge. I tillegg skal prosjekter utvikle nye diagnostiske metoder for påvisning av GIN hos sau, som er ment å komme bønder og næringen til nytte.

Resistensdeteksjon

H. contortus tillegges utmerkede egenskaper for resistensutvikling med sin enorme eggproduksjon, store genetiske diversitet og utmerkede evne til å adaptere til ulike miljø og vertsarter (Nisbet et al., 2016). Dette har medført at det foreligger mange forskningsartikler om resistensutvikling hos *H. contortus*. Den omfattende forskningen på BZ-R hos *H. contortus* har ført til at flere Singel Nukleotid Polymorfismer (SNPs) har blitt koblet til BZ-R. Disse SNPene er i isotype-1-beta-tubulingenet og gir blant annet opphav til mutasjonene F167Y (Morrison et al., 2022), E198A (Baltrušis et al., 2020a; Morrison et al., 2022), E198L (Mohammedsalih et al., 2020; Morrison et al., 2022) og F200Y (Baltrušis et al., 2020a; Morrison et al., 2022). Den mest undersøkte og tallrike av disse er F200Y (TTC→TAC), som vi har benyttet i vår studie. Det er vist korrelasjon mellom BZ-R og F200Y, men det er ikke stadfestet om aminosyresubstitusjonen er den faktiske årsaken til resistens eller bare en genetisk knyttet faktor (Kwa et al., 1994).

Droplet digital PCR, tredje generasjons digital PCR, kan brukes for å påvise forekomsten av F200Y-mutasjonen hos *H. contortus* (Baltrušis et al., 2018). Amplifisering av DNA-sekvensen (F200Y i isotype-1- β -tubulin-genet og ITS-2 genot) blir utført før platen med dråpene settes inn i en dråpeteller (QX droplet reader, BioRad). Dråpetelleren skiller dråpene enkeltvis og sender dem gjennom et tofarget deteksjonssystem (FAM og HEX) som teller de

fluorescerende positive (+) og negative (-) dråpene. Positive dråper inneholder minst en kopi av mål-DNA-molekylet og vil sende ut mer fluorescerende lys enn negative dråper. Basert på mengden fluorescerende lys kalkuleres DNA-konsentrasjonen i prøven oppgitt som antall kopier/mikroliter. Enkeltdråpene tillater deteksjon av enkelt-templat-molekyler samtidig med direkte presis kvantifisering (Baltrušis et al., 2018).

Tiltak for å hindre resistensutvikling

For å hindre resistensutviklingen er det viktig å kombinere ulike tiltak på besetningsnivå (Animalia, 2021b):

1. Gjennomgå rutiner for parasitthåndteringen: viktig med individuell tilpasning i hver enkelt besetning for *H. contortus*.
2. Redusere behandlingsbehovet ved hjelp av ikke-medikamentelle tiltak (se under “forebygging”).
3. Riktig bruk av parasittmidler, spesielt unngå underdosering og “dose-and-move”.
4. Unngå å få inn resistente parasitter ved livdyrkjøp. Spesiell varsomhet ved kjøp av dyr fra områder med påvist resistens til «naive» områder.
5. Undersøke for resistens og velge riktig parasittmiddel dersom påvist resistens.

Formål

Overordna mål: Få økt kunnskap om *H. contortus* i Øvre Telemark og Bø.

Delmål 1: Påvise tilstedeværelse av *H. contortus* hos utvalgte sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø.

Delmål 2: Undersøke for tilstedeværelse av F200Y-mutasjon korrelert med BZ-R hos *H. contortus* i utvalgte sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø ved hjelp av ddPCR.

Material og metoder

Studieutvalg

Vi ønsket å undersøke forekomsten av *H. contortus* og eventuell tilstedeværelse av BZ-R i Øvre Telemark. Dette fordi få kartleggingsundersøkelser er gjort i dette området tidligere, samt at lokal kunnskap viser at flere og flere besetninger har opplevd klinisk haemonchose de siste årene (Veum, 2021). Vi ønsket ikke en prevalensundersøkelse, men heller bekrefte forekomst. Derfor inngikk vi et samarbeid med de lokale veterinærene ved Seljord Veterinærkontor hvor vi fikk utlevert en liste over ca. 30 aktuelle besetninger. I disse besetningene var det større sannsynlighet for påvisning av *H. contortus* enn gjennomsnittsbesetningen i området, da de enten hadde kjent forekomst av parasitten eller klinisk mistanke. To besetninger fra tidligere Bø kommune (Midt-Telemark) ble også inkludert på grunnlag av klinisk mistanke om haemonchose. Inklusjonskriteriene i studien er satt i tabell 4, mens studieutvalg og studiepopulasjon er gjengitt i tabell 5.

Tabell 4. Inklusjons- og eksklusjonskriterier for deltakelse i studien.

Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
-Lokalisasjon i Øvre Telemark eller Bø kommune -Rapportert om påvist/mistenkt høgt strongylide-eggtall fra lokal veterinær	-Nylig behandling med antiparasittære midler (før prøvetakning) -Færre enn 20 vinterføra søyer

Tabell 5. Oversikt over studieenhet, studieutvalg og studiepopulasjon for delmål 1 og 2.

Delmål	Studieenhet	Studieutvalg	Studiepopulasjon	Referansepopulasjon
1	10 utvalgte sau fra 18 utvalgte sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø	18 sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø	Sau i Øvre Telemark og Bø	Sau i Norge
2	<i>Haemonchus contortus</i>	<i>H. contortus</i> hos 10 utvalgte sau fra 18 sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø	<i>H. contortus</i> fra 18 utvalgte sauebesetninger i Øvre Telemark og Bø	<i>H. contortus</i> hos sau i Øvre Telemark og Bø

Innsamling og spørreundersøkelse

Aktuelle besetninger ble kontaktet via e-post i februar 2021, med informasjon om prosjektet og invitasjon til deltakelse. Vedlagt e-posten var en spørreundersøkelse hvor besvarelse telte som påmelding til prosjektet. Besetningene som ikke responderte på e-posten, ble kontaktet per telefon.

I løpet av mai inkluderte vi tre ekstra besetninger i studien på grunn av unnet mistanke om klinisk sykdom grunnet parasitter, som fylte ut spørreundersøkelsen i ettertid. I én av disse besetningene var det nylig oppstått mistanke om fenotypisk BZ-R etter å ha fått påvist kun 58% eggreduksjon 10 dager etter behandling med BZ våren 2021 (Veum, 2021).

Våren 2021

Alle påmeldte fikk tilsendt prøvetakingsutstyr og -veiledning til prøvetakning i posten (se vedlegg 2). Bøndene tok avføringsprøvene selv etter instruksjer gitt i veiledningen. Det skulle tas ca. 3 ss feces fra 1-2-åringer, men av praktiske årsaker ble det lite prøvemateriale i enkelte prøver, samt prøver fra noen eldre dyr av mangel på riktig aldersklasse. Det ble gitt tilbud om hjelp til prøvetaking samt tilleggsundersøkelser for eventuelle dyr med kliniske symptomer (se vedlegg 2), men dette ble ikke benyttet.

Grunnet COVID-19, med reise- og besøksrestriksjoner, ble prøvene sendt med posten direkte til NMBU Sandnes for eggteiling. Videre ble det satt opp larvekultur fra alle prøvene, og prøvene ble fraktet videre til NMBU Ås for videre molekylærbiologiske metoder.

Høsten 2021

I august ble det sendt ut e-post med informasjon om høstens prøvetaking. Besetningene fikk deretter tilsendt nytt prøvetakingsutstyr, prøvetakingsinstruksjoner og skjema for oppføring av parasittbehandlinger utført i 2021 (se vedlegg 3). 10 tilfeldige lam skulle prøvetas. Vedlagt var også en ferdigfrankert konvolutt slik at bøndene enklere kunne sende prøvene per post. Prøvene ble behandlet på lik måte som vårprøvene.

Laboratoriemetoder

Av praktiske hensyn ble individprøvene slått sammen til bulker bestående av lik mengde feces fra 5 individer før videre analyser.

McMaster-eggtelling ble utført etter standard prosedyre (Gordon et al., 1939) for kvantitativ analyse av antall strongylide-egg. Larvekultur ble satt opp ved å blande 5 g avføring med vann til tannkrem-konsistens. En plastpose med 20 stemplede hull ble plassert over koppen og larvekulturen ble lagret ved 25°C i 2 uker. Larvekulturen ble rørt i annenhver dag og vann ble tilsatt for å bevare samme viskositet gjennom to-ukers-perioden. Høsting av larvene ble gjennomført ved hjelp av Baermann metoden etter standard prosedyre (Moraes, 1948). Larvene ble deretter kjølt ned til 4°C fram til DNA-ekstraksjon (Baltrušis et al., 2018).

DNA-ekstraksjon

Genomisk DNA ble ekstrahert fra larvekulturene ved bruk av NucleoSpin DNA Stool (Macherey Nagel, Tyskland), ved å følge fremgangsmåten i brukermanualen (Takara Bio USA, 2016). NucleoSpin DNA Stool er et spesialutviklet kit for å ekstrahere genomisk DNA fra avføringsprøver, og er et godt alternativ ved deteksjon og kvantifikasjon av *H. contortus* DNA i avføringsprøver fra småfe (Högberg et al., 2022). Prøvene som inneholdt for lite DNA til deteksjon av F200Y-mutasjonen ble oppkonsentrert og kjørt på nytt. Oppkonsentreringen foregikk ved sentrifugering av prøvene i 3 minutter på 3000 RPM etterfulgt av å pipettere av supernatanten til et restvolum på ca. 0,5 ml.

Droplet digital PCR

Droplet digital PCR ble kjørt på ekstrahert DNA etter beskrevne metoder (Baltrušis et al., 2018; Elmahalawy et al., 2018) med to ulike formål. Først for å beregne mengden *H.*

contortus i forhold til mengde totalt antall Strongylider i prøvene (se tabell 6), deretter for identifikasjon av frekvensen av F200Y-mutasjonen i isotype-1- β -tubulin-genet (Baltrušis et al., 2018). Til deteksjon av mutasjonen ble det brukt utviklede og validerte primer og probe-par (se tabell 7).

Tabell 6. Primere og prober (Elmahalawy et al., 2018) for beregning av mengde *H. contortus* i forhold til øvrige Strongylider ved deteksjon av ITS-2 genet.

<i>H. contortus</i> , FAM	Probe	AACACCGATGAAACATTCTGTATTGAC
	Forward sequence	TCGTGGAACCCTACAATGCT
	Reverse sequence	TCAAAGTGCGGAAGCAGATA
Universal strongylidetype, HEX	Probe	TGCAGACGCTTAGAGTGGTG
	Forward sequence	GATTCGCGTATCGATGAAAAA
	Reverse sequence	CCGAAGGGAAAACCCAAC

Tabell 7. Primere og prober (Baltrušis et al., 2018) for identifikasjon av F200Y-mutasjonen i isotype-1- β -tubulin-genet hos *H. contortus*.

F200WT ¹ , FAM	Probe	AACACCGATGAAACATTCTGTATTGAC
	Forward sequence	TCGTGGAACCCTACAATGCT
	Reverse sequence	TCAAAGTGCGGAAGCAGATA
F200MT ² , HEX	Probe	AACACCGATGAAACATACTGTATTGAC
	Forward sequence	TCGTGGAACCCTACAATGCT
	Reverse sequence	TCAAAGTGCGGAAGCAGATA

Prøvereaksjonene ble satt opp i 96-brønnplater med et totalvolum på 22 mikroliter, ved å følge fremgangsmåten til produsenten (BioRad). Dråper ble generert og fordelt i en ny 96-brønnplate ved bruk av en automatisk dråpe-generator/dråpeteller (QX200, BioRad). Den nye platen ble varmeseglet og overført til en termocycler (MyCycler Thermal Cycler). PCR

¹ Villtype

² Mutasjonstype

betingelsene var som følger: en singel syklus på 95°C i 10 minutter, 40 sykluser på 94°C i 30 sekunder og 58°C i 1 minutt, deretter en singel syklus på 98°C i 10 minutter for å deaktivere enzymet (Baltrušis et al., 2020b). Etter amplifikasjonssteget ble brønnplaten flyttet til dråpetelleren (QX200, BioRad), for videre analyse ved hjelp av QuantaSoft (v1.7.4.0917) (BIO-RAD, u.å.).

Positive og negative kontroller ble brukt for å validere resultatene av ddPCR-analysene. NTC (no template control) med nuklease-fritt vann ble brukt som negativ kontroll. De positive kontrollene bestod av stammer av *H. contortus* L3 fra det slovakiske vitenskapsakademiet, mottatt fra av Marián Várady. Det ble brukt to ulike positive kontroller; villtype-allelet (F200) av *H. contortus* og F200Y-mutasjonen.

Ut fra de positive og negative kontrollene satte vi grenseverdier for hva som ble regnet som positive dråper ved hver enkelt analyse. Ved hjelp NTC definerte vi hva som ble regnet som en akseptabel dråpeamplitude i hver prøve for at den kunne regnes som valid. Fire av prøvene ble kjørt på nytt, da de ble underkjent på grunn av for lite mål-DNA i prøvemateriale; disse ble regnet til å være valide etter runde nummer 2.

Ved for høy eller for lav DNA-konsentrasjon i prøven klarte ikke maskinen å kvantifisere direkte. Ved artsbestemmelse hadde prøvene for høy konsentrasjon av DNA, derfor måtte vi fortynne alle prøvene våre for å kjøre artsbestemmelse. Ved resistensundersøkelse måtte vi oppkonsentrere 24 prøver grunnet lav DNA-konsentrasjon. Fordi vi kun brukte Quanta-Soft til å se på mengdeforholdet mellom to ulike gener; *H. contortus* vs. Strongylider og F200 vs. F200Y, hadde det ikke noe å si for resultatet at vi analyserte prøver med ulik konsentrasjon (Baltrušis et al., 2020b).

Statistiske metoder

Som tidligere nevnt ble 5 og 5 av individprøvene fra samme besetning av praktiske årsaker slått sammen før analyse, slik at strongylide-eggtallet er et gjennomsnitt av henholdsvis 5 dyr fra hver besetning. For å unngå stor påvirkning av ekstremverdier er median ofte mer hensiktsmessig som mål på sentraltendensen enn gjennomsnitt for slike prøver (Nødtvedt, 2021). Dette ble derimot for arbeidskrevende å utføre i dette studiet. Vi ønsket å vite både hvor mange prosent *H. contortus* utgjorde av det totale Strongylidetallet i tillegg til hvor mye dette tilsvarte i epg *H. contortus* i avføring. Beregningene ble utført i henhold til matematiske former angitt i tabell 8.

Tabell 8. Statistisk analyse. Oversikt over beregninger utført for de ulike delmålene.

Delmål	Variabel	Verdi	Framgangsmåte
1	Strongylidetype	Mild infeksjon: < 1000 epg Moderat infeksjon: 1000-2000 epg Markert infeksjon: >2000 epg ³	McMaster
	<i>H. contortus</i>	%-andelen <i>H. contortus</i> av total mengde Strongylidetype-egg	$\%_H = \left(\frac{FAM_H}{HEX_S} \right) * 100$ $\bar{X}_{\%H} = \left(\frac{EPG_{H\ V\ \text{ÅR}1} + EPG_{H\ V\ \text{ÅR}2}}{EPG_{S\ V\ \text{ÅR}1} + EPG_{S\ V\ \text{ÅR}2}} \right) * 100$ $\bar{X}_{\%H} = \left(\frac{EPG_{H\ H\ \text{ØST}1} + EPG_{H\ H\ \text{ØST}2}}{EPG_{S\ H\ \text{ØST}1} + EPG_{S\ H\ \text{ØST}2}} \right) * 100$
		~epg <i>H. contortus</i>	$EPG_H = \frac{EPG_S * \%_H}{100}$
		Standardavvik	$s = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$

³ (Animalia, 2020a)

Delmål	Variabel	Verdi	Framgangsmåte
2	Resistens	Påvist / ikke påvist	ddPCR/analyse i QuantaSoft
	F200Y	%-andelen F200Y	$\%_{F200Y} = \left(1 - \left(\frac{F200_{copies/\mu l}}{F200Y_{copies/\mu l}} \right) \right) * 100$

Andelen F200 ble kalkulert ved å ta 1-F200Y. Gjennomsnittlig prevalens ble estimert ved å summere alle enkeltverdiene og dele på 42 (totalt antall samleprøver). Variasjonsbredden ble fastsatt fra laveste kalkulerte forekomst til høyeste kalkulerte forekomst av F200Y-mutasjonen. For å teste statistisk signifikans ble Mann-Whitney U Test (Mann & Whitney, 1947) brukt til å beregne p-verdier. Testen brukes for å sammenlikne to, kontinuerlige, ikke-normalfordelte variabler.

Resultater

Besetnings- og innsamlingsdata

Resultatet fra spørreundersøkelsen fra de 16 besetningene er gjengitt i vedlegg 1. Lammingen foregår til ulikt tidsrom i de ulike besetningene, men de fleste har lammingsperiode fra midten av april til midten av mai. Syv av besetningene har spælsau, fem har NKS, én er kombinert spælsau og NKS, én besetning er suffolk, én har blæset sau og én besetning har ukjent rase (se vedlegg 1).

Totalt mottok vi prøver fra 17 besetninger tatt i tidsrommet 24/04-31/05 2021, og 15 besetninger tatt i tidsrommet 06/09-09/10 2021. Av de 17 besetningene som sendte inn vårprøver, sendte 14 også inn høstprøver. Én besetning sendte kun inn høstprøver. Totalt mottok vi dermed prøver fra 18 besetninger.



Figur 7. Oversiktsbilde over lokaliseringen av de 18 besetningene som sendte inn prøver i forbindelse med studien. To besetninger ble ekskludert på grunn av ugyldig resultat (gule punkter). De 16 resterende besetningene (røde punkter) utgjør materialet i studien.

Våre besetninger befinner seg i hovedsak i jord- eller fjellbygder (se figur 7). Gjennomsnittlig antall meter over havet (moh.) for de 18 besetningene er 356 moh., med variasjonsbredde fra 80-581 moh. (se vedlegg 5). Når det gjelder beitebruk er det i vår studiepopulasjon kun to besetninger (2 og 14) som oppgir at de kun bruker innmarksbeite hele beitesesongen, mens øvrige har en kombinasjon av innmark- og utmarksbeite (se vedlegg 5). Vi har ingen oversikt over hvilken type utmarksbeite hver enkelt besetning benytter, men geografiske forhold i området tilsier at de fleste benytter en kombinasjon av fjell- og lavlandsbeiter (Veum, 2021).

Antiparasittært behandlingsregime i 2021 ble rapportert inn sammen med avføringsprøvene på høsten (se vedlegg 3 og 4). Av de 18 besetningene var det 7 besetninger som behandlet med BZ, 5 med avermektiner, 2 med både BZ og avermektiner, én besetning som ikke behandlet medikamentelt og én besetning med ukjent behandlingshistorikk (se vedlegg 1). Av de som behandlet gjorde 8 dette kun ved utslipp, 1 kun på høsten, 3 både ved utslipp i tillegg til 1-2 behandlinger ila. beiteperioden og 2 besetninger etter prøvetaking om våren i tillegg til ved utslipp (se vedlegg 1). Et betydelig antall av besetningene oppga at enkeltdyr ble behandlet i stedet for hele flokken (se vedlegg 1).

Tabell 9. Presentasjon av et utvalg av resultatene fra studien vår. Grå ruter betyr at besetninger ikke sendte inn prøver på respektive tidspunkt.

		Vår			Høst		
B ⁴	Vfs ⁵	Infeksjonsgrad strongylidetype	% <i>H. contortus</i> ⁶	R/S ⁷	Infeksjonsgrad strongylidetype	% <i>H. contortus</i>	R/S
1	145	Mild/moderat	53	R	Mild	37	R
2	50	Mild/moderat	52	R	Moderat	74	R
3	320	Moderat	67	R	Mild	5	R
4	60	Mild/kraftig	53	R	Moderat/kraftig	-	-
6	85	Kraftig	67	R	Moderat/kraftig	26	R
7	135	Mild	59	R	Kraftig	25	R
8	43	Mild/moderat	69	R	Mild/kraftig	56	R
9	94	Moderat/kraftig	51	R	Moderat	24	R
11	125	Mild	0	-	Mild	0	-
12	73	Mild	38	R	Mild/moderat	-	-
13	109	Mild	0	-	Mild	16	R
14	20	Kraftig	30	R	Kraftig	-	-
15	260	Mild	30	R	Mild	3	-
16	180	Mild	26	R			
17	58	0	0	-	Mild	29	R
18	50				Mild/moderat	9	R
~ ⁸		579 epg	45%		384 epg	22%	

⁴ Besetningsnummer

⁵ Antall vinterfødte søyer

⁶ Prosentandelen *H. contortus* utgjør at det totale antallet Strongylidetype-egg

⁷ Overvekt av F200Y-mutasjon (R) eller overvekt av villtypen (S)

⁸ ~ Gjennomsnittstall epg *H. contortus*

Egner og Veum – *H. contortus* hos sau i utvalgte besetninger i Øvre Telemark og Bø

Strongylideeggallet i de ulike besetningene tilsvarte fra mild til kraftig infeksjonsgrad (se tabell 9) (Animalia, 2020a). Gjennomsnittlig 1236 epg, med en median for vårprøvene på 875 epg og for høstprøvene på 1055 epg. Infeksjonsgraden for Strongylidetype-egg og andelen *H. contortus* utgjør av dette er angitt i figur 8 og 9 for henholdsvis vår- og høstprøvene.

Tilstedeværelse av *H. contortus*

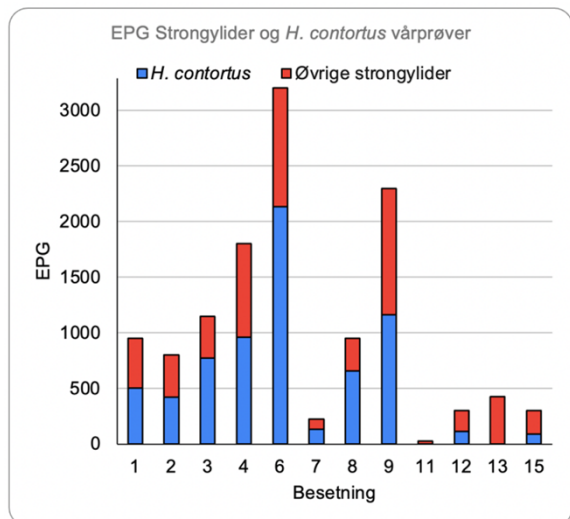
Vi samlet inn prøver fra totalt 18 besetninger. Grunnet lite materiale måtte vi stryke besetning nr. 5 og 10 fra utvalget, dermed stammer resultatene fra 16 besetninger i Øvre Telemark og Bø. Av de 16 besetningene, sendte 14 både vår- og høstprøver, mens to besetninger (16 og 18) sendte bare inn prøver vår eller høst. På grunn av feil med larvekulturen på høstprøvene til besetning 14 og ingen parasitter i vårprøven til besetning 17 (trolig grunnet behandling få dager før prøvetaking), sitter vi igjen med 12 besetninger med gyldige vår- og høstprøver.

Resultatene viste forekomst av *H. contortus* i 44 av totalt 60 samleprøver fra besetningene. Eggallet av *H. contortus* ble beregnet til 0-2135 epg (se figur 10), som tilsvarer mild-moderat infeksjon med denne parasitten (Animalia, 2021b). Infeksjonsgraden varierte mellom besetningene (se figur 10); det ble påvist signifikante forskjeller i epg mellom besetningene i området ($p=0,0002$).

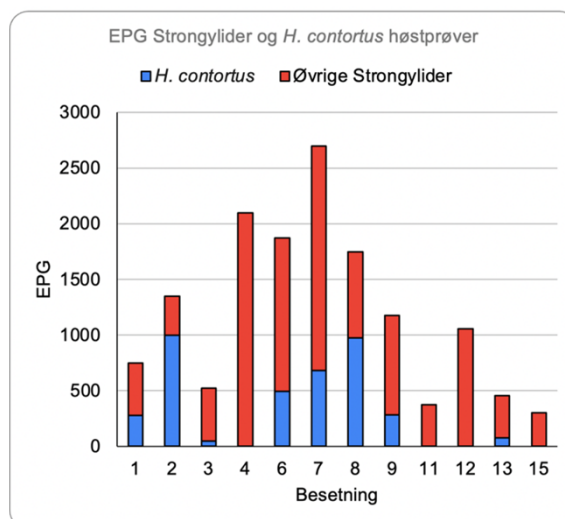
Gjennomsnittlig epg *H. contortus* hos de 12 besetningene med gyldige vår- og høstprøver ble kalkulert til 579 epg på våren og 384 epg på høsten (se figur 10). Selv om prøvesvarene gjennomsnittlig er høyere om våren enn høsten ser vi ingen statistisk signifikant forskjell ($p=0,53$).

Når vi ser på utviklingen fra vår-høst i den samme gruppen observerer vi en variasjon der 4 besetninger har en reduksjon i egg-tallet fra vår til høst, tre besetninger har en økning, tre av besetningene har egg-tall på våren og ikke høsten, én besetning har egg-tall på høsten og ikke våren og én besetning fikk ikke påvist *H. contortus* (se figur 10). Ser vi på de sju besetningene med egg-tall både på vår- og høstprøver, ser vi at hos besetningene med reduksjon i epg fra vår til høst er reduksjonen statistisk signifikant ($p=0,029$), mens økningen hos besetningene med økning i epg i denne perioden ikke er statistisk signifikant ($p=0,1$).

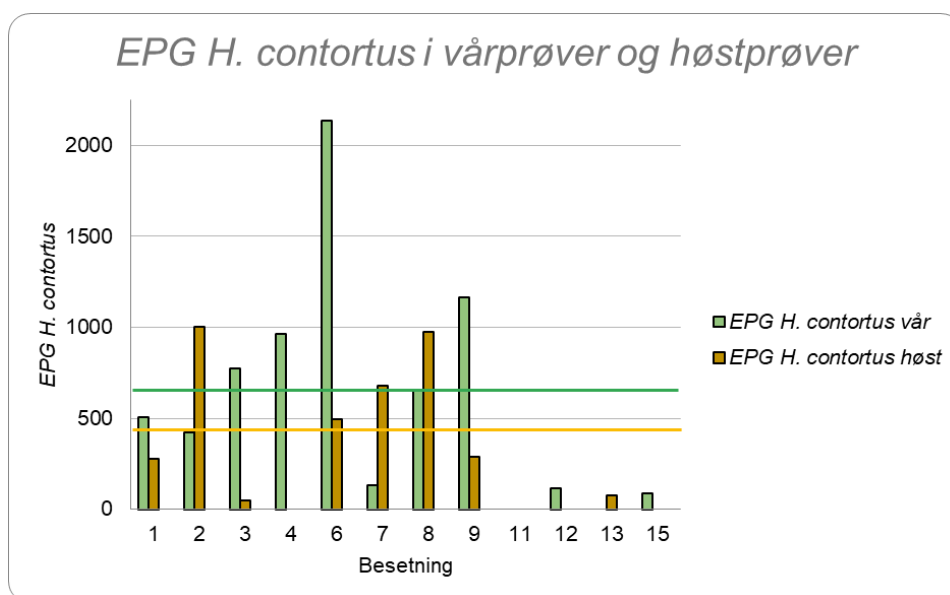
Hvor stor prosentandel *H. contortus* utgjorde av det totale strongylideegg-antallet varierte fra 0-74% (se tabell 9). På vårprøvene utgjorde *H. contortus* gjennomsnittlig 45% av strongylideegg-tallet mens på høsten var det samme tallet redusert til 22% (se tabell 9). Ut fra dette kan vi si at prosentandelen *H. contortus* i vårprøvene er signifikant høyere enn i høstprøvene ($p=0,028$). Av totalt 12 besetninger med vår- og høstprøver hadde 9 en høyere prosentandel *H. contortus* på våren sammenlignet med høsten, 2 hadde høyere prosentandel *H. contortus* på høsten og én besetning hadde ikke forekomst av *H. contortus* (se figur 11).



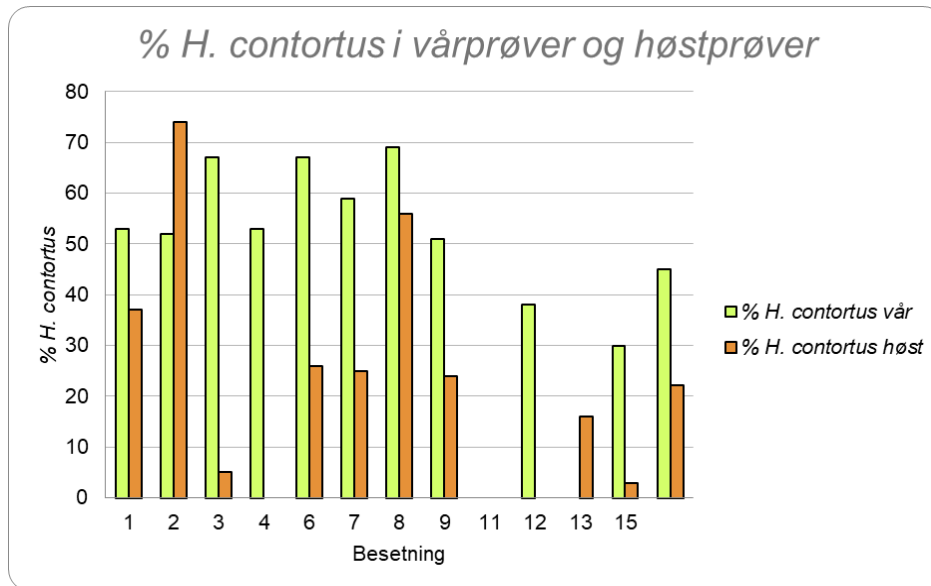
Figur 8. Søylediagram over epg strongylider (blå farge) og epg *H. contortus* (rød farge) fra vårprøvene til de 12 besetningene som hadde både vår- og høstprøver.



Figur 9. Søylediagram over epg strongylider (blå farge) og epg *H. contortus* (rød farge) fra høstprøvene til de 12 besetningene som hadde både vår og høstprøver.



Figur 10. Søylediagram over epg for *H. contortus* i vårprøvene og høstprøvene til de 12 besetningene som hadde både vår- og høstprøver. Grønn linje = gjennomsnittlig epg på vårprøvene, gul linje = gjennomsnittlig epg på høstprøvene. Egg tallene er ikke statistisk høyere om våren enn om høsten ($p=0,53$).



Figur 11. Søylediagram som viser sammenhengen mellom prosentandelen *H. contortus* utgjorde av det totale antallet Strongylide-egg på vår- og høstprøvene hos de 12 besetningene med både vår- og høstprøver. Det er en statistisk signifikant høyere prosentandel *H. contortus* om våren enn om høsten ($p=0,028$).

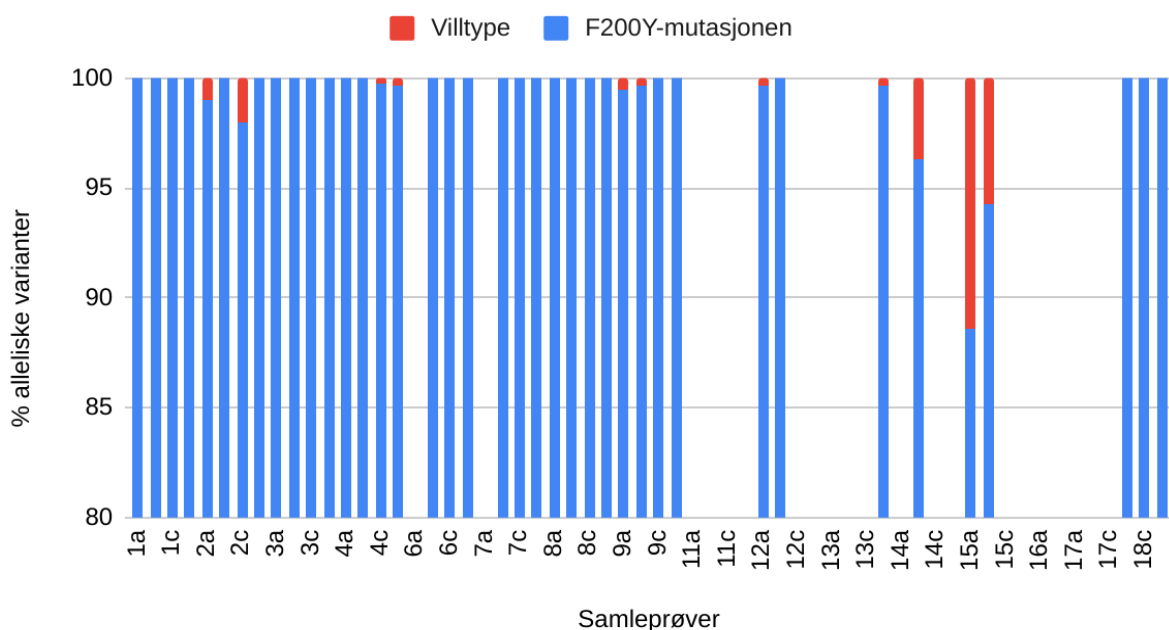
I vår studie ser vi en tydelig sammenheng mellom infeksjonsnivå og gårdsbrukenes beliggenhet i forhold til høyde over havet (se vedlegg 5). Besetningene som ligger <450 moh. hadde signifikant høyere ($p=0,0047$) epg *H. contortus* sammenlignet med de som lå høyere (se vedlegg 5). Dette gjelder både for gjennomsnittlig epg ($p=0,0047$), vår ($p=0,025$) og høst ($p=0,044$).

Vi har ikke observert noen statistisk signifikant forskjell på egg tall *H. contortus* hos henholdsvis NKS og spælsau ($p=0,2$). Øvrige raser finnes kun hos enkeltbesetninger. Vi har ikke sett på sammenheng mellom de øvrige rasene og infeksjonsgrad, fordi vi anser datamateriale til å være for lite for vurdering av signifikans.

Tilstedeværelse av F200Y hos *H. contortus*

Tilstedeværelse av F200Y-mutasjon korrelert med BZ-R ble detektert hos gjennomsnittlig 99,25% av *H. contortus* i prøvene i dette studiet, med en variasjonsbredde fra 88,6-100% (se figur 12). Forekomsten av F200Y er signifikant høyere ($p=0,0001$) enn villtypen. Villtypen ble kun funnet i et fåtall av prøvene og i begrenset mengde (se figur 12).

Prevalens av F200Y-mutasjonen



Figur 12. Forholdet mellom de to alleliske variantene i F200Y oppgitt i prosent. X-aksen representerer de totalt 60 samleprøvene; hvorav "a" er vårprøvene (to kolonner) og "c" er høstprøvene (to kolonner). Y-aksen representerer prosentandelen av F200Y-mutasjon (blå farge) og villtypen (rød farge). Fravær av søyle indikerer at det ikke var noe DNA fra *H. contortus* i denne prøven.

Diskusjon

Tilstedeværelse av *H. contortus*

Studien har påvist betydelig forekomst av *H. contortus* i Øvre Telemark og Bø, men fordi vi ikke har gjort et tilfeldig studieutvalg kan vi ikke uttale oss om prevalensen i området. I utvalget vi gjorde ble *H. contortus* påvist i 44 av totalt 60 samleprøver fra besetningene. Det er altså rimelig å anta at *H. contortus* finnes i mange øvrige besetninger i området.

Enkelte av prøvene som ikke fikk utslag for *H. contortus* antas å være grunnet feil med larvekultur, da de andre prøvene fra samme besetning, samt epg strongylidetype, indikerte at forekomst var høyst sannsynlig. Besetning 17 fikk to negative vårprøver, trolig grunnet IVM-behandling 8 dager før prøvetaking, men påvist *H. contortus* på høstprøvene.

Vi har observert store signifikante forskjeller ($p=0,0002$) i forekomsten av *H. contortus* mellom besetningene i området (se tabell 9). Det ble ikke funnet noen trend i variasjonen på vår- og høstprøvene innad i samme besetning; noen hadde høyere egg tall om våren, andre om høsten og noen relativt stabilt (se figur 10). Videre vil ulike forklaringsvariabler bli diskutert.

Egg tall kan bli påvirket av faktorer som påvirker parasitten, deriblant tilfeldig “dag til dag”- variasjon og stadiet i livssyklusen (Rinaldi et al., 2015). Et studie på bruk av egg telling som indikator på parasittbyrden av *H. contortus* observert at eggutskillelsen varierte fra dag til dag av ukjent årsak (Coadwell & Ward, 1982). Dette studiet konkluderte med at egg tallet er bedre korrelert med total parasittvekt enn antallet individer, trolig på grunn av at små ormer produserer færre egg enn større ormer. Hvor i livssyklusen parasittene befinner seg vil altså påvirke egg tallet. Et annet studie på geiter konkluderte med at klokkeslettet prøvene tas på ikke er vesentlig for strongylideegg tallet, men måneden prøvene tas hadde en signifikant

betydning (Rinaldi et al., 2015). Det samme studiet fant også en signifikant positiv korrelasjon mellom eggfall og parasittbyrde, spesielt hos *H. contortus*. Til tross for at vi kan observere tilfeldige dag-til-dag-variasjoner i eggallet tyder altså overnevnte studier på at eggfall er en god indikator på parasittbyrden av *H. contortus*, så lenge prøvene tas omtrent på samme tid i sesongen.

Både hyppighet og tidspunkt for behandling relativt til prøvetakingstidspunktet er av betydning for prøveresultatet (Scott et al., 1991). Ingen av besetningene har behandlet til samme tidspunkt, og naturlige variasjoner mellom besetningene på grunn av ulike muligheter for smitteopptak etter behandling må påberegnes. I tillegg er den praktiske gjennomføringen av behandling av betydning i form av at dosering, teknikk, oppbevaring av midlene etc. vil påvirke effekten av behandlingen (Animalia, 2020a). Dette ble utøvd av bøndene selv, og ikke kontrollert eller utøvd på en standardisert måte. Mulige feilkilder bør derfor tas høyde for.

Hvilken type beitebruk som praktiseres vil påvirke smittepresset – og dermed eggallet – i de ulike besetningene (Arsenopoulos et al., 2021). I vår studiepopulasjon er det to besetninger som oppgir at de kun bruker innmarksbeite hele beitesesongen, mens øvrige har en kombinasjon av innmark- og utmarksbeite (se vedlegg 1). Utmarksbeite gir et lavere smittepress sammenlignet med innmarksbeite, fordi mengden egg fordeler seg utover et mye større areal. Flere av bøndene i studiet opplever derimot at selv dyra som kommer fra utmarksbeite har relativt høye eggfall, til tross for antiparasittær behandling før beiteslipp (Veum, 2021). Hvorvidt dette skyldes resistens hos parasittene, smitte via samlingsplasser på utmarksbeite eller lignende, kan ikke vi konkludere med i dette studiet, da vi ikke har god nok informasjon om hvilket beite de prøvetatte individene har gått på. Dette hadde vært interessant og gjort videre studier på.

Egner og Veum – *H. contortus* hos sau i utvalgte besetninger i Øvre Telemark og Bø

Miljø/klima spiller en signifikant rolle for livssyklusen til *H. contortus*, og et varmt og fuktig miljø gir gunstige betingelser og høyt smittepress (Arsenopoulos et al., 2021). Andre klimatiske forhold som vind, temperatur, nedbør og vegetasjon vil også påvirke parasittens evne til å formere seg (Rinaldi et al., 2015). Det er topografiske variasjoner mellom gårdsbrukene, som før studien ble antatt å spille en rolle for smittepresset av *H. contortus*. Vi observerte en tydelig sammenheng mellom infeksjonsnivå og gårdsbrukenes beliggenhet i moh., noe som stemmer overens med tidligere studier (Arsenopoulos et al., 2021). Besetningene som var <450 moh. hadde signifikant høyere epg *H. contortus* ($p=0,0047$) sammenlignet med de som lå høyere opp enn dette (se vedlegg 5).

Ernæringsstatusen til dyrene er viktig fordi friske dyr i godt hold med optimal føring generelt har bedre motstandskraft mot parasitter (Arsenopoulos et al., 2021). Vi har ingen holdvurderingsscore fra de prøvetatte sauene, som kunne bidratt med ekstra informasjon til studien. Om noen bønder har prøvetatt sauer i godt hold og andre har prøvetatt sauer i dårlig hold vil dette kunne gi skjevfordelte resultater.

Immunstatus varierer mellom raser (se vedlegg 1) og mellom enkeltindivider av samme rase, som vil kunne gi utslag på egg-tallet (Albuquerque et al., 2019; Woolaston & Baker, 1996). Det ble ikke observert statistisk signifikans sammenheng mellom rase og infeksjonsgrad i denne studien. Vi har heller ikke funnet studier utført på immunitet hos NKS eller spælsau. Likevel kan vi ikke med sikkerhet si at rasevariasjon ikke er av betydning for infeksjonsgrad. Fordi studieutvalget vårt består av relativt få dyr (10 stk.) vil resultatene være sårbare for slike variasjoner (tilfeldige feil), da vi ikke har oversikt over om dyrene har en god eller dårlig immunitet mot *H. contortus*. Hadde vi økt studieutvalget ville antall tilfeldige feil blitt redusert, og presisjonen dermed økt. Lam utvikler, som tidligere nevnt, gradvis immunitet fra

4-5 måneders alder (Gjerde, 2011). De prøvetatte lammene i vår studie kan være fra 3-5,5 måneder gamle; det vil si at enkelte av lammene kan ha påbegynt immunitetsutvikling.

Prøvetakingstidspunkt vil påvirke eggtalet i vårprøvene. Alle besetninger, utenom 3 stk., tok prøver i slutten av mai, noe som tilsvarer tidsrommet 2-6 uker etter lamming. Besetning 8, 9 og 16 tok prøver i slutten av april, tilsvarende 1-2 uker etter lamming, og scoret til henholdsvis mild/moderat, moderat/kraftig og mild infeksjonsgrad. Alle har altså prøvetatt i perioden definert som «spring rise» (Animalia, 2021b), men noen tidligere enn andre. Selv om vi ikke vet akkurat hvor mange dager etter lamming prøvene ble tatt, vil vi si at vi har et relativt standardisert prøvetakingstidspunkt for vårprøvene som muliggjør sammenligning av eggtellingsresultatet.

Videre vil vi sammenligne resultatene fra vårprøvene med høstprøvene. En vesentlig faktor når disse resultatene skal sammenlignes er at vårprøvene ble tatt fra søyer, mens høstprøvene ble tatt fra lam. Basert på at *H. contortus* ikke overvintrer i beitet (Troell et al., 2005) kan en grovt sagt si at vårprøvene reflekterer eggutskillelsen fra de oppvåkne hypobiotiske larvene i søyene, mens høstprøvene reflekterer summen av smittepress og immunstatus hos lammene (Arsenopoulos et al., 2021).

Flere besetninger har høyere epg *H. contortus* om våren enn om høsten (se tabell 9 og figur 10). Reduksjonen i epg *H. contortus* er statistisk signifikant ($p=0,029$). Resultatene kan tyde på at besetningene har klart å unngå utsmittning av beiten ved hjelp av strategisk behandling og/eller beitetiltak (Arsenopoulos et al., 2021). God immunstatus på lammene vil også kunne bidra positivt (Albuquerque et al., 2019). Korteste tid fra behandling til prøvetaking på høsten var 5 uker (se vedlegg 4). Dyrene hadde god tid til å ta opp smitte, men eggtalet vil

for denne besetningen naturlig nok være lavere enn om de ikke hadde behandlet ved det aktuelle tidspunktet. En naturlig kilde til variasjon i eggallet er at hver enkelt besetning har sitt eget behandlingsopplegg, noe som gjør direkte sammenligning upresist.

Noen besetninger fikk lavere eggfall om våren enn om høsten (se tabell 9 og figur 10), men disse resultatene har ikke statistisk signifikans ($p=0,1$). Eggallet kan likevel indikere at beitetiltak og behandling ilt. vår/sommer-perioden ikke har vært optimalt for å beskytte lammene mot infeksjon. Eggallet kan også være påvirket av eventuell behandling av søyene rundt prøvetaking, men fra vårt studieutvalg gjelder dette som tidligere nevnt kun besetning 17. Besetning nummer 2, som kun praktiserer innmarksbeite, er en av besetningene som hadde høyere epg *H. contortus* i høstprøvene enn i vårprøvene. Heller ikke hos denne besetningen er resultatene statistisk signifikante ($p=0,33$). Likevel kan vi antyde at beitetiltakene ikke har vært tilstrekkelig for å hindre at lammene ble infisert i betydelig grad. Til sammenligning hadde besetning 15 en mild infeksjon på vår- og høstprøvene. Denne besetningen hadde heller ingen antiparasittære behandlinger i perioden, og beitetiltak alene var trolig tilstrekkelig at lammene kun fikk en mild infeksjon.

Tilstedeværelse av F200Y hos *H. contortus*

Tilstedeværelsen av F200Y-mutasjonen hos *H. contortus* er ifølge tidligere gjennomførte studier korrelert med BZ-R (Kaplan & Vidyashankar, 2012). Frekvensen av mutasjonen i prøvene som inneholdt *H. contortus* var i dette studiet gjennomsnittlig 99,25%, med en variasjonsbredde på 88,6-100%. Resultatene viser at forekomsten av F200Y er signifikant høyere enn forekomsten av F200 ($p < 0,0001$), noe som kan tyde på at flere av parasittene er homozygot resistente. Med utgangspunkt i overnevnte studier tyder resultatene våre på høy

Egner og Veum – *H. contortus* hos sau i utvalgte besetninger i Øvre Telemark og Bø

forekomst av potensiale for BZ-R i Øvre Telemark og Bø. Også i Sverige er det funnet en høy frekvens av F200Y-mutasjonen hos *H. contortus*. (Baltrušis et al., 2020a).

Enkelte av besetningene i studien påstår og kun ha behandlet med IVM de siste årene (Veum, 2021), men også disse har høy forekomst av F200Y-mutasjonen. Dette tyder på at kostnaden ved å ha det resistente allelet ikke er større enn villtypen, slik at det ikke selekteres tilbake fra resistens til villtype ved fravær av seleksjonspress. Dette stemmer overens med tidligere publiserte studier (Baltrušis et al., 2020a).

Per i dag er det kun 3 av besetningene (13, 16 og 17) som har svart at de opplever redusert effekt av BZ-behandling, altså fenotypisk resistens. Dette, i kombinasjon med at vi har funnet 99,25% av F200Y-mutasjonen, gjør at vi setter et spørsmålsteget ved korrelasjonen mellom F200Y og BZ-R. Tidligere studier har også understreket at det kreves ytterligere forskning for å fastslå i hvilken grad *H. contortus* med heterozygot F200Y-mutasjon innehar fenotypisk resistens mot BZ, og hvilke sekundære mekanismer som bidrar til resistensen (Baltrušis et al., 2020b; Morrison et al., 2022). I 2022 konkluderte Morrison et al. at korrelasjon mellom genotypisk- og fenotypisk resistens er komplekst, at flere gener/mekanismer kan være involvert i BZ-R og at beta-tubulin bare forklarer en del av den fenotypiske variansen (Morrison et al., 2022). Interaksjonen mellom de ulike mutasjonene i isotype-1-beta-tubulingenet, henholdsvis F167Y, E198A, E198L og F200Y, og innvirkningen av disse i forhold til fenotypisk resistens er per i dag uklar (Morrison et al., 2022).

En tidligere publisert studie fant at MHco5-stammen av *H. contortus* innehar en høyere frekvens av F200Y-mutasjonen (80-100%) enn MHco4-stammen, og at MHco5 tydelig viste høyere grad av resistens mot BZ fenotypisk ved egg hatch test (EHT) (Baltrušis et al., 2020b).

Hvilken stamme som eksisterer i Norge er foreløpig ikke undersøkt; genotyping for undersøkelse av hvilke stammer som eksisterer ville vært svært informativt.

Villtypeallelet ble i vår studie påvist i svært sparsom mengde. I en studie gjennomført i Sverige fra 2014 til 2019 var frekvensen av F200Y gjennomsnittlig $88,5 \pm 20,3\%$ (Baltrušis et al., 2020a). Altså var villtypeallelet tilstede i sparsom mengde også i Sverige, men i høyere grad enn i vårt studie. Dette indikerer at en stor prosentandel av populasjonene av *H. contortus* i studiet er homozygote for allelvarianten F200Y.

Flere mulige årsaker til den lave frekvensen av villtypen er blitt vurdert. En årsak kan være at det i Øvre Telemark og Bø kommune er nære total BZ-R. En annen årsak kan være at proben som er brukt for villtypen ikke er korrekt, og at villtypen som eksisterer i Norge innehar en annen allelisk variant. Sistnevnte er trolig mindre sannsynlig, da *H. contortus* har blitt sekvensert i Sverige uten at nye alleliske varianter er identifisert (Baltrušis et al., 2018). En tredje årsak kan være at det er korrelasjonen mellom F200Y og BZ-R, men ikke kausalitet.

Det har også blitt vurdert om mengden larver i prøvene har påvirket resultatet. En studie gjennomført i Sverige (Baltrušis et al., 2020a) slo fast at mengden L3 fra *H. contortus* ikke hadde noen betydning for allelfrekvensen i dette lokuset. Våre prøver inneholdt varierende mengde larve-DNA, men fordi vi fikk påvisningsprosenten av F200Y var 88,6-100% i prøvene som inneholdt *H. contortus*, konkluderer vi med at mengde DNA ikke er årsaken til den store overvekten av resistente alleler.

Videre forskning er nødvendig for å verifisere at påvisning av F200Y-mutasjonen gir fenotypisk resistens hos *H. contortus*, både for homozygot- og heterozygot resistente

parasitter. Dette kan gjøres ved f.eks. eggreduksjonstest eller EHT kombinert med ddPCR (Baltrušis et al., 2020b). Det er også nødvendig å undersøke hvilke sekundære resistensmekanismer som kan bidra til fenotypisk resistens. *H. contortus* burde genotypes for å redegjøre hvilken stamme som eksisterer i Norge. Det gjenstår også arbeid i forbindelse med prevalensen av *H. contortus* i Øvre Telemark og Bø, og generelt i Norge.

Variabler

Det faktum av bøndene selv tok avføringsprøvene, gjør det vanskelig å sikre standardisering frem til analyse. Oppbevaring frem til sending, transporttid og forhold under transport til Høyland kan variere mellom de ulike områdene og besetningene. Temperatur og oppbevaringstid før gjennomføring av McMaster og larvekultur kan være faktorer som påvirker resultatene, da *H. contortus* kan klekke ved høyere temperaturer over lengre tid (O'Connor et al., 2006). Prøvetakingsmetode, pakking og sending ble forsøkt standardisert med vedlagt dokument og ferdig frankert konvolutt (post over natt) til bøndene.

Vårens prøvetaking ble gjennomført over en lengre tidsperiode (april-mai), da besetningene hadde ulike forutsetninger for prøvetaking. Prøvetakingstidspunkt kan være av betydning for mengde *H. contortus* i prøvene. Prøvetaking før og etter «spring rise» vil føre til et lavere egg tall enn prøvetaking under spring rise; ved tidlig prøvetaking vil et fåtall av larvene ha våknet fra hypobiose, mens ved sein prøvetaking vil søyene naturlig ha bekjempet deler av infeksjonen (Animalia, 2020a). Alle besetningene tok avføringsprøver innenfor den definerte tidsperioden for «spring rise» (Animalia, 2020a).

Vi valgte å ta vårprøver av søyer og høstprøver av lam. Dette utgjør en mulig kilde til bias ved sammenligning av vår- og høstprøvene. Vi forsøkte innledningsvis å standardisere

utvalget av søyer til 1- og 2-åringer. Dette ble praktisk vanskelig å gjennomføre for noen av bøndene, og vi valgte derfor å motta et representativt og korrekt antall prøver, enn et mindre antall prøver fra kun riktig aldersgruppe. Dermed vil aldersimmunitet kunne påvirke prøvesvarene.

For å unngå falske negative prøver på grunn av nylig behandling, var et av eksklusjonskriteriene at det ikke skulle være behandlet mot innvollsorm de siste 6 ukene før prøvetaking. Vi tok dog ikke hensyn til om besetningene hadde behandlet ved innsett høsten 2020, noe som i lik grad kan påvirke prøveresultatene på våren.

Variasjoner i produksjonsoppsett i besetningene (se vedlegg 1) vil utgjøre tilfeldige variabler i studien. Ulikheter i beitebruk hos besetningene vil kunne gi utslag på prevalensen av GIN, spesielt på høstprøvene. Dette er tatt for seg under diskusjonsdelen.

Begrensninger ved studien

Studiet vårt er lite; med for få studieenheter og for lite studieutvalg til å kunne trekke noen klare konklusjoner. De praktiske forholdene gjorde at vi måtte selektere besetninger, og uten et tilfeldig utvalg lar det seg ikke gjøre å generalisere resultatene våre. Likevel vil resultatene kunne tillegges praktisk betydning, så lenge de blir brukt på riktig måte.

Intern validitet defineres som gyldigheten av funnene innad i studieutvalget (se tabell 5). For delmål 1 vil vi si at den interne validiteten er god. Likevel har vi et par systematiske feil som trekker validiteten ned. Først og fremst slo vi sammen prøvene til bulker på 5- og 5 slik at vi fikk et gjennomsnittlig egg tall. Som tidligere nevnt får vi dermed ingen informasjon om eventuelle ekstremverdiers påvirkning på egg tallet, slik at eventuelle tilfeldige feil ikke blir

oppdaget. Fordi vår målsetning var å påvise forekomst i en grov-inndelt kvalitativ skala, mener vi at vi har tatt hensyn til denne systematiske feilen.

Videre vil måten prøvemateriale ble behandlet på før og under oppsett av larvekulturene mulig utgjøre en systematisk feil. Prøvene ble tatt til ulike tidspunkt og det ble dermed variasjon i hvor lenge prøvene ble oppbevart før de ble behandlet videre og analysert.

Vi klarte ikke å påvise (/i kun svært sparsomme mengder) DNA fra *H. contortus* eller strongylider fra høstprøvene til besetning 4, 12, 13 og 14 til tross for at vårprøver og egg tall indikerer at begge deler bør være til stede i mye høyere konsentrasjoner (se vedlegg 4). Det har trolig skjedd noe galt med larvekulturen fra disse prøvene. Årsaken er ikke identifisert, men trolig har miljøforhold og varighet fra prøvetaking frem til analyse vært viktige faktorer. *H. contortus* er svært mottakelig for kulde og uttørking sammenlignet med andre Strongylidearter (O'Connor et al., 2006); antall levedyktige uembryonerte egg i avføring etter oppbevaring i 4°C reduseres til under 1% i løpet av åtte dager. Lang oppbevaring i kjøleskapstemperatur vil dermed kunne påvirke prøvene, og føre til at et lavere antall *H. contortus* utvikles i larvekultur. Larvekulturene ble oppbevart i kjøleskapstemperatur frem til videre analyse. Også under slike forhold har L3 av *H. contortus* lavere evne til å overleve enn andre Strongylidearter (O'Connor et al., 2006).

Vi brukte en fastsatt mengde fekalt materiale til larvekultur og DNA-ekstraksjon, istedenfor et fastsatt nummer av allerede karakteriserte L3. Det vil si at mengden L3 av *H. contortus* i prøvene er ukjent. Det er dog tidligere undersøkt av kvantiteten ikke er av betydning for resultatene, så lenge prøvene inneholder en tilstrekkelig mengde DNA (Baltrušis et al., 2020a). Prøvene som inneholdt for lite DNA, ble i dette studiet oppkonsentrert, og validiteten

ble dermed styrket. Vi reduserte muligheten for kontaminering ved å bruke negative og positive kontroller. I tillegg brukte vi ddPCR-teknologi, som har høy nøyaktighet, allsidighet og reduserer behovet for standarder/referanser til sammenligning med qPCR (Hindson et al., 2011).

Ekstern validitet for delmål 1, altså hvor korrekte resultatene våre er for studiepopulasjonen (se tabell 5) er ikke optimal. Vi har et seleksjonsbias hvor vi har gjort en systematisk forskjell mellom studieutvalget og studiepopulasjonen, ved at vi spesifikt har valgt ut besetninger hvor vi forventer å finne en høyere forekomst av *H. contortus*. Vi har tidligere i oppgaven spekulert i at vi kan anta at *H. contortus* finnes hos en del øvrige besetninger i Øvre Telemark og Bø, men trolig ikke alle. På grunn av mangelfull ekstern validitet kan vi ikke trekke slutninger angående forekomst i studiepopulasjonen eller referansepopulasjonen. Av samme grunn er ikke resultatene heller generaliserbare.

Den interne validiteten for delmål 2 er god. Resultatene våre er uniforme og det er god grunn til å anta at de øvrige *H. contortus*-larvene til de 10 prøvetatte sauene fra hver besetning også innehar en høy prevalens av F200Y-mutasjonen. En mulig systematisk feil er at vi har et annet villtype-allel i vårt område enn det som er brukt som sensitiv kontroll i forsøket. Som tidligere nevnt har *H. contortus* blitt sekvensert i Sverige uten funn av nye alleliske varianter (Baltrušis et al., 2018). Genotyping av våre *H. contortus* vil allikevel være neste steg for å utelukke en mulig systematisk feil.

Vi synes det er rimelig å anta at F200Y er utbredt hos *H. contortus* hos øvrige dyr i de utvalgte besetningene våre. Den eksterne validiteten for studiepopulasjonen vår i delmål 2 er dermed god. Derimot skal vi, på lik linje med den eksterne validiteten for delmål 1, være

forsiktige med å trekke konklusjoner for øvrige besetninger i Øvre Telemark og Bø, nettopp fordi vi ikke har gjort et tilfeldig utvalg. Fordi prevalensen av F200Y-mutasjonen var 88,6-100% vil det derimot ikke være helt feil å anta at denne mutasjonen høyst sannsynlig er relativt utbredt ellers i området. Som for delmål 1, kan vi heller ikke med resultatene til delmål 2 trekke konklusjoner utover vår referansepopulasjon.

Konklusjon

I denne studien har vi påvist tilstedeværelsen av *H. contortus* hos 15 av 16 utvalgte besetninger i Øvre Telemark og Bø. Det ble påvist signifikante forskjeller i egg per gram avføring mellom besetningene i området ($p=0,0002$). Epg *H. contortus* var signifikant høyere hos besetningene <450 moh. ($p=0,0047$), og prosentandelen *H. contortus* utgjorde av totalt strongylideegg var høyere om våren enn om høsten ($p=0,028$). Påvisningen ble gjort fra feltprøver tatt fra april til oktober 2021, ved bruk av ddPCR, med en probe for *H. contortus* og en universal-probe for øvrige Strongylider. I tillegg har vi brukt ddPCR for å fastslå frekvensen av den vanligst forekommende SNP'en i isotype-1-tubulin-genet som er assosiert med BZ-R hos *H. contortus*. F200Y-mutasjonen ble detektert hos gjennomsnittlig 99,25% av *H. contortus* i prøvene ($p=<0,0001$). Dette tyder på genotypisk BZ-R hos de utvalgte besetningene, gitt at det foreligger kausalitet og ikke bare korrelasjon mellom F200Y og BZ-R. Videre forskning kreves for å verifisere at forekomsten av F200Y-mutasjonen gir fenotypisk resistens hos *H. contortus*.

Takk til bidragsyttere

Vi vil gjerne takke våre veiledere Snorre Stuen, Ian Woolsey og Lucy Robertson for all hjelp, støtte og gode tilbakemeldinger underveis i arbeidet med oppgaven. Vi ønsker også å rette vi en stor takk Maiken Gravdal for uvurderlig hjelp med lab-arbeid og gode samtaler, og Marit Jørgensen Bakke for veiledning og gode tilbakemeldinger. Uten hjelp fra Solfrid Nevland, Siri B. Hamre og Anita Kvammen, som stilte opp når vi trengte det, hadde ikke alle prøver blitt analysert. Øvrige ansatte ved Parasittologen på NMBU Veterinærhøgskolen fortjener også en takk for tålmodighet med oss studenter gjennom laboratoriearbeidet. Planlegging og gjennomføring av dette studiet hadde vært vanskelig uten gode innspill og bistand fra lokale veterinærer ved Seljord Veterinærkontor AS. Dette har vært en uvurderlig hjelp for oss. Vi ønsker også å takke Inger Sofie Hammes og Lisbeth Hektoen for deres funksjon som levende oppslagsverk. Sist, men ikke minst; uten dyktige og samarbeidsvillige bønder hadde ikke prosjektet vært mulig å gjennomføre. Vi er svært takknemlige for at involverte bønder har stilt sin besetning til disposisjon. Til tross for en hektisk arbeidshverdag har de bidratt med å svare på spørreundersøkelser, fylt ut skjemaer og bidratt med prøvetaking og innsending. Vi setter utrolig stor pris på all hjelp vi har fått.

Summary

Title: *Haemonchus contortus* in selected sheep flocks in Upper Telemark and Bø; how common is the F200Y-mutation?

Authors: Frida Egner and Tora Veum

Supervisors: Snorre Stuen, Lucy Robertson and Ian Woolsey, Department of Food Animal Medicine and Department of Paraclinical Sciences.

Anthelmintic resistance in roundworms is increasing worldwide, and in Norway. The blood sucking worm, *Haemonchus contortus*, has an increasing prevalence and is an important cause of clinical disease and production losses in sheep. The parasite has unique qualities for development of resistance, and because we have a limited number of anthelmintic drugs with indication and approval, the development of resistance poses a major threat. Research and knowledge are necessary to confirm *H. contortus* prevalence and resistance in Norway. McMaster and droplet digital PCR (ddPCR) were used to detect the presence of *H. contortus* in 16 selected sheep herds in Upper Telemark and Bø. Furthermore, ddPCR was used to map the presence of the F200Y-mutation in the isotype-1-beta-tubulin gene associated with benzimidazole resistance in *H. contortus*. *H. contortus* was detected in 15 of the 16 sheep herds with significant differences in eggs per grams of feces (epg) between the herds in the area ($p=0,0002$). Epg *H. contortus* was significantly higher in the herds at lower altitude (<450 meters above sea level) ($p=0,0047$), and the percentage of *H. contortus* was higher in the spring samples than in the autumn samples ($p=0,028$). The F200Y-mutation was detected in an average of 99,25% of *H. contortus* samples ($p<0,0001$). The high frequency of F200Y may indicate a high potential for development of phenotypical resistance in the area. Further investigations in the area are needed.

Referanser

- Abbott, K., Taylor, M. & Stubbings, L. (2007). *Sustainable worm control strategies for sheep. A Technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisors. SCOPS.*
- Abongwa, M., Martin, R. J. & Robertson, A. P. (2017). A brief review on the mode of action of antinematodal drugs. *Acta Veterinaria*, 67 (2): 137-152. doi: doi:10.1515/acve-2017-0013.
- Akkari, H., Hajaji, S., B'chir, F., Rekek, M. & Gharbi, M. (2016). Correlation of polyphenolic content with radical-scavenging capacity and anthelmintic effects of *Rubus ulmifolius* (Rosaceae) against *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol*, 221: 46-53. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.03.007.
- Albuquerque, A. C. A., Bassetto, C. C., Almeida, F. A., Hildersley, K. A., McNeilly, T. N., Britton, C. & Amarante, A. F. T. (2019). Differences in immune responses to *Haemonchus contortus* infection in the susceptible Ile de France and the resistant Santa Ines sheep under different anthelmintic treatments regimens. *Veterinary Research*, 50 (1): 104. doi: 10.1186/s13567-019-0722-3.
- Alowanou, G. G., Azando, E. V. B., Adenilé, A. D., Koudandé, D. O., Chrysostome, C. A. M. & Hounzangbé-Adoté, S. M. (2019). Evaluation of the in vivo anthelmintic properties of *Mitragyna inermis* (Willd.) as a livestock dewormer against parasitic hematophagous worm *Haemonchus contortus* infections in different breeds of lambs. *Trop Anim Health Prod*, 52 (1): 309-319. doi: 10.1007/s11250-019-02014-w.
- Animalia. (2012). *Bærekraftig håndtering av rundorm hos sau -kontroll og forebygging av anthelmintikaresistens*. Tilgjengelig fra: <https://legemiddelverket.no/Documents/Veterinærmedisin/Terapi/befalinger/Bærekraftig%20håndtering%20av%20rundorm%20hos%20sau.pdf> (lest 10.01.2022).
- Animalia. (2020a). *Anbefalinger for håndtering av parasitter hos sau*. Tilgjengelig fra: https://www.animalia.no/contentassets/8f2f83700d674be8a3b99459cf78f332/animalia_brosjyre_parasittanbefalinger_2021_ferdig_web.pdf (lest 04.02.22).
- Animalia. (2020b). *Parasittmidler*. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/sauehelsenett/terapi/parasittmidler/> (lest 10.01.2022).

Animalia. (2021a). *Haemonchus contortus* (blodsugende løpeorm). Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/sauehelsenett/sjukdommer/fordoyelseskanalen/haemonchus-contortus-blodsugende-lopeorm/> (lest 10.01.2022).

Animalia. (2021b). *Resistens mot parasittmidler*. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/sauehelsenett/diagnostikk/resistens-mot-parasittmidler/> (lest 10.01.2022).

Animalia. (2021c). *Store leverikter*. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/sau/aktuelt---sau/store-leverikter/> (lest 10.01.2022).

Araújo, S. A., Soares, A. M. D. S., Silva, C. R., Almeida Júnior, E. B., Rocha, C. Q., Ferreira, A. T. d. S., Perales, J. & Costa-Júnior, L. M. (2017). In vitro anthelmintic effects of *Spigelia anthelmia* protein fractions against *Haemonchus contortus*. *PLoS One*, 12 (12): e0189803-e0189803. doi: 10.1371/journal.pone.0189803.

Arsenopoulos, K. V., Fthenakis, G. C., Katsarou, E. I. & Papadopoulos, E. (2021). Haemonchosis: A Challenging Parasitic Infection of Sheep and Goats. *Animals*, 11 (2): 363.

Baltrušis, P., Halvarsson, P. & Höglund, J. (2018). Exploring benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* by next generation sequencing and droplet digital PCR. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 8 (3): 411-419. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2018.09.003>.

Baltrušis, P., Halvarsson, P. & Höglund, J. (2020a). Utilization of droplet digital PCR to survey resistance associated polymorphisms in the β tubulin gene of *Haemonchus contortus* in sheep flocks in Sweden. *Veterinary Parasitology*, 288: 109278. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109278>.

Baltrušis, P., Komáromyová, M., Várady, M., von Samson-Himmelstjerna, G. & Höglund, J. (2020b). Assessment of the F200Y mutation frequency in the β tubulin gene of *Haemonchus contortus* following the exposure to a discriminating concentration of thiabendazole in the egg hatch test. *Experimental Parasitology*, 217: 107957. doi: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107957>.

Beasley, A. M., Kahn, L. P. & Windon, R. G. (2010). The periparturient relaxation of immunity in Merino ewes infected with *Trichostrongylus colubriformis*:

- Parasitological and immunological responses. *Veterinary Parasitology*, 168 (1): 60-70. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.08.028>.
- Besier, R. B., Kahn, L. P., Sargison, N. D. & Van Wyk, J. A. (2016). The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of *Haemonchus contortus* Infection in Small Ruminants. *Adv Parasitol*, 93: 95-143. doi: 10.1016/bs.apar.2016.02.022.
- BIO-RAD. (u.å.). *Droplet Digital PCR, Applications Guide*. Tilgjengelig fra: https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_6407.pdf (lest 15.12.2021).
- Bolukbas, C. S., Gurler, A. T., Beyhan, Y. E., Acici, M. & Umut, S. (2012). Helminths of roe deer (*Capreolus capreolus*) in the Middle Black Sea Region of Turkey. *Parasitology International*, 61 (4): 729-730. doi: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2012.06.008>.
- Brik, K., Hassouni, T., Elkharrim, K. & Belghyti, D. (2019). A survey of *Haemonchus contortus* parasite of sheep from Gharb plain, Morocco. *Parasite Epidemiology and Control*, 4: e00094. doi: <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2019.e00094>.
- Cerutti, M. C., Citterio, C. V., Bazzocchi, C., Epis, S., D'Amelio, S., Ferrari, N. & Lanfranchi, P. (2010). Genetic variability of *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongyloidea) in alpine ruminant host species. *J Helminthol*, 84 (3): 276-83. doi: 10.1017/s0022149x09990587.
- Coadwell, W. J. & Ward, P. F. V. (1982). The use of faecal egg counts for estimating worm burdens in sheep infected with *Haemonchus contortus*. *Parasitology*, 85 (2): 251-256. doi: 10.1017/S0031182000055220.
- Constable, P., Hinchcliffe, K. W., Done, S. H. & Grünberg, W. (2017). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 11 utg. St. Louis: Elsevier.
- Courtney, C. H., Parker, C. F., McClure, K. E. & Herd, R. P. (1984). A comparison of the periparturient rise in fecal egg counts of exotic and domestic ewes. *International Journal for Parasitology*, 14 (4): 377-381. doi: [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(84\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0020-7519(84)90092-4).
- Craig, T. M. (2009). CHAPTER 22 - Helminth Parasites of the Ruminant Gastrointestinal Tract. I: Anderson, D. E. & Rings, D. M. (red.) *Food Animal Practice (Fifth Edition)*, s. 78-91. Saint Louis: W.B. Saunders.

- Delano, M. L., Mischler, S. A. & Underwood, W. J. (2002). Chapter 14 - Biology and Diseases of Ruminants: Sheep, Goats, and Cattle. I: Fox, J. G., Anderson, L. C., Loew, F. M. & Quimby, F. W. (red.) *Laboratory Animal Medicine (Second Edition)*, s. 519-614. Burlington: Academic Press.
- Domke, A. V. M., Chartier, C., Gjerde, B. & Stuen, S. (2012). Benzimidazole resistance of sheep nematodes in Norway confirmed through controlled efficacy test. *Acta Vet Scand*, 54 (1): 48-48. doi: 10.1186/1751-0147-54-48.
- Domke, A. V. M., Chartier, C., Gjerde, B., Leine, N., Vatn, S. & Stuen, S. (2013). Prevalence of gastrointestinal helminths, lungworms and liver fluke in sheep and goats in Norway. *Vet Parasitol*, 194 (1): 40-48. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.12.023.
- Elanco, G. (2014). *Zolvix, production details*. Tilgjengelig fra: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zolvix-epar-product-information_en.pdf (lest 03.02.2022).
- Elmahalawy, S. T., Halvarsson, P., Skarin, M. & Höglund, J. (2018). Droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) as a novel method for absolute quantification of major gastrointestinal nematodes in sheep. *Veterinary Parasitology*, 261: 1-8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.07.008>.
- Emery, D. L., Hunt, P. W. & Le Jambre, L. F. (2016). *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? *International Journal for Parasitology*, 46 (12): 755-769. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.07.001>.
- Falzon, L. C., O'Neill, T. J., Menzies, P. I., Peregrine, A. S., Jones-Bitton, A., vanLeeuwen, J. & Mederos, A. (2014). A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. *Prev Vet Med*, 117 (2): 388-402. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.07.003.
- Fiss, L., de Lourdes Adrien, M., Marcolongo-Pereira, C., Assis-Brasil, N. D., Sallis, E. S., Riet-Correa, F., Ruas, J. L. & Schild, A. L. (2013). Subacute and acute fasciolosis in sheep in southern Brazil. *Parasitol Res*, 112 (2): 883-7. doi: 10.1007/s00436-012-3096-2.
- Gjerde, B. (2011). *Veterinærmedisinsk helmintologi*. 19 utg. Tilgjengelig fra: <http://bk.gjerde.name/index.php/component/phocadownload/file/110-helmintologi-2011> (lest 10.12.2021).

- Hamnes, I. S. & Hektoen, L. (2016). Kartlegging av parasitter hos søyer i lammingsperioden. *Sau og Geit*, 5.
- Hektoen, L. (2015). Import av lama og alpakka. *Sau og Geit*, 2.
- Hindson, B. J., Ness, K. D., Masquelier, D. A., Belgrader, P., Heredia, N. J., Makarewicz, A. J., Bright, I. J., Lucero, M. Y., Hiddessen, A. L., Legler, T. C., et al. (2011). High-Throughput Droplet Digital PCR System for Absolute Quantitation of DNA Copy Number. *Analytical Chemistry*, 83 (22): 8604-8610. doi: 10.1021/ac202028g.
- Hosseini, S. H., Khazraiiinia, P., Zaeemi, M. & Nematollahi, A. (2012). A comparative study on clinical pathology changes in experimentally infected sheep with active and arrested larvae of *Haemonchus contortus*. *Comparative Clinical Pathology*, 21 (3): 321-326. doi: 10.1007/s00580-010-1099-x.
- Högberg, N., Baltrušis, P., Enweji, N. & Höglund, J. (2022). Assessment of three DNA extraction kits for the absolute quantification of strongyle nematode eggs in faecal samples. *Acta Vet Scand*, 64 (1): 5. doi: 10.1186/s13028-022-00624-3.
- Höglund, J., Carlsson, A. & Gustafsson, K. (2021). Effects of lambing season on nematode faecal egg output in ewes. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 26: 100633. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100633>.
- Idland, L., Juul, A. M., Solevåg, E. K., Tysnes, K. R., Robertson, L. J. & Utaaker, K. S. (2021). Occurrence of faecal endoparasites in reindeer (*Rangifer tarandus*) in two grazing areas in northern Norway. *Acta Vet Scand*, 63 (1): 13. doi: 10.1186/s13028-021-00578-y.
- Kaplan, R. M. & Vidyashankar, A. N. (2012). An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *Vet Parasitol*, 186 (1-2): 70-8. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.11.048.
- Khan, F. A., Sahoo, A. & Karim, S. A. (2017). Moderate and high levels of dietary protein on clinico-biochemical and production responses of lambs to repeated *Haemonchus contortus* infection. *Small ruminant research*, 150: 52-59. doi: 10.1016/j.smallrumres.2017.03.009.
- Kho, E. A., Fernandes, J. N., Kotze, A. C., Fox, G. P., Sikulu-Lord, M. T., Beasley, A. M., Moore, S. S. & James, P. J. (2020). Influence of environmental factors on

- the detection of blood in sheep faeces using visible-near-infrared spectroscopy as a measure of *Haemonchus contortus* infection. *Parasit Vectors*, 13 (1): 591. doi: 10.1186/s13071-020-04468-6.
- Kultscher, L., Hinney, B., Schmäschke, R., Joachim, A. & Wittek, T. (2019). Current anthelmintic treatment is not always effective at controlling strongylid infections in German alpaca herds. *Parasites & Vectors*, 12 (1): 330. doi: 10.1186/s13071-019-3588-3.
- Kuzmina, T., Kharchenko, V. & Malega, A. (2010). Helminth Fauna of Roe Deer (*Capreolus Capreolus*) in Ukraine: Biodiversity and Parasite Community. *Vestnik zoologii*, 44: 15-22. doi: 10.2478/v10058-010-0002-1.
- Kwa, M. S. G., Veenstra, J. G. & Roos, M. H. (1994). Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in β -tubulin isotype 1. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 63 (2): 299-303. doi: [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(94\)90066-3](https://doi.org/10.1016/0166-6851(94)90066-3).
- Mann, H. B. & Whitney, D. R. (1947). On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. *The Annals of Mathematical Statistics*, 18 (1): 50-60, 11.
- McRae, K. M., McEwan, J. C., Dodds, K. G. & Gemmell, N. J. (2014). Signatures of selection in sheep bred for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes. *BMC Genomics*, 15 (1): 637. doi: 10.1186/1471-2164-15-637.
- Mohammedsalih, K. M., Krücken, J., Khalafalla, A., Bashar, A., Juma, F. R., Abakar, A., Abdalmalaik, A. A. H., Coles, G. & von Samson-Himmelstjerna, G. (2020). New codon 198 β -tubulin polymorphisms in highly benzimidazole resistant *Haemonchus contortus* from goats in three different states in Sudan. *Parasit Vectors*, 13 (1): 114. doi: 10.1186/s13071-020-3978-6.
- Morrison, A. A., Chaudhry, U., Andrews, L., Melville, L., Doyle, S. R., Sargison, N. D. & Bartley, D. J. (2022). Phenotypic and genotypic analysis of benzimidazole resistance in reciprocal genetic crosses of *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 18: 1-11. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2021.11.001>.
- Muchiut, S. M., Fernández, A. S., Steffan, P. E., Riva, E. & Fiel, C. A. (2018). Anthelmintic resistance: Management of parasite refugia for *Haemonchus*

- contortus through the replacement of resistant with susceptible populations. *Vet Parasitol*, 254: 43-48. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.03.004.
- Nisbet, A. J., Meeusen, E. N., González, J. F. & Piedrafita, D. M. (2016). Chapter Eight - Immunity to *Haemonchus contortus* and Vaccine Development. I: Gasser, R. B. & Samson-Himmelstjerna, G. V. (red.) b. 93 *Advances in Parasitology*, s. 353-396: Academic Press.
- Nødtvedt, A. (2021). *Deskriptiv statistikk, forelesning ved NMBU Veterinærgøgskolen* (17.12.2021).
- O'Connor, L. J., Walkden-Brown, S. W. & Kahn, L. P. (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet Parasitol*, 142 (1): 1-15. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.08.035.
- O'Connor, L. J., Kahn, L. P. & Walkden-Brown, S. W. (2007). Moisture requirements for the free-living development of *Haemonchus contortus*: Quantitative and temporal effects under conditions of low evaporation. *Vet Parasitol*, 150 (1): 128-138. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.07.021.
- Odden, A., Ersdal, C. & Phythian, C. (2019). Ivermektin-resistens i en sauebesetning i Rogaland med påvist haemonchose. (Ivermectin resistance in a flock with clinical haemonchosis).
- Ōmura, S. & Shiomi, K. (2007). Discovery, chemistry, and chemical biology of microbial products. *Pure and Applied Chemistry*, 79 (4): 581-591. doi: doi:10.1351/pac200779040581.
- Patil, B. S., Jayaprakasha, G. K., Chidambara Murthy, K. N. & Vikram, A. (2009). Bioactive Compounds: Historical Perspectives, Opportunities, and Challenges. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (18): 8142-8160. doi: 10.1021/jf9000132.
- Rinaldi, L., Catelan, D., Musella, V., Cecconi, L., Hertzberg, H., Torgerson, P. R., Mavrot, F., De Waal, T., Selemetas, N., Coll, T., et al. (2015). *Haemonchus contortus*: spatial risk distribution for infection in sheep in Europe. *Geospat Health*, 9 (2): 325-331. doi: 10.4081/gh.2015.355.
- Rocha, R. A., Amarante, A. F. T. & Bricarello, P. A. (2004). Comparison of the susceptibility of Santa Inês and Ile de France ewes to nematode parasitism around parturition and during lactation. *Small Ruminant Research*, 55 (1): 65-75. doi: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.12.004>.

- Rose, H., Caminade, C., Bolajoko, M. B., Phelan, P., van Dijk, J., Baylis, M., Williams, D. & Morgan, E. R. (2016). Climate-driven changes to the spatio-temporal distribution of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*, in sheep in Europe. *Glob Chang Biol*, 22 (3): 1271-85. doi: 10.1111/gcb.13132.
- Rossanigo, C. E. & Gruner, L. (1995). Moisture and temperature requirements in faeces for the development of free-living stages of gastrointestinal nematodes of sheep, cattle and deer. *Journal of Helminthology*, 69 (4): 357-362. doi: 10.1017/S0022149X00014954.
- Santos, M. C., Silva, B. F. & Amarante, A. F. T. (2012). Environmental factors influencing the transmission of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 188 (3): 277-284. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.056>.
- Sargison, N. D., Wilson, D. J., Bartley, D. J., Penny, C. D. & Jackson, F. (2007). Haemonchosis and teladorsagiosis in a Scottish sheep flock putatively associated with the overwintering of hypobiotic fourth stage larvae. *Veterinary Parasitology*, 147 (3): 326-331. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.04.011>.
- Sayers, G. & Sweeney, T. (2005). Gastrointestinal nematode infection in sheep – a review of the alternatives to anthelmintics in parasite control. *Animal Health Research Reviews*, 6 (2): 159-171. doi: 10.1079/AHR2005108.
- Scott, E. W., Baxter, P. & Armour, J. (1991). Fecundity of anthelmintic resistant adult *Haemonchus contortus* after exposure to ivermectin or benzimidazoles in vivo. *Research in Veterinary Science*, 50 (2): 247-249. doi: [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(91\)90117-7](https://doi.org/10.1016/0034-5288(91)90117-7).
- Sréter, T., Molnár, V. & Kassai, T. (1994). The distribution of nematode egg counts and larval counts in grazing sheep and their implications for parasite control. *International Journal for Parasitology*, 24 (1): 103-108. doi: [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(94\)90063-9](https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)90063-9).
- Steel, J. W. (2003). Effects of protein supplementation of young sheep on resistance development and resilience to parasitic nematodes. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 43 (12): 1469-1476. doi: <https://doi.org/10.1071/EA03004>.

Takara Bio USA, I. (2016). *Genomic DNA from stool samples*. Tilgjengelig fra:

https://www.takarabio.com/documents/User%20Manual/NucleoSpin%20DNA%20Stool%20Genomic%20DNA%20Purification%20User%20Manual/NucleoSpin%20DNA%20Stool%20Genomic%20DNA%20Purification%20User%20Manual_Rev_01.pdf (lest 10.12.2021).

Torres-Acosta, J. F. J. & Hoste, H. (2008). Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 77 (2): 159-173. doi:

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.03.009>.

Troell, K., Waller, P. & Höglund, J. (2005). The development and overwintering survival of free-living larvae of *Haemonchus contortus* in Sweden. *J Helminthol*, 79 (4): 373-9. doi: 10.1079/joh2005286.

van Wyk, J. A., Hoste, H., Kaplan, R. M. & Besier, R. B. (2006). Targeted selective treatment for worm management—How do we sell rational programs to farmers? *Veterinary Parasitology*, 139 (4): 336-346. doi:

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.04.023>.

Veterinærinstituttet. (u.å.-a). *Haemonchose - infestasjon med blodsugende løpeorm*.

Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/haemonchose--infestasjon-med-blodsugende-lopeorm> (lest 04.01.2022).

Veterinærinstituttet. (u.å.-b). *Kameldyr*. Tilgjengelig fra:

<https://www.vetinst.no/dyr/kameldyr> (lest 02.02.2022).

Veum, T. (2021). *Samtale med lokale veterinærer og bønder* (01.06.22).

Waller, P. J., Rudby-Martin, L., Ljungström, B. L. & Rydzik, A. (2004). The epidemiology of abomasal nematodes of sheep in Sweden, with particular reference to over-winter survival strategies. *Veterinary Parasitology*, 122 (3): 207-220. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.04.007>.

Williams, A. R., Greeff, J. C., Vercoe, P. E., Dobson, R. J. & Karlsson, L. J. E. (2010). Merino ewes bred for parasite resistance reduce larval contamination onto pasture during the peri-parturient period. *Animal*, 4 (1): 122-127. doi:

<https://doi.org/10.1017/S1751731109990802>.

Woolaston, R. R. & Baker, R. L. (1996). Prospects of breeding small ruminants for resistance to internal parasites. *International Journal for Parasitology*, 26 (8): 845-855. doi: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(96\)80054-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)80054-3).

Vedlegg 1: Spørreundersøkelse og parasittbehandlinger

Besetning	Rase	Lammingsdato	Behandlingsdato	Anthelmintika	Behandlet
1	Spæl ⁹	12/4-12/5	7/6	Panacur	21-, 20- og 19-modeller Tynne eldre søyer
2	NKS ¹⁰	20/4-10/5	6/9	Ivomec	Alle
3	NKS	17/4-16/5	1/11 2020	Valbazen	Voksne
			9/6	Panacur	Lam/gimre
4	Spæl	18/4-15/5	1/6	Ivermax	Lam
6	Suffolk	26/4-17/5	5-20/6	Ivomec	Alle
7	NKS	18/4-20/5	5/6	Valbazen	Alle
			10/8	Valbazen	Enkeltindivider
8	NKS/Spæl	10/4-15/4	9/5	Valbazen	Voksne
			12/6	Valbazen	Alle
9	NKS	15/4-15/5	Ved lamming	Valbazen	Voksne
			10/6		Lam
11	Spæl	24/4-15/5	4-12/6	Valbazen	Lam
			Høst 2021		Værer
			Ved lamming	Panacur/Ivermax	Alle voksne
12	Spæl	17/4-17/5	20/6	Ivermax	Lam: 5 stk
			Juni	Ivermax	Kopplam
			4/8	Ivermax	Kopplam, 2 søyer med lam på hjemmebeite
13	Spæl	20/4-15/5	12/6	Ivomec	Lam og åringer
			25/7	Ivomec	Hjemmelam
14	Spæl	15/4	5/6	Ivomec	Søyer
			23/8	Ivomec	Alle
			26/9	Ivomec	Lam og 2 søyer
15			Høst 2020		Påsettlam og 2 søyer
			Ingen behandling 2021		
16	NKS	15/4	-	-	-
17	Spæl	18/4-10/5		BZ	
			22/5	Ivomec	Lam/sau
18	Blæset ¹¹	16/4	15/6	Valbazen	Lam

⁹ Spælsau¹⁰ Norsk kvit sau¹¹ Blæset sau

Vedlegg 2: Slik tar du avføringsprøver, og samtykkeskjema

Uttak/framgangsmåte:

1. Når? Mellom 26-28/5. Om ikke dette passer - ta kontakt med oss.
2. Hvor: ta prøvene direkte fra endetarmen til sauene.
3. Hvem: 1- og 2-åring.
4. Antall: 10 stk tilfeldige søyer.
5. Bruk engangshanske. Litt glidemiddel kan brukes (men ikke parafin).
6. Mengde: ca. 3 ss.
7. Vreng hansken, **klem ut all luft**, og knyt igjen.
8. Legg hansken i en liten zip-pose. Skriv individnummer på posen.
9. Legg alle 10 prøvene i en stor zip-pose. Skriv navnet ditt og dato på posen.
10. Oppbevaring: mørkt og i rom/kjøleskapstemperatur. Skal ikke fryses.

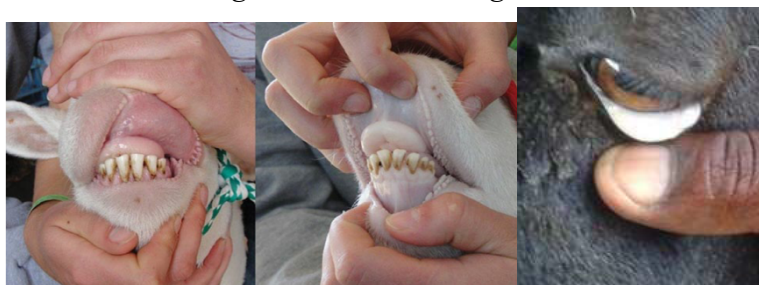
Vi kommer og henter prøvene mellom 28-30/5. Mer detaljert tidspunkt avtales når det nærmer seg.

Dersom du har sauer med kliniske symptomer på løpeorm (se nedenfor) vil vi veldig gjerne ta avføringsprøver fra disse også - i tillegg kan vi ta blodprøver for å vurdere alvorligheten av sykdommen/parasittinfeksjonen. Søylene må i så fall stå innendørs når vi kommer, dersom vi skal ha muligheten til dette.

Sykdomstegn på løpeorm:



Bilde nummer 1 og 2: Væskeansamling under haka.



1: Normale slimhinner hos sau. 2: Bleke munnslimhinner (tegn på blodmangel). 3: Bleke øyeslimhinner (tegn på blodmangel).

Andre sjukdomstegn: svekkelse, vekttap, redusert melkeproduksjon, død.

Ved spørsmål; ring Tora (93816750) eller Frida (91117540).

Samtykkeskjema

Formålet med prosjektet

Undersøkelse av forekomst og evt. resistensutvikling hos løpeorm (*Haemonchus contortus*) på sau i Øvre Telemark.

Prosjektgruppa:

- **Fordypningsstudenter:** Frida Egner og Tora Veum
- **Hovedveileder:** Snorre Stuen
- **Medveiledere:** Lucy Robertson og Ian Woolsey.
- **Involverte:** Prosjektet er knyttet til nasjonalt prosjekt (ARTIST) støttet av Forskningsrådet. Involverte parter er: NMBU, veiledere, Marit Jørgensen Bakke, Ane Nødtvedt og Animalia.

Tidsperiode prosjekt: Januar 2021 – Desember 2021

Hva får du som produsent?

- Tilsendt prøvetakningsutstyr kostnadsfritt i posten
- Gratis henting og analyse av avføringsprøver våren og høsten 2021.
- Råd og oppfølging dersom parasitten påvises.
- Evt. videre prøvetakning av klinisk syke dyr, dersom du har det.

Hva må du gjøre?

- Ta ut avføringsprøver etter beskrivelsen gitt over.
- Oppbevarer prøvene som angitt frem til vi kommer og henter dem.
- Avtaler et tidspunkt vi kan komme og hente prøvene hos deg.
- Holde klinisk syke dyr innendørs når vi kommer for videre prøvetakning.

Tilbakemelding og resultater:

Du vil som produsent få tilbakemelding på om du har en infeksjon hos søyene dine ilt. kort tid etter prøvene er sendt til analyse. Resistensundersøkelsen tar derimot lengre tid og resultatene er trolig ikke klar før på høsten.

Takk for hjelpen og for at du stiller dyr til disposisjon for prosjektet!

Navn produsent: _____

_____ (dato og sted) _____ (underskrift)

Ved å skrive under på dette dokumentet erkjenner jeg hva som kreves av meg som produsent i forbindelse med denne fordypningsoppgaven, og at jeg ønsker å delta i prosjektet.

Vedlegg 3: Slik tar du avføringsprøve av lam, og parasittbehandling i besetningen

Uttak/framgangsmåte:

1. Når? Før behandling / i forbindelse med behandling i høst. Se nedenfor.
2. Hvem: årslam
3. Antall: 10 stk tilfeldige lam.
4. Hvor: ta prøvene direkte fra endetarmen til lammene. Bruk vedlagt prøvetakingsskje som føres inn i endetarm. Litt glidemiddel kan brukes (ikke parafin).
5. Mengde: så mye som mulig.
6. Putt avføring i en liten zip-pose, klem ut all luft og lukk. Skriv individnummer på posen.
7. Legg alle 10 prøvene i en stor zip-pose. Skriv navnet ditt og dato på posen.
8. Oppbevaring: mørkt og i rom/kjøleskapstemperatur. Skal ikke fryses.

Når?

Vi kjører innsamling i uke 37 og henter hos alle som ønsker det. Ta kontakt dersom dere også ønsker at vi skal bidra med selve prøvetakingen. Om dere tar prøvene utenom denne uka/heller ønsker å sende per post kan ferdigfrankert returkonvolutt (medsendt) benyttes. Gjerne send oss en mld/mail slik at vi vet når prøvene kommer.

Kliniske symptomer hos lam

Dersom du har lam med kliniske symptomer på løpeorm (se nedenfor) vil vi veldig gjerne ha avføringsprøver fra disse også. Merk isåfall zip-posen med “kliniske symptomer” og individnummer.



1. Diare og redusert tilvekst. 2: Væskeansamling under haka. 3: Bleike slimhinner (tegn på blodmangel).

Ved spørsmål; ring Tora (93816750) eller Frida (91117540).

PS! Husk å fylle ut bakside og returner skjemaet sammen med prøvene.

Parasittbehandling(er) i din besetning 2021

Vi ønsker at alle fyller ut informasjon om alle behandlinger utført hittil i år, da dette er essensielt for tolkning av resultatene.

Ditt navn: _____

	Dato	Parasittmiddel*	Hvilke dyr**
Vår			
Sommer			
Høst			

*Ulike parasittmidler: Panacur, Curaver, Valbazen, Ivomec, Dectomax, Ivermax

**Søyer/lam, alle/utvalgte dyr etc.

Vi ønsker igjen å takke for at dere fortsatt bidrar til dette prosjektet.
Ta kontakt dersom det er noe du lurer på!

Mvh Tora Veum og Frida Egner

Vedlegg 4: Laboratorieresultater

Laboratorieresultater													
Besetningene = nr. 1-18. Grå farge (besetning 5 og 10) = ikke inkludert i materialet i studien på grunn av dårlig kvalitet på innsendt materiale.													
Prøvene: a+b = vår, c+d = høst, eh = ekstraprøver fra enkeltindivider med kliniske symptomer.													
Gjennomsnittlig EPG strongylider for vår og høst under respektive prøvesvar i kolonne B. Samme med %Hae og HaeEPG i kolonne M og N.													
P tatt = dato for prøvetakning, P mottatt = dato for når prøvene ankom laboratoriet med posten.													
Hae = Haemonchus													
Prøve-nr:	EPG	P tatt	P mottatt	% F200Y	ddPCR resistensundersøkelse		ddPCR Haemonchus/strongylide		Konsentreres?*	ddPCR resistensundersøkelse 2		%Hae	HaeEPG
					FAM (Susceptible)	HEX (Resistant)	FAM (Haemonchus)	HEX (Universal)		FAM (Susceptible)	HEX (Resistant)		
1.													
Samleprøve, 1a, vår	1300	22/5	27/05	100	0	1,4	370	612	JA	0	32,6	60,46	786
Samleprøve, 1b, vår	600			100	0	0,8	137	366	JA	0	19	37,43	225
	950											53,19	505
Samleprøve, 1c, høst	750	?	16/09	100	0	4,2	176	560	JA	0	1,1	31,43	236
Samleprøve, 1d, høst	750			100	0	6	258	600	JA	0	11	43,00	323
	750											37,21	279
2.													
Samleprøve, 2a, vår	350	30/5	01/06	99,04	0,18	18,7	798	1525	OK			52,33	183
Samleprøve, 2b, vår	1250			100,00	0	9,9	724	1379	OK			52,50	656
	800											52,46	420
Samleprøve, 2c, høst	1050	06/09	08/09	97,95	0,42	20,5	1102	1503	OK			73,32	770
Samleprøve, 2d, høst	1650			100,00	0	8,6	310	415	JA	0	32,4	74,70	1233
2eh1	5200			99,81	0,09	46,2	1716	2330	OK			73,65	3830
	2100											74,16	1001
	1350												
3.													
Samleprøve, 3a, vår	1250	22/5	26/05	100,00	0	11,1	551	847	JA	0	65,3	65,05	813
Samleprøve, 3b, vår	1050			100,00	0	35,8	1525	2194	OK			69,51	730
	1150											67,09	771
Samleprøve, 3c, høst	950	3/10	05/10	100,00	0	1,9	70,1	1502	NEI			4,67	44
Samleprøve, 3d, høst	100			100,00	0	4,6	399	10400	JA	0	12,3	3,84	4
	525											4,59	48
4.													
Samleprøve, 4a, vår	2650	27/5	01/06	99,78	0,11	50,7	2047	4200	OK			48,74	1292
Samleprøve, 4b, vår	950			100,00	0	14,8	591	890	OK			66,40	631
	1800											53,40	961
Samleprøve, 4c, høst	1350	19/9	21/09	Ikke H	0	0	0,1	527	NEI			0,02	0
Samleprøve, 4d, høst	2850			Ikke H	0	0	0	816	NEI			0,00	0
	2100											0,01	0
5.													
Samleprøve, 5a, vår	400	28/5	01/06		0	8,5	289	421	JA	0	15,4	68,65	275
												68,65	
6.													
Samleprøve, 6a, vår	2050	31/5	01/06	100,00	0	5,8	299	429	JA	0	5,4	69,70	1429
Samleprøve, 6b, vår	4350			100,00	0	7,2	326	499	JA	0	2,2	65,33	2842
	3200											66,73	2135
Samleprøve, 6c, høst	1450	09/10	11/10	99,77	0,44	194	4370	10200	OK			42,84	621
Samleprøve, 6d, høst	2300			99,70	0	0,31	752	4670	JA	0,5	165	16,10	370
	1875											26,44	496
7.													
Samleprøve, 7a, vår	200	28/5	01/06	Ikke H	0	0,01	3,8	10,4	NEI			36,54	73
Samleprøve, 7b, vår	250			100,00	0	5,8	250	326	JA	0	9,8	76,69	192
	550											58,84	132
	225												
Samleprøve, 7c, høst	3300	?	23/09	100,00	0	2,7	103	1291	NEI			7,98	263
Samleprøve, 7d, høst	2100			100,00	0	8,9	362	693	JA	0	20,4	52,24	1097
	5150											25,19	680
7eh1 353/21 glass	2700			100,00	0	4,8	174	339	JA	0	15,9	51,33	
7eh2 353/21 25/10				98,72	0,3	23,4	708	2920	OK			24,25	
73h3					0	10,4	533	1147	OK			46,47	
8.													
Samleprøve, 8a, vår	700	24-25/	29/04	100,00	0	95	2336	4150	OK			56,29	394
Samleprøve, 8b, vår	1200			100,00	0	157	5130	6710	OK			76,45	917
	950											69,02	656
Samleprøve, 8c, høst	950	26/9	28/09	100,00	0	323	5980	10200	OK			58,63	557
Samleprøve, 8d, høst	2550			100,00	0	207	5620	10300	OK			54,56	1391
8eh1	1400				0	0,8	14,5	1155	NEI			1,26	18
	1750											55,67	974
9.													
Samleprøve, 9a, vår	2950	24-25/	29/04	99,47	0,37	70	2190	3710	OK			59,03	1741
Samleprøve, 9b, vår	1650			99,63	0,13	35,4	1540	4360	OK			35,32	583
	2300											50,53	1162
Samleprøve, 9c, høst	1100	06/09	08/09	100,00	0	1,6	58,7	362	JA	0	19,7	16,22	178
Samleprøve, 9d, høst	1250			100,00	0	3,1	140	447	JA	0	41,2	31,32	391
	1175											24,25	285
10.													
Samleprøve, 10a, vår	0	30/5	02/06	Ikke H	0	0	0,08	0,56	NEI			14,29	0
Samleprøve, 10b, vår	0			Ikke H	0	0	0,09	1	NEI			9,00	0
												0,00	0
16.													
Samleprøve, 16a, vår	600	24/04	28/04	97,38	0	3,7	344	6830	JA	0,8	30,5	5,04	30
Samleprøve, 16b, vår	600			98,73	0,9	71	2349	4910	OK			47,84	287
	600											26,44	159
12.													
Samleprøve, 12a, vår	200	03/05	07/05	99,63	0	6,5	195	373	JA	0,48	131	52,28	105

Vedlegg 5 – miljøfaktorer av betydning

Tabellen nedenfor viser besetningenes beliggenhet, hvor mange meter over havet gårdsbruket

ligger, hva slags beite besetningene bruker og egg per gram *H. contortus* funnet i prøvene.

Tabellen er rangert i stigende rekkefølge etter moh.

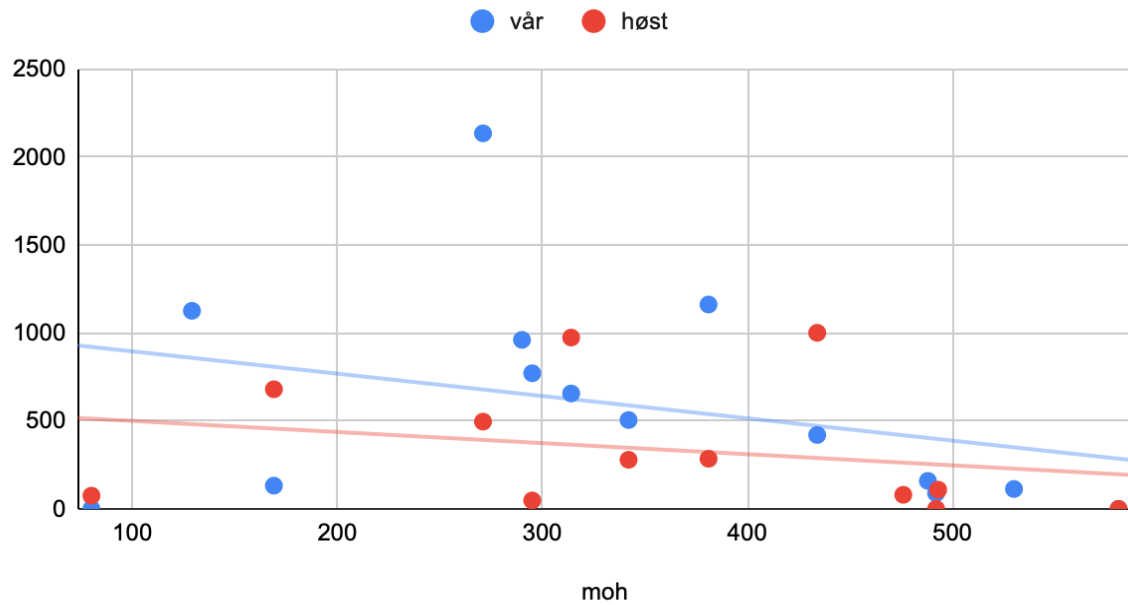
Besetning	Kommune	Beitebruk	MOH ¹²	Vår ¹³	Høst ¹⁴
13	Bø /Hørte	I/U	80	0	75
14	Bø	I	129	1126	
7	Kviteseid	I/U	169	132	680
6	Vrådal	I/U	271	2135	496
4	Fyresdal	I/U	290	961	
3	Fyresdal	I/U	295	771	48
8	Hjartdal	I/U	314	656	974
1	Fyresdal	I/U	342	505	279
9	Hjartdal	I/U	381	1162	285
2	Fyresdal	I	434	420	1001
18	Fyresdal	I/U	476		80
16	Morgedal	I/U	488	159	
15	Kviteseid	I/U	492	89	0
17	Fyresdal	I/U	493		109
12	Vinje	I/U	530	113	
11	Vinje	I/U	581	0	0

¹² Besetningens beliggenhet; meter over havet

¹³ Epg *H. contortus* vårprøver

¹⁴ Epg *H. contortus* høstprøver

EPG *H. contortus* vår og høst etter høydemeter på besetningen



Figuren ovenfor viser synkende trendlinjer i epg *H. contortus* i forhold til besetningenes beliggenhet i høye over havet. Epg *H. contortus* er signifikant lavere hos besetningene som ligger <450 moh. ($p=0,0047$).



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no