DET BIOVIDENSKABELIGE FAKULTET
FOR FØDEVARER, VETERINÆRMEDICIN OG NATURRESSOURCER
KØBENHAVNS UNIVERSITET

IVERMECTINS EFFEKT MOD HESTENS NEMATODER UNDER DANSKE FORHOLD

STUDIER AF FÆKAL ÆGREDUKTION OG EGG REAPPEARANCE PERIOD

Veterinært Speciale 27 ECTS

Mette Lindstrøm Larsen

Afleveret 20. februar 2009

Vejleder: Martin Krarup Nielsen, dyrlæge, PhD
Faggruppe Medicin og Kirurg, Institut for Produktionsdyr og Heste

SAMMENDRAG

Anthelmintikaresistens er et voksende og udbredt problem blandt gastrointestinale parasitter på verdensplan i mange dyrearter. Der er beskrevet resistens imod alle kommercielt tilgængelige anthelmintika, og problemet er kendt hos flere arter af hestens nematoder. Det er kendt, at kraftig brug af anthelmintika selekterer for resistens. Efter mere end 20 års intens anvendelse af ivermectin til behandling af ormeinfektioner hos heste uden tegn på resistensudvikling, er der på det seneste beskrevet resistens hos *Parascaris equorum* og rapporteret om forkortet Egg Reappearance Period (ERP) for strongylideæg flere steder i verden.

Det eksperimentelle arbejde sigtede mod, at fastslå ivermectins effekt overfor hestens almindeligste nematoder i Danmark. I alt 196 heste behandlet ud fra en selektiv terapistrategi blev inddraget i studiet. 79 af disse heste var inficeret med *Parascaris equorum*. 117 heste var udelukkende inficeret med strongylider. Hestene blev behandlet med ivermectin (ca. 0,2 mg/kg) oral pasta. Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) blev udført 10-15 dage efter behandling. Gruppen af heste inficeret med *P. equorum* havde 96,9% effekt af behandlingen. 10% af hestene havde <90% effekt. Alle heste med strongylideæg havde 100% effekt af ivermectinbehandlingen.

Samtidig blev en længerevarende undersøgelse af strongylideinficerede heste udført for at fastlægge Egg Reappearance Period (ERP) hos danske heste. I undersøgelsen deltog 9 besætninger, alle med selektiv behandlingsstrategi, med i alt 96 heste, der var blevet behandlet med ivermectin (ca. 0,2 mg/kg) oral pasta. Hestene var doseret og behandlet af ejeren. Ugentlige FECRT blev udført fra 2 til 6 uger efter behandling. Den gennemsnitlige effekt 6 uger efter behandling var 96,9%. En enkelt besætning havde forkortet ERP med <90% effekt 6 uger efter behandling.

Hesteejernes dosering blev registreret og hestens vægt estimeret med vægtmålebånd. Heste, der var blevet overdoseret med ivermectin viste signifikant lavere effekt 5 og 6 uger efter behandling, end heste der ikke var overdoseret. Der blev fundet en signifikant effekt af infektionspresset i besætningen på ægudskillelsen efter behandling. En gruppe af ubehandlede heste blev undersøgt sideløbende med FECRT af de behandlede heste. De ubehandlede heste udviste en markant stigning i Fecal Egg Count (FEC) i studieperioden.

Resultaterne tyder på, at den særlige strategi med lovgivning om receptpligte anthelmintika og selektiv terapi, der har været praktiseret i Danmark de seneste 10 år, kan have en positiv effekt på resistensniveauet. Der er ikke fundet ivermectinresistens hos strongylider i de undersøgte heste, og gennemsnitseffekten af ivermectin overfor spolorm er langt højere end hvad der er rapporteret i andre lande. Den fundne ERP er ligeledes langt højere end hvad der for nylig er rapporteret fra andre lande.

ABSTRACT

Anthelminticaresistance is a growing and widespread problem among gastrointestinal parasites worldwide in many host species. Resistance against all commercially available anthelmintics has been found in several species of horse nematodes. Intense use of anthelmintics is well known to select for resistance. After more than 20 years of intense use of ivermectin in the treatment of worm infections in horses with no signs of resistance development, resistance has recently been described in *Parascaris equorum* and shortened Egg Reappearance Period (ERP) for strongyle eggs has been reported in several countries.

The experimental work aimed at determining the efficacy of ivermectin in common horse nematodes in Denmark. A total of 196 horses, each treated by a selective therapy strategy were involved in the study. 79 of these horses were infected with *Parascaris equorum*. 117 horses were infected only with strongyles. Horses were treated with ivermectin (approximately 0.2 mg / kg) oral paste. Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) was performed 10-15 days after treatment. The group of horses infected with *P. equorum* had 96.9% efficacy of treatment. 10% of the horses showed <90% efficacy. All horses infected with strongyles had 100% efficacy of treatment with ivermectin.

At the same time a long-term study of horses infected by strongyles was performed to determine Egg Reappearance Period (ERP) in Danish horses. The study involved 9 farms, each with a selective treatment strategy, with a total of 96 horses that had been treated with ivermectin (approximately 0.2 mg / kg) oral paste. The horses were dosed and treated by the owner. Weekly FECRT was performed from 2 to 6 weeks post treatment. The average effect 6 weeks post treatment was 96.9%. One farm had shortened ERP with <90% efficacy 6 weeks post treatment.

Horse owner's dosage was recorded and the weight of the horses was estimated by weight girth tape. Horses which had been overdosed with ivermectin showed significantly lower efficacy 5 and 6 weeks after treatment than horses which were not overdosed. Futhermore, a significant effect of a high infection pressure at the farm was found on the number of egg shed post treatment. A group of untreated control horses were studied in parallel with FECRT of treated horses. The untreated horses showed a marked increase in Fecal Egg Count (FEC) during the study period.

The results suggest that the special stategy with prescription-only anthelmitics legislation and selective treatment which has been practiced in Denmark for the last 10 years may have a positive effect on the degree of resistance. No ivermectin resistance was found among strongyles in the observed horses and the average efficacy of ivermectin against *P. equorum* is much higher than what has been reported from other countries. The observed ERP is much higher than what has recently been reported from other countries as well.

FORORD

Dette speciale er udarbejdet i forbindelse med afslutningen af mit veterinærstudium. Specialets emne er valgt ud fra et ønske om at udføre brugbart forskningsarbejde med en høj grad af klinisk relevans og resultater, der er anvendelige i praksis. Samtidig havde jeg et ønsket om at opnå brugbare klinisk viden og relevante kliniske færdigheder. Specialerapporten er delvist skrevet på artikelform, da det er mit mål at de fundne resultater skal publiceres i et fagligt relevant tidsskrift således at de kan opfylde målsætningen om anvendelighed i praksis.

Undervejs i processen har jeg fået hjælp og støtte fra flere sider af kompetente mennesker, der har engageret sig i mit arbejde på den ene eller den anden måde. Jeg skylder dem alle en stor tak for hjælp og støtte.

Først og fremmest en særlig stor tak til min altid hjælpsomme og nærværende vejleder, postdoc dyrlæge og PhD Martin Krarup Nielsen, Institut for Produktionsdyr og Heste/Faggruppe: Medicin og Kirurgi, for god feedback, konstruktiv kritik og utrættelig tålmodighed under hele forløbet. Det har været en fornøjelse at have en så engageret og interesseret vejleder på specialet.

En særlig tak til postdoc cand.scient., PhD Christian Ritz, Institut for Grundvidenskab og Miljø/Statistics for stor hjælp og utrættelig tålmodighed i forbindelse med den statistiske behandling af mine resultater. Også tak til lektor Niels Chr. Kyvsgaard, Institut for Sygdomsbiologi/ Faggruppen for Mikrobiologi for hjælp og pædagogisk indføring i SAS. Ligeledes tak til laboranterne Maria Rhod og Tina Roust på Universitetshospitalet for Store Husdyr for hjælp og tålmodighed under det praktiske arbejde.

Det praktiske, eksperimentelle arbejde er udført i samarbejde med Equi Lab i Slangerup, som jeg skylder stor tak for hjælpen i forbindelse med opstarten af projektet, indsamling af data og kontakt til besætnings- og hesteejere, samt for hjælpen med indsamling af data fra hestene med spolorm. Der skal lyde en stor tak for samarbejdsvilje og interesse i projektet til alle deltagende heste- og besætningsejere.

Mine studiekammerater, stud.med.vet. Ulla Vestergaard Andersen og stud.med.vet. Kathrine Pilegaard takkes for hyggeligt samvær under udførelsen af det eksperimentelle arbejde og gode faglige diskussioner både før og under udarbejdelsen af specialet samt for gennemlæsning af manuskriptet. Dyrlæge Sara Dalsgaard og dyrlæge Ann Persson takkes for konstruktiv kritik samt korrekturlæsning af manuskriptet til specialet. Sidst men absolut ikke mindst en stor tak til min kæreste Kristian for overbærenhed, opbakning og støtte i processen, samt gode forslag og konstruktiv kritik undervejs.

Udarbejdelsen af specialet har været en lærerig proces for mig, og jeg håber, at indholdet og resultaterne vil være brugbare i overvågningen af ivermectinresistens i Danmark.

Frederiksberg d. 20. februar 2009

INDHOLDSFORTEGNELSE

Sammendrag i
Abstract ii
Forord iii
Indholdsfortegnelse v
Forkortelsesliste vii
Indledning ix
Baggrund ix
Formål ix
Problemformulering x
Metode x
Specialets opbygning xi

1. Teori 1
1.1 Nematodeinfektioner hos heste 1
1.1.1 Strongylider 2
1.1.2 P. equorum 5
1.1.3 Fæces undersøgelser 7
1.2 Lovgivning omkring anthelmintika 8
1.3 Avermectin/Milbemycin 9
1.3.1 Ivermectin 9
1.4 Resistens 10
1.4.1 Definitioner 10
1.4.2 Udvikling af anthelmintikaresistens 12
1.4.3 Konsekvenser af resistens 13
1.4.4 Relevante faktorer, der påvirker hastigheden for udvikling af resistens 14
1.5 Resistens historisk set 18
1.5.1 Aktuel status for ivermectinresistens hos hestenes nematoder 19
1.5.2 Resistens i Danmark 20
1.5.3 Udvikling af nye stoffer 20
1.6 Detektion af resistens 20
1.6.1 FECRT 21
1.6.2 *In vitro* metoder til diagnostik af ivermectinresistens 21
1.7 Grænseværdier for ivermectinresistens 22
1.7.1 Beregning af FECR 22
1.7.2 Anvendte grænseværdier i litteraturen. 23
1.8 Egg Reappearance Period 25
1.8.1 Tidligere anvendte grænseværdier 25

2. Første Artikeludkast Ivermectins effekt 29
Undersøgelse af ivermectins effekt mod danske hestes nematoder og resistensniveauet hos disse 31
2.1 Sammendrag 31
2.2 Abstract 31
2.3 Introduktion 32
2.4 Materialer og Metoder 33
2.4.1 Undersøgte heste 34
2.4.2 Fecal Egg Count Reduction 34
2.4.3 Statistik 35
2.5 Resultater 35
2.5.1 Heste med Parascaris equorum 35
2.5.2 Heste med udelukkende strongylideæg 38
2.6 Diskussion 38
2.6.1 Effekten af Ivermectin imod spolorm 38
2.6.2 Effekt mod strongylider 40
2.6.3 Betydningen af den danske behandlingsstrategi 41
2.6.4 Resistensdefinitioner og grænseværdier 42
2.6.5 Studiets design og metoder 45
2.6.6 Anbefalinger for fremtidig brug af ivermectin i Danmark 48
2.7 Referencer 50

3. Andet Artikeludkast Egg Reappearance Period 57
Undersøgelse af Egg Reapperance Period i Ivermectinbehandlede danske Heste 59
3.1 sammendrag 59
3.2 Abstract 59
3.3 Introduktion 60
3.4 Materialer og Metoder 61
3.4.1 Udvælgelse af heste til undersøgelsen 61
3.4.2 Registreringer af deltagende heste 62
3.4.3 FECRT 63
3.4.4 Larvedyrkning 63
3.4.5 De deltagende besætninger 64
3.4.6 Statistik 65
3.5 Resultater 69
3.5.1 Forkortet ERP 69
3.5.2 Effekt af opstaldningssted 70
3.5.3 Effekt af infektionspresset i besætningen 71
3.5.4 Ubehandlede heste 71
3.5.5 Effekt af doseringens præcision 72
3.6 Diskussion 74
3.6.1 Positive FEC 4 uger efter behandlingen 74
3.6.2 Studiets design og metoder 76

3.6.3 Definition af ERP 80
3.6.4 Effekt af doseringens præcision 81
3.6.5 Effekt af infektionspresset i besætningen 84
3.6.6 Kontrolheste 85
3.6.7 Perspektiver 85
3.7 Referencer 86

4. Opsamlende diskussion 91
4.1 Betydningen af den selektive danske behandlingsstrategi 91
4.2 Anvendeligheden af specialets fund i praksis 92
4.2.1 Anvendelse af FECRT i resistensdiagnostik. 92
4.2.2 Anvendelse af ERP i klinisk praksis 93
4.3 Nye behandlingsmuligheder 93
4.4 Management 94
5. Specialets konklusioner 95
6. Perspektivering 96
6.1 Udvidede undersøgelser af studiets resultater 96
7. Referencer 99

Appendiksliste I
Appendiks 1 – Ormestrategi anbefalet af Equi Lab IV
Appendiks 2 – Definitioner på relevante resistensbegreber XII
Appendiks 3 – Brev til deltagende besætninger i ERP undersøgelsen XVI
Appendiks 4 – Uddybende oplysninger om de deltagende besætninger i ERP XXIV
Appendiks 5 – Data til artikeludkast 1 om ivermectinresistens XXXII
Appendiks 6 – Data til artikeludkast 2 om ERP XXXVI
Appendiks 7 – Data til artikeudkast 2 vedrørende kontrolheste XLII
Appendiks 8 – Udskrift fra SAS med analyseresultater fra ERP-undersøgelsen XLVI

Forsideillustrationer:
Mine heste, Xantho og Roxsane, på græs, august 2007.
Billedet er taget af Christian Grüner Photography.
Strongylideæg, eget foto, oktober 2008.
Cyathostomlarve, eget foto, november 2008.

FORKORTELSESLISTE

Liste over anvendte forkortelser i specialet. Ord og udtryk, for hvilke der eksisterer en forkortelse, der er accepteret og almindeligt brugt i den internationale litteratur der det valgt at benytte denne internationale forkortelse. På listen af forkortelser er desuden anført oversættelse til et dansk udtryk.

AM – Avermectin/Milbemycin

EPG – Egg Per Gram, æg pr. gram fæces

ERP – Egg Reappearance Period, tiden fra behandling med ormekur, til der findes et defineret niveau af æg i fæces

FEC – Fecal Egg Count, fæcesundersøgelser

FECR – Fecal Egg Count Reduction, reduktion I den fækale ægtælling

FECRT – Fecal Egg Count Reduction Test, undersøgelse af reduktionen i den fækale ægtælling. Foretages ved at gentage FEC efter behandling af hesten med anthelmintikum

LCL – Lower Confidence Level, Nedre grænse for 95% konfidensinterval

L_3 – Tredje statdium larver

L_4 – Fjerde statdium larver osv.

MDR – Multi Drug Resistant, multiresistente orm

WAAVP – World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology

INDLEDNING

BAGGRUND

Resistens blandt gastrointestinale parasitter overfor anthelmintika er et udbredt og voksende problem på verdensplan. Blandt hestene er problemet beskrevet hos forskellige arter af orm mod alle kommercielt tilgængelige anthelmintika. Det er kendt, at kraftig brug af anthelmintika selekterer for resistens [134]. Ivermectin har været opfattet som et en slags ”vidundermiddel", idet der efter mere end 20 års intens brug ikke var udviklet resistens hos hestens parasitter. I de seneste år er der beskrevet resistens mod ivermectin hos *Parascaris equorum* [14, 57, 74, 83, 92, 140, 141, 142, 152] og rapporteret om forkortet Egg Reappearance Period (ERP) for strongylideæg [95, 96, 105, 152] flere steder i verden.

I Danmark har der siden 1999 været en særlig lovgivning, der begrænser brugen af anthelmintika, idet disse stoffer er på recept og således kun må anvendes, efter en diagnose stillet af en dyrlæge [3]. Dette har givet Danmark særstatus, som et land, hvor dyrlægen inddrages som rådgiver i forbindelse med ormestrategi og -behandling. Selektiv behandling, hvor kun heste, der udskiller mange parasitæg, behandles, er den mest anvendte strategi i Danmark, i modsætning til de fleste andre steder i verden, hvor profylaktisk behandling uden kendskab til infektionsbyrde eller resistensstatus er den primære strategi [112].

På trods af denne særstatus er der udført meget lidt resistensforskning i Danmark de seneste 10 år [113, 140]. Ivermectin er det absolut mest anvendte anthelmintikum i Danmark [112], hvilket resulterer i et højt selektionspres for resistens på dette stof. En undersøgelse af resistensniveauet for ivermectin i Danmark er relevant, både set i lyset af den begyndende resistens i resten af verden og for at evaluere den særlige danske strategi.

FORMÅL

Formålet med dette speciale er, med udgangspunkt i ovenstående viden, at bidrage til en klarlægning af situationen omkring ivermectins effektivitet i Danmark på nuværende tidspunkt. Specialet sigter således mod at fastslå resistensniveauet for de almindeligste nematoder hos heste og ERP for strongylide æg i ivermectinbehandlede danske heste. Kendskab til resistensniveauet er essentielt for at vælge det korrekte anthelmintikum til behandling af den aktuelt diagnosticerede ormeinfektion, og en undersøgelse af dette vil derfor bidrage med viden, der kan anvendes i praktiserende dyrlægers daglige arbejde. ERP er ikke tidligere undersøgt i danske heste og en afklaring af ERP i Danmark vil fastsætte en normalværdi for ERP på nuværende tidspunkt og gøre det muligt at overvåge udviklingen fremadrettet.

PROBLEMFORMULERING

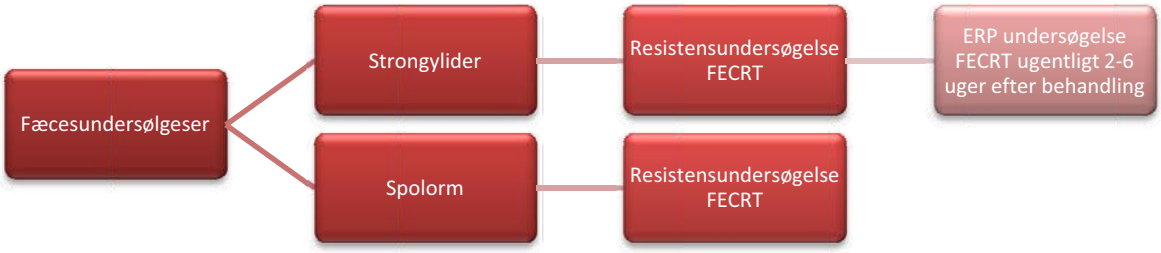
Projektet beskæftiger sig med problematikken omkring resistens mod ivermectin hos de almindeligst forekommende nematoder hos danske heste med særligt fokus på *Parascaris equorum* og cyathostomer.

I forbindelse med rutineundersøgelser med henblik på ormebehandling af danske heste undersøges effekten af ivermectin dels ved resistensundersøgelser og dels ved ERP undersøgelser af nogle grupper af heste med henblik på at fastlægge det nuværende niveau i Danmark.

METODE

Studiet er designet som et feltstudie for at afspejle målsætningen om at skabe resultater, der er direkte anvendelige i almen klinisk hestepraksis.

Udvælgelsen af heste til studiet er sket i samarbejde med Equi Lab*, og er illustreret i figur i.i-1. Equi Lab har udført alle de indledende diagnostiske prøver i forbindelse med deres daglige arbejde og stillet deres resultater til rådighed for dette speciale. I henhold til laboratoriets standardanbefalinger er alle heste med strongylideæg >200 æg pr. gram fæces (EPG) blevet behandlet og alle heste med positivt fund af spolormæg er ligeledes behandlet. Alle heste til deltagelse i undersøgelsen er behandlet med ivermectin. Laboratoriets standardprocedure er udsendelse af ormekur via post direkte fra et apotek således at behandling og dosering påhviler ejeren selv. Laboratoriets vejledninger til klienterne findes i appendiks 1. Således er behandlingen af heste, der skulle indgå i dette studie forestået af hesteejeren selv.



Figur i.i-1 - Opbygningen af undersøgelserne og udvælgelsen af deltagende heste i specialets eksperimentelle del

Udvælgelsen af heste til deltagelse i undersøgelsen af ERP er sket ud fra et krav om mindst 10 behandlede heste i hver besætning og et rent praktisk hensyn til placering af besætningen inden for Storkøbenhavn, således at indsamling af prøver blev logistisk muligt. Ejerne til heste, der var udvalgt til at deltage i ERP undersøgelsen fik tilsendt et brev, der er vedlagt som appendiks 4. Heste til resistensundersøgelsen har for de strongylidein-

* *Equi Lab, v. Stig Langeskov Petersen, Jørlunde Overdrev 7, 3550 Slangerup*

ficerede hestes vedkommende været de samme som deltog i ERP-undersøgelsen samt heste der under forløbet fraflyttede disse besætninger og desuden en løsdriftbesætning i tilknytning til en af de stalde, der indgik i ERP-studiet. For de spolorminficerede hestes vedkommende har Equi Lab forestået resistensundersøgelserne, der alle blev tilsendt med post. Den geografiske placering af disse heste har derfor ikke været afgørende.

Alle undersøgelser er foretaget ved hjælp af Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT). FECRT for heste med spolorm udførtes som nævnt af Equi Lab, mens alle opfølgende undersøgelser på heste med strongylider blev udført af undertegnede på Studenterlaboratoriet ved Universitetshospitalet for Store Husdyr[†]. Resistensundersøgelsen bestod af FECRT af de behandlede heste 10-15 dage efter ivermectinbehandlingen. ERP undersøgelsen bestod af ugentligt gentagne FECRT 2-6 uger efter ivermectinbehandlingen. Den indledende diagsnostik hos Equi Lab startede medio september 2008. FECRT er udført fra ultimo september til medio november 2009.

Alle undersøgelser er foretaget med en simpel McMaster metode [129] med en detektionsgrænse på 50 EPG, der er valgt af flere årsager. Dels er det den metode, der undervises i på veterinærstudiet i Danmark, og derfor antages det, at det er den metode flest dyrlæger anvender i deres arbejde i praksis [112]. Dels er dette den af Equi Lab anvendte standardmetode, og det er dermed undgået at ændre på deres procedurer. Metoden er beskrevet indgående under den teoretiske gennemgang.

SPECIALETS OPBYGNING

Dette speciale er bygget op omkring ovennævnte undersøgelser. Først præsenteres et litteraturstudie i et separat teoriafsnit, der har til formål at præsentere den aktuelle viden og give læseren en grundig introduktion til emnet anthelmintikaresistens og ERP hos heste. Specialet har hovedvægten på ivermectinresistens hos cyathostomer og spolorm samt forkortet ERP hos cyathostominficerede heste efter ivermectinbehandling. Hovedvægten i den teoretiske gennemgang vil derfor være placeret inden for disse områder.

Herefter præsenteres resultaterne af specialets undersøgelser i to selvstændige videnskabelige artikler, der er skrevet og opbygget med henblik på publikation i et fagligt relevant tidsskrift. Slutteligt er der en sammendragende diskussion og konklusion af specialets fund samt en kort perspektivering.

Da artiklerne er formuleret med henblik på publikation hver for sig, forekommer gentagelser i introduktion og diskussion samt i de anvendte kilder. Referencelisten til hver artikel er placeret umiddelbart efter artikeludkastet. Alle referencer anvendt i de øvrige afsnit af rapporten er placeret i referencelisten i slutningen af specialet. Dette betyder også, at nummereringen af referencerne er selvstændig i de to artikler. Nummereringen af overskrifter og figurer er for at overskuelighedens skyld fortsat kontinuerligt i hele rapporten.

[†] *Studenterlaboratoriet ved Institut for Produktionsdyr og Heste, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet. Højbakkegaards Allé 5, 2630 Taastrup*

Data fra de udførte undersøgelser er sorteret efter den orden i hvilken de optræder i specialet og vedlagt i appendiks 5-7. I appendiks 8 findes resultaterne af de i SAS udførte statistiske analyser.

1. TEORI

1.1 NEMATODEINFEKTIONER HOS HESTE

Hestens vigtigste nematoder består af cyathostomer (små strongylider) og to arter af store strongylider; *Strongylus vulgaris* og *S. edentatus* samt *Parascaris equorum* (spolorm) [63]. Disse arter vil blive beskrevet i det følgende. Desuden har, ud over disse, bændelormen *Anoplocephala perfoliata* været anført som en af hestens vigtigste parasitter [82]. Denne er ikke medtaget i gennemgangen af relevante orm i dette speciale, idet det undersøgte middel, ivermectin, ikke er registreret til brug imod bændelorm.

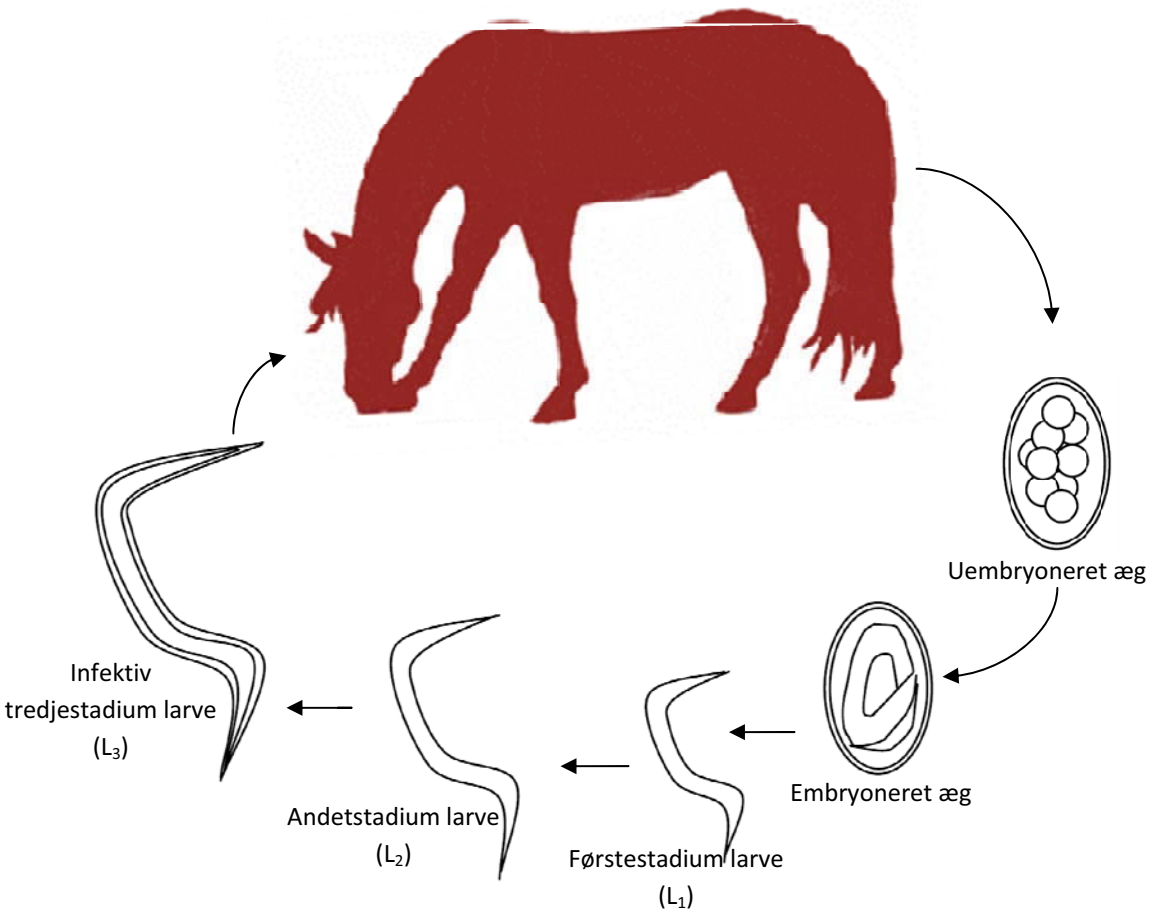
I et ældre veterinært speciale fra 1999 blev det fundet, at de mest almindelige parasitter hos heste i Danmark er strongylider og spolorm [124]. Desuden blev der fundet enkelte oocyster fra *Eimeria leuckarti* og få bændelormeæg. Spolormæg blev fundet hos føl og ungheste. Der blev ikke i undersøgelsen foretaget artsdifferentiering af de fundne strongylideæg. En spørgeskemaundersøgelse blandt danske dyrlæger afslørede i 2004, at dyrlægerne anså cyathostomer, store strongylider og spolorm i nævnte rækkefølge som de mest patogene parasitter hos hestene [112].

Rapporter om kliniske tilfælde af gastrointestinale parasitære sygdomme hos heste handler ofte om kolik. Studier af sammenhængen mellem behandlingsstrategi og anfald af kolik har givet modstridende resultater. Et studie fandt, at heste, der ikke indgik i et regelmæssigt ormebehandlingsprogram, ikke havde signifikant højere risiko for kolik, end heste, der blev profylaktisk behandlet regelmæssigt [21]. Det er både vist, at der ikke ser ud til at være en sammenhæng [22], og at der er tegn på en sammenhæng mellem kolik og behandling med ormekur inden for den sidste uge [21]. Naturligt inficerede heste huser som minimum flere forskellige arter af strongylider [45, 126].

Figur 1.1-1. - Strongylideæg. Artsdifferintiering er ikke mulig.

1.1.1 STRONGYLIDER

De nematoder, der tilhører familien Strongylidea og inficerer heste, inddeles på baggrund af deres morfologi, livscyklus og biologiske egenskaber i to subfamilier. De adskilles ud fra størrelse og buccalkapslens opbygning og benævnes store strongylider og små strongylider (cyathostomer) [79]. Alle strongylidearterne har fællestræk i deres livscyklus; en direkte enkeltværts livscyklus, hvor tredje larvestadium (L_3) er det infektive og optages under græsning [45]. Livscyklus opdeles i den præparasitære fase, som omfatter stadierne fra æg til L_3 uden for værten, og den parasitære fase fra L_3 til adult. Den præparasitære fase er illustreret i figure 1.1-2. Æggene udskilles med fæces og hastigheden af udviklingen fra æg til L_3 er afhængig af miljømæssige faktorer som varme og fugtighed [45]. Der findes både migratoriske og nonmigratoriske strongylider [108]. Æg fra store og små strongylider kan ikke skelnes morfologisk ved fæcesundersøgelsen (sefigur 1.1-1). Til differentiering mellem disse er det nødvendigt at udføre larvedyrkning, hvorefter L_3 kan differentieres [131]. Larvernes forskellige udseende er illustreret i figur 1.1-3.



Figur 1.2-1 - De fritlevende præparaitære stadier af equine strongylider. Denne del af livscyklen er identisk for store og små strongydlider. Figuren er udarbejdet frit efter reference nr. [111].

1.1.1.1 CYATHOSTOMER

Cyathostomerne er små strongylider tilhørende subfamilien Cyathostominae. Der findes omkring 50 arter af cyathostomer [80]. Ca. 10 arter betragtes som de hyppigste [93, 117, 126]. Den individuelle hest huser ca. 5-10 forskellige almindelige arter og flere mindre almindelige arter cyathostomer [79, 126]. Unge heste har typisk flere forskellige arter end ældre heste [16]. Voksne cyathostomer er, uanset art, af ensartet størrelse <15 mm lange [32], og lever i hestens colon og cecum [116]. Cyathostomer er de mest almindelige nematoder hos heste [59], og det må forventes, at alle heste er inficeret med cyathostomer [126]. Individuelle heste kan huse op mod 1 million orm [116].

Præpatensperioden varierer mellem arterne [135]. Den direkte livscyklus varer mindst 6 uger [45, 135], men denne kan afbrydes af en periode med afbrudt udvikling, hvor larverne findes i en udviklingsmæssig dvaletilstand i form af et encysteret hypobiotisk stadium i tarmmucosaen [53]. Efter optag af L_3 transporteres larverne med tarmindholdet til stortarmen, hvor de tidlige L_3 findes i lumen i en periode på nogle dage, før de perforerer tarmmucosaen og encysteres. De forskellige arter af cyathostomer udviser variation vedrørende hvor i tarmen og hvor dybt i mucosaen, encysteringen sker [125]. I det encysterede stadium kan larverne enten, i løbet af nogle dage, udvikles til L_4 eller gå i hypobiose. Dette dvalestadium menes at kunne opretholdes i omkring 2 år [53]. På et tidspunkt vil larverne enten dø in situ eller bryde ud fra cysten til tarmlumen som L_4. Den korteste mulige præpatensperiode fundet eksperimentelt er 5-6 uger [130]. Præpatensperioden er sandsynligvis varierende for de forskellige arter, men der er ikke megen viden på dette område, da æg og dyrkede larver ikke kan differentieres på speciesniveau [125].

Udbrud fra den encysterede tilstand i mucosa kan ske i lavt antal eller som massivt udbrud af mange larver på én gang [32]. I tarmlumen udvikles L_4 til L_5 og videre til det adulte stadium, som fouragerer på tarmvæggen. De voksne orm lægger æg, der med fæces udskilles til omgivelserne [125]. Æggene udvikles i miljøet til infektive L_3, der kan optages af græssende heste, hvorved cyklus fortsættes [32]. Æggenes udvikling kræver varme og fugtighed i korrekt forhold [103]. De fritlevende præparasitære stadier er følsomme overfor ekstreme miljøforhold herunder varme og tørke og miljøfaktorer har dermed afgørende betydning for den videre transmission af infektionen [32].

PRÆVALENS OG KLINISK BETYDNING

Cyathostomer betragtes generelt som lidet patogene, men massive infektioner kan give anledning til nedsat trivsel, reduceret tilvækst [109] og generaliserede problemer fra gastrointestinalkanalen, herunder diarre [148]. Den primære kliniske betydning er knyttet til larvernes udbrud fra det encysterede stadie i tarmmucosaen i form af syndromet larval cyathostominose [10, 107]. Syndromet er forbundet med massivt udbrud af encysterede larver, der kan være årsag til lokale patologiske forandringer og generaliseret subkutant ødem, akut diarre, vægttab og død [10, 97, 107]. Larval cyathostominose er fundet at være en hyppig årsag til kolik [86].

Parasitter i stortarmens mucosa har siden starten af 1800-tallet været associeret med diarre hos heste. Et syndrom bestående af vægttab, diarre og evt. død blev beskrevet i starten af 1900-tallet, hvor cyathostomer stadig blev opfattet som værende af lav eller begrænset patogen betydning (review af [87]). Senere blev man opmærksom på syndromet larval cyathostominose, og på, at cyathostomer kunne lede til akutte abdominale sygdomstilstande (review af reference nr. [91]) og livstruende kolik [148].

Cyathostomer optræder oftest i blandingsinfektioner sammen med store strongylider, hvoraf især *S. vulgaris* forårsager meget tydelige makroskopiske læsioner. Dette kombineret med fund af meget store mængder cyathostomer hos tilsyneladende raske heste førte til opfattelsen af, at cyathostomer ikke er patogene. (review af [87]). Tidligere var *S. vulgaris* langt mere udbredt og den højere patogenesitet gjorde, at det primære fokus i anthelmitikaterapi lå på denne parasit. Aggressive og effektive anthelmintikastrategier har ført til en lavere prævalens af *S. vulgaris* som følge af den forholdsvis lange livscyklus. Denne lavere prævalens gjorde cyathostomerne mere almindelige, og man opdagede, at også disse kan være patogene og udgøre en trussel [59].

Der er tegn på, at hestene udvikler en vis aldersbetinget immunitet overfor cyathostomer, idet antallet af orm hos unge dyr oftest er langt større end hos ældre heste [75]. Prævalensen af cyathostomer i naturligt inficerede heste forventes at være 100% [126].

Figur 1.1-3 - Tredje stadium strongylidelarver. Øverst ses en cyathostomlarve. Nederst ses en S.vulgaris *larve (Illustration fra reference nr. [111])*

1.1.1.2 STORE STRONGYLIDER

Hestens store strongylider tilhører subfamilien Strongylidae, der omfatter arterne *S. vulgaris, S.edentatus* og *S. equinus* og *Triodontophorus* spp [79]. Store strongylider har som cyathostomerne direkte livscyklus med 5 larvestadier, hvoraf tredje stadium er det infektive (se figur 1.2-1). *Strongylus* spp. larver foretager som en del af deres livscyklus parenteral migration under hvilken, de kan forårsage svær vævsbeskadigelse [42, 91]. *Triodontophorus* spp. er nonmigratoriske [108]. *S. vulgaris* har en livscyklus på 40 uger [135], dog er der eksperimentelt er fundet præpatenstider ned til 22 uger [130].

S. edentatus og *S. equinus* har ligeledes lange livscykler på hhv. 11-12 og 8-9 måneder. Migrationsruten for *S. edentatus* går gennem tarmvæggen via *Vena porta* til leveren og herfra til det subperitoneale bindevæv og tilbage til tarmvæggen, hvor de indkapsles som kasseøse knuder. *S. equinus* penetrerer stortarmens væg og migrerer gennem peritonealhulen, lever og pancreas tilbage til caecum og colon [108].

PRÆVALENS OG KLINISK BETYDNING AF *S. VULGARIS*

Tidligere blev *S. vulgaris* betragtet som hestens vigtigste parasit, men nu anses den nogle steder som udryddet efter intensiv behandling med effektive anthelmintika [59]. Prævalensen af *S. vulgaris* var indtil midten af sidste århundrede ganske høj, og flere studier rapporterede om prævalenser på 100% (review af [126]). Omkring 1980 var prævalensen væsentligt lavere og i et amerikansk studie fra 1975 på aflivede heste fandtes *S. vulgaris* i 27% af hestene og læsioner fra *S.vulgaris* i 42% af hestene [126]. I 1999 fandtes i Sverige en prævalens på 14% af besætningerne med mindst 1 positiv hest [81]. Behandlingsstrategier, der har til mål at nedbringe resistensniveauet ved at behandle mindre hyppigt kan have den konsekvens, at *S. vulgaris* igen bliver mere hyppig. En dansk undersøgelse fra 2008 fandt ved fæcesundersøgelser *S. vulgaris* i 5% af de undersøgte heste og 48% af besætningerne [113].

Den patologiske betydning af *S.vulgaris* knyttes primært til de migrerende larvestadier, der er årsag til vævsbeskadigelse, primært i *Arteria mesenterica cranialis*, verminøs aneurisme, emboli og thrombotisk blokering af blodkar (review af referencerne [42, 91]). Det er af denne årsag *S. vulgaris* ofte er omtalt som hestens farligste parasit [41].

1.1.2 P. EQUORUM

Spolormen er den største nematode, der inficerer heste, og den kan blive på størrelse med en blyant. Det adulte stadium lever i hestens tyndtarm og lægger tykvæggede immature æg, der udskilles i fæces. Æggene bliver infektive i miljøet, hvor modningen under optimale forhold tager 10 dage [19]. Ægget, der er illustreret I figur 1.1-4, har en trælaget skal og er beklædt med et protein, der gør, at det kan klistre til næsten alt, herunder hoppens yver. Ægget klækkes først efter optag i en passende vært. Spolormhunnen kan lægge mange tusinde æg om dagen, og æggene kan overleve i miljøet i årevis, som følge af den særlige skal [19]. Præpatensperioden er 72-115 dage (ca. 12-15 uger). Naturligt inficerede føl udskiller æg i fæces ved en alder af ca. 80 dage. Man mener derfor ikke, at infektionen sker efter under drægtigheden, men først postnatalt [18]. Eksperimentelt er der fundet præpatensperiode på 45-50 dage [20].

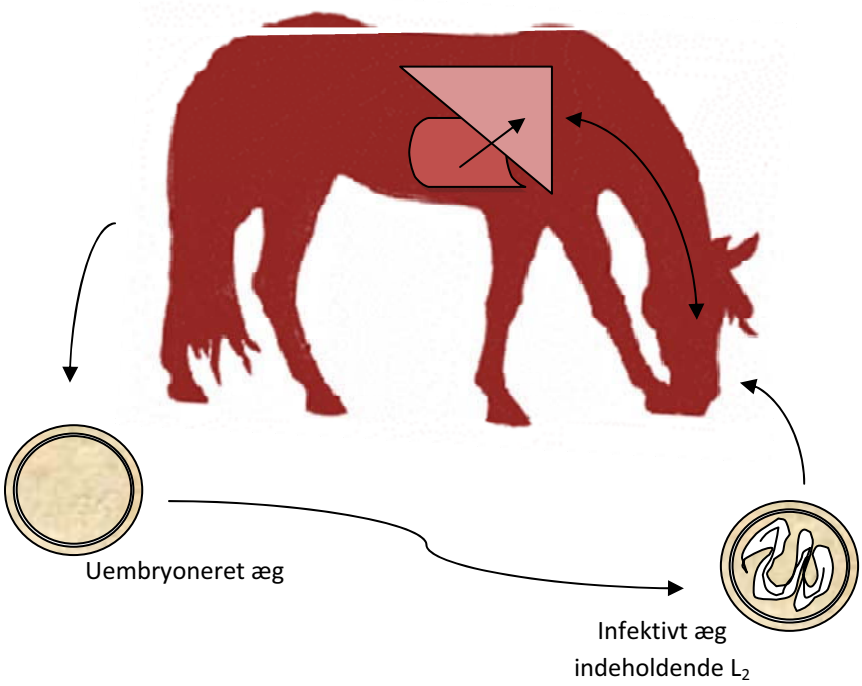
Hesten inficeres ved at optage æg indeholdende L_2 [45]. Larverne migrerer fra tyndtarmen til leveren og kan i løbet af få døgn efter infektionen findes i leveren. 7-14 dage efter infektionen migrerer larverne fra leveren til lungerne, hvorfra de hostes op og synkes. Forløbet er illustreret I figure 1.1-5. Hvorvidt der sker hamskifte i lungerne kan ikke afgøres, men larverne undergår hamskifte mellem dag 14 og 23 uanset hvilket organ, de befinder sig i [20]. Hovedparten af ormene er tilbage i tyndtarmen efter 23 dage. I lumen af tyndtarmen vokser ormene hurtigt [20], og den hurtige vækst resulterer i en kraftig selektion og færre, men større parasitter. Spolormenes foretrukne placering er i duodenum og den proximale del af jejunum, men ved kraftig infektion findes de i hele tyndtarmen [19]. En undersøgelse viste, at antallet af orm i tyndtarmen faldt efter dag 37 post infektion og, at patent infektion udvikledes på dag 101-104 [20].

Figur 1.1-4 - Æg fra P. equorum*. Billedet stammer fra reference nr. [50].*

1.1.2.1 PRÆVALENS OG KLINISK BETYDNING

P. equorum inficerer primært føl og plage. Hos voksne heste findes spolorm kun yderst sjældent, da der indtræder erhvervet immunitet [45]. Næsten alle føl formodes at blive smittet, men ikke alle udvikler infektion med voksne spolorm, for eksempel på grund af behandling med anthelmintika [18].

De største patologiske forandringer forårsaget af *P. equorum* ses i lever og lunger efter larvernes migration. I tarmkanalen ses kun få makroskopiske forandringer. Klinisk ses bl.a. hoste, næseflåd, utrivelighed og kolik. Der findes flere rapporter om føl, der er døde som følge af massive spolormeinfektioner, der har givet årsag til tarmruptur, peritonitis eller forstoppelse på grund af sammenfiltrede orm i tyndtarmen [18].



Figur 1.1-5 - Præparaitære stadier af P. equorum. *L_2 udvikles i ægget, der først klækkes efter optag i en passende vært. Larven foretager fra tarmen migration via* vena porta *til leveren og herfra til lungerne, hvorfra den hostes op og synkes. Resten af udviklingen foregår i tyndtarmen.*

1.1.3 FÆCES UNDERSØGELSER

Til diagnostik af ormeinfektioner anvendes i praksis fæcesundersøgelser, hvor udskilte parasitæg identificeres, og antallet estimeres [71]. Dette kaldes på dansk fækal ægtælling, men i denne rapport anvendes den internationale term Fecal Egg Count (FEC). Der er flere mulige teknikker til bestemmelse af FEC. Disse vil ikke blive beskrevet nærmere her. I Danmark anvendes typisk en simpel McMaster[112], der er en kvantitativ flotationsteknik. Den McMaster teknik, der blev anvendt i forbindelse med det eksperimentelle arbejde til dette speciale, er tidligere beskrevet i litteraturen [129], og vil kort blive omtalt afsnitet ”1.1.3.1 Anvendt McMaster”.

Fæcesundersøgelser er lette og billige at udføre, men rummer variationer og usikkerheder. Det har været fremført, at FEC er af ringe diagnostisk værdi, som følge af manglende korrelation mellem antallet af æg i fæces og antallet af parasitter i hesten [60, 73]. Der er ikke publiceret undersøgelser af denne relation hos heste. Desuden er det fremført, at det ikke er sandsynligt, at æggene findes ligeligt fordelt i en fæcesprøve, at der er stor variation ved kun at undersøge en lille stikprøve, og at der vil optræde variationer i FEC i løbet af et døgn [150]. Ved fæcesundersøgelser estimeres ormebyrden på baggrund af ægudskillelsen, hvorfor der udelukkende kan diagnosticeres æglæggende orm af hunkøn. Hanner og præpatente larvestadier kan ikke diagnosticeres [60]. Strongylide-hunormenes frugtbarhed er vist at have variationer over tid [115]. Af de nævnte årsager har det været anført, at den statistiske usikkerhed på McMaster undersøgelsen er op til 50%, og at re-

sultatet derfor bør anføres som et interval [150]. Et tidligere veterinært speciale har fundet usikkerheder på +/- 500 æg pr. gram fæces (EPG) [65]. Gentagne tællinger på samme fæcesprøve kan forbedre sikkerheden af prøven [34, 150]. Metoden er på trods af dette den bedste diagnostiske metode, vi har i praksis.

Forholdet mellem infektionsbyrden og ægudskillelsen hos heste er ikke kendt. Der findes ingen studier af variationerne på udskillelsen af strongylideæg, men i en længerevarende undersøgelse fandtes daglige variationer på nogle 100 EPG [53]. I et større studie fandtes variationer på 300-500 EPG over to dage i kontrolhestene og variationer på op til 1000 EPG over en periode på en uge [95]. Hos får er der ved kontrollerede studier af ormbyrden og ægudskillelsen fundet en god korrelation mellem ormebyrden og FEC hos alle andre arter end *Nematodirus spp.* [101]. I en undersøgelse blev ægudskillelsen fra heste inficeret med spolorm undersøgt, og der blev set stor variation (50-17500 EPG over 12 dage) i ægtallet ved FEC [20]. Det er derfor konkluderet, at den fækale ægudskillelse for spolorm varierer kraftigt fra dag til dag [19], og at variationen ser ud til at være større end variationerne for strongyliderne. Hos mennesker er det fundet, at FEC for hageorm, der tilhører familien af strongylider, korrelerer godt til den adulte ormebyrde [138].

Alternativet til FEC er i mange tilfælde postmortem undersøgelser [121]. I praksis er dette hverken relevant eller muligt i almindelige besætninger. Der arbejdes på at udvikle serologiske [37] og molekylære [64] metoder til at detektere og identificere larvale stadier af cyathostomer, og der er for nyligt udviklet en PCR metode til detektion af æg fra *S. vulgaris* [114].

1.1.3.1 ANVENDT MCMASTER

I alle undersøgelser i forbindelse med dette speciale er anvendt en simpel McMaster med en detektionsgrænse på 50 EPG [129], der formodes at være den almindeligst benyttede metode i Danmark [112]. Fremgangsmåden var følgende: 4 g. gødning fra midten af fæcesknolden blev afvejet på en vægt med en nøjagtighed på 0,1 g. Der blev tilsat 56 ml mættet sukker/ salt opløsning[‡] med automatpipette. Blandingen blev omrørt med træspatel og filtreret gennem 17 tråd gaze ned i et rent plasticbæger. Der omrørtes med engangs pasteurpipette idet der pipetteredes ind og ud et par gange. Herefter afpipetteredes væsken vandret ind i McMaster kammeret. To kamre blev undersøgt under mikroskopets tørlinse (40x forstørrelse) og alle æg inden for det afmærkede felt blev talt, hvorefter EPG kunne udregnes. 1 æg svarer til 50 EPG

1.2 LOVGIVNING OMKRING ANTHELMINTIKA

I 1999 blev indført en lovændring i Danmark, der indebar, at anthelmintika blev receptpligtige [3]. Kravet om udskrivning af recept indebærer et krav om, at behandlingen foregår på baggrund af en diagnose stillet af en dyrlæge. Præventiv behandling blev således

[‡] *50 g glucose/100 ml mættet NaCl*

forbudt. Lovændringen blev foretaget i et forsøg på at bremse udviklingen af anthelmintikaresistens og har haft den konsekvens, at overvågning og behandling af gastrointestinale parasitter i næsten 10 år har været et veterinært anliggende, hvilket er helt unikt for Danmark. Loven har resulteret i, at der i dag benyttes en selektiv terapistrategi i de fleste danske hestebesætninger [112]. Resistensundersøgelser i Danmark er særligt relevante grundet denne lovgivningsmæssige særstatus.

I 2006 kom en ændring af lovgivningen i EU, der omhandlede veterinærlægemidler til fødevareproducerende dyr, herunder heste. Dette direktiv fastsætter, at anthelmintika kun må udleveres uden krav om recept, hvis der ikke er risiko for udvikling af resistens, selv ved ukorrekt anvendelse [4]. Som følge af denne ændring indførte Sverige i 2007 og Holland i 2008 ligeledes recept på ormekure og flere andre EU-lande ventes at følge med i fremtiden.

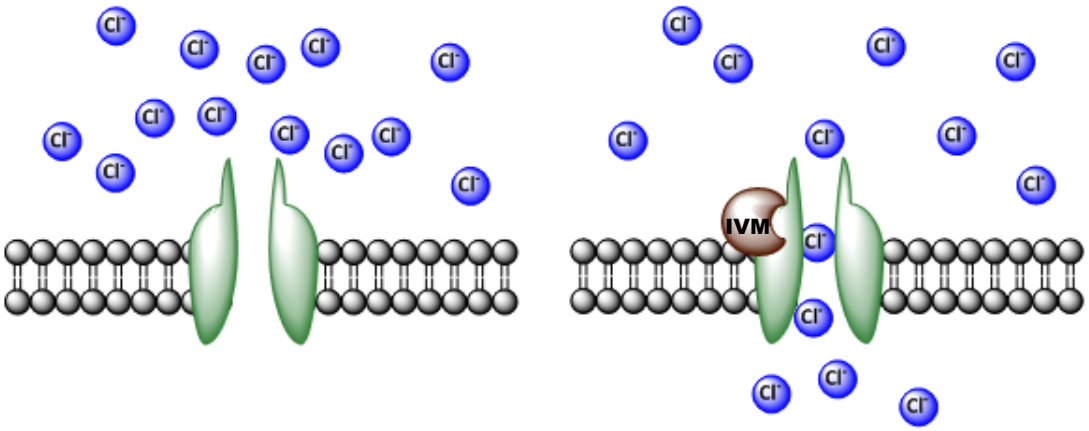
1.3 AVERMECTIN/MILBEMYCIN

Ivermectin tilhører gruppen af avermectin/milbemyciner (AM), der er macrocykliske lactoner. Ud over ivermectin er fra denne gruppe også moxidectin registreret til brug i heste. Stofferne i gruppen af AM er bredspektrede potente stoffer, der har en vis persisterende effekt af en enkelt dosis [8, 135].

1.3.1 IVERMECTIN

Ivermectin er det mest benyttede anthelmintikum i Danmark [112]. Kemisk set er ivermectin en modificeret avermectin med et disaccharid koblet til carbon-ringstrukturen [135]. Den præcise virkning af AM på hestens gastrointestinale parasitter kendes ikke, men antages at være tilsvarende den virkning man kender fra *Haemonchus contortus,* hvor effekten udøves på en gruppe glutamat-afhængige chloridkanaler [30, 31], der findes på nematodernes muskelceller og sandsynligvis i pharynx [33]. Glutamat er en hæmmende neurotransmitter i disse celler, og ivermectin virker ved at åbne de nævnte kanaler [31]. Stofferne paralyserer ormen, enten ved at efterligne virkningen af glutamat, eller ved at ændre på den måde glutamat binder til receptoren på. Således hindres ormene både i at bevæge sig og optage føde, hvorefter den fjernes sammen med tarmindholdet [136]. Virkningen af ivermectin er illustreret i figur 1.3-1

Ivermectin er fedtopløseligt [135], og optages hurtigt efter oral indgift. Hos heste er $t_{½}$ 3,17 timer i optagelsesfasen [135] og den maximale koncentration på 29 ng/ml opnås efter 7 timer, ved brug af det kommercielt tilgængelige præparat Noromectin Vet., som blev anvendt ved det eksperimentelle arbejde under udarbejdelsen af dette speciale [5]. Under eliminationsfasen er halveringstiden ($t_{½}$) 4,27 dage [135]. Stoffet udskilles primært via fæces [1, 5].



Figur 1.3-1 - Virkningen af ivermectin på chloridkanaler i nematodernes muskelceller og celler i pharynx. Kanalen til venstre er lukket. Til højre er ivermectin bundet til kanalen, der ændrer konformation, og resulterer i en øget membranpermeabilitet overfor chlorid-ioner, der trænger ind og depolariserer cellen. (Figuren er tegnet af Kristian Jensen)

I Danmark er ivermectin registreret til heste til behandling af følgende arter af indvoldsorm: *S. vulgaris (*voksne og 4. larvestadier i arterier), *S. edentatus* (voksne og 4. larvestadier i væv), *S. equinus*, (voksne), 16 arter af små strongylider (voksne), *Trichostrongylus axei,* (voksne), *Oxyuris equi* (voksne og umodne), *P. equorum* (voksne og 3. og 4. stadie), *Strongyloides westeri* (voksne), *Onchocerca spp, Dictyocaulus arnfieldi* (voksne og umodne) og *Gasterophilus spp* (larvestadier i mund og mave) [1, 5]. Ivermectin har ikke effekt mod encysterede stadier af cyathostomer [49]. Moxidectin, der er det andet kommercielt tilgængelige AM til heste, har samme spektrum og har desuden effekt mod de encysterede stadier af cyathostomer og en længere halveringstid, hvilket giver en mere langvarig effekt end ivermectin [135]. Ivermectin i den anbefalede dosering på 0,2 mg/kg er ved oral administration hos heste yderst effektivt. Der er 95-100% effekt mod voksne og de fleste L_4 larver af cyathostomer samt de fleste andre arter nævnt herover. Mod migrerende L_4 af *S. vulgaris* har ivermectin 99% effekt [1].

1.4 RESISTENS

1.4.1 DEFINITIONER

Litteraturen angiver, udtrykt på flere forskellige måder, at resistens optræder, når en større andel af parasitter i en population udvikler evnen til at overleve en behandling, der generelt er forventet at være effektivt mod samme art og stadie af infektion [123, 132, 135, 136].

Klinisk resistens er den observerede manglende evne for den anbefalede dosering til at fjerne parasitterne. Manglende effekt af behandling (treatment failure) kan skyldes klinisk resistens, men det kan også skyldes en række andre forhold, for eksempel fejldosering, forkert valg af aktivt stof eller antagelse af, at symptomerne skyldes orm, selv om årsagen

var en anden. Desuden kan tilstedeværelse af encysterede larver, der ekscysteres og etablerer ny infektion, hurtig reinfektion eller lignende faktorer påvirke den tilsyneladende effekt af behandlingen [32, 123]. Som konsekvens af behandling sker der en naturlig selektion for genetisk resistente individer. Denne selektion beskrives som selektionspresset. Der henvises i øvrigt til appendiks 2 med ordforklaringer på forskellige resistensbegreber.

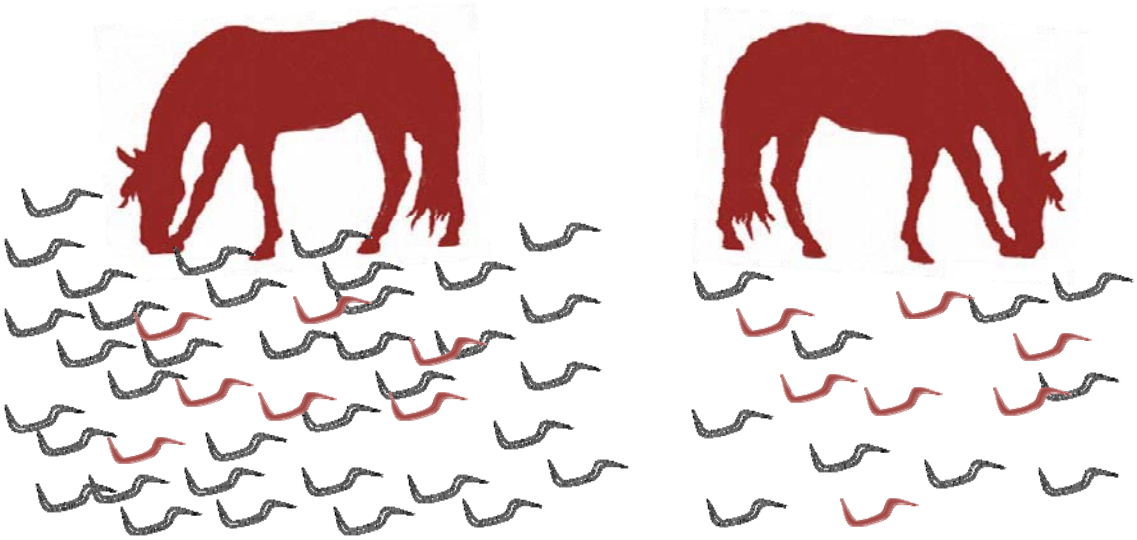
Anthelmintika markedsføres med en anbefalet dosis, der er højere end stoffets 99% effektniveau for den art af orm, som er sværest at slå ihjel med dette stof [132]. Selv om der er resistente orm til stede i en population, kan stoffet godt fortsat være effektivt mod andre arter, som er mere følsomme [132, 134].

1.4.1.1 REFUGIUM

Refugiet er betegnelsen for de orm, der ikke rammes af behandlingen med anthelmintika og dermed ikke udsættes for selektion for anthelmintikaresistens. Begrebet er vigtigt at forstå, for at kunne forholde sig til behandlingsstrategier og problematikken omkring udvikling af resistens. Præparasitære stadier i miljøet vil altid være en del af refugiet [151], og desuden har de forskellige arter af orm har, på baggrund af deres livscyklus og afhængigt af hvilket anthelmintikum man anvender, forskellig størrelse refugium.

Parasittens biologi og epidemiologi, dynamikken i værts-parasit forholdet samt behandlingsfrekvens og -strategi er alle faktorer, der medfører variationer i størrelsen på refugiet [52, 72]. Dette er årsag til, at andelen af orm som findes i refugiet varierer med årstiden [135]. Disse variationer i refugiets størrelse har betydning for den hastighed, hvormed resistens udvikles [52, 72]. Når behandlede dyr udskiller æg fra resistente orm, vil disse i miljøet blandes med af refugiet. Et stort refugium vil virke fortyndende, så den relative andel af larver med resistens fortyndes [100]. Dette forhold er illustreret i figur 1.4-1.

Der ses store individuelle variationer i infektionsgraden hos heste i en besætning [117, 125].



Figur 1.4-1 - Refugiets betydning som fortyndende faktor i forhold til frekvensen af resistente larver. Hesten til venstre græsser i et stort refugium, hvor de resistente larver udgør en mindre andel af den samlede larvebyrde. Hesten til højre er omgivet af et mindre refugium, hvor det samme antal resistente larver udgør en større andel af andel af larvebyrden.

Det er således vist, at en minoritet af hestene udskiller hovedparten af ormene. Denne variation har været tilskrevet forskellige forhold omkring immunitet [51]. Regelmæssige undersøgelser af heste, der udskilte strongylideæg har vist, at heste, der flere gange i træk er fundet at have lav FEC, også har en stor sandsynlighed for at have lav FEC ved den næste undersøgelse [46, 110]. Refugiet kan forstørres ved kun at behandle de massivt inficerede heste, hvorved ormene i de lavgradigt inficerede heste, som ikke behandles, vil indgå i refugiet. Den relative fordeling af populationen mellem refugiet og værten på behandlingstidspunktet har stor betydning for hastigheden, hvormed resistens udvikles [52]. Denne betydning vil blive gennemgået senere.

1.4.2 UDVIKLING AF ANTHELMINTIKARESISTENS

Resistens i nematodepopulationer opstår som et resultat af selektion med anthelmintika [32, 134], idet intens brug af anthelmintika selekterer for genetisk eller fysiologisk resistente individer, der kan overleve behandlingen [121]. Resistens er et naturlig fænomen, der forventes at have eksisteret før behandling med kemiske anthelmintika blev påbegyndt [32]. Resistens er arveligt og nedarves formentlig direkte ved simple Mendelske arvelighedsprincipper [123]. For at udvikle resistens, er det nødvendigt, at gener for resistens er til stede i populationen [135]. Vores forståelse af ormenes genetik er dårlig, men det ser ud til, at generne for resistens er til stede også i en følsom population [123], eller at de kan udvikles ret nemt over få generationer, hvilket danner grundlag for en potentiel hurtig udvikling af resistens [134]. Det er anført, at for hver succesfuld behandling, med det samme anthelmintikum, vil andelen af resistente orm i den behandlede population stige, fordi de orm, der overlever en behandling kan reproducere sig og give deres gener for resistens videre til en ny generation [121]. Nogle nematodearter har forskellig følsomhed overfor behandling afhængig af, hvilket livsstadie de er i, og der kan ses køns- eller artsvariationer [136]. Cyathostomer, mod hvilke ivermectin kun virker mod de luminale stadier og ikke mod de encysterede larver, er et oplagt eksempel på dette [135]. En lille ændring i behandlingseffekten overfor en enkelt art kan være vanskelig eller umulig at registrere i en blandet ormepopulation, hvis det, som ved strongyliderne, ikke er muligt ved fæcesundersøgelsen at differentiere mellem arterne [123, 135]. Larvedyrkninger kan derfor være nødvendige i resistensdiagnostik.

Resistens kan først erkendes klinisk, når et niveau, hvor der ikke længere er klinisk effekt af behandlingen, er opnået [121, 123]. Initielt udvikles resistens langsomt, hvorefter det eskalerer ret hurtigt til maximumniveau [123]. Dette mønster skyldes parasitternes kønnede formering, under hvilken generne rekombineres for hver generation. Herved kommer frekvensudviklingen af et sjældent gen til at foregå relativt langsomt i begyndelsen [29]. Det er anført, at det er essentielt for forebyggelse, at resistens registreres allerede på et tidligt stadium, således at man kan hindre spredning af de resistente gener til resten af populationen [136].

1.4.2.1 IRREVERSIBEL TILSTAND

Anthelmentikaresistens ser ud til at være permanent. Der er ikke tegn på, at ormene bliver følsomme overfor anthelmintika igen, selv hvis de ikke udsættes for stoffet. Dette betyder i praksis, at opnået resistens er evig [72]. Det er anført, at følsomheden overfor et stof teoretisk set burde komme tilbage igen, hvis anvendelsen ophørte. De resistente orm burde blive udryddet som følge af dårlig tilpasningsevne eller modselektion efter behandling med en anden stofgruppe. Dette ville i teorien få frekvensen af alleler med resistens mod det første stof til at falde [72]. Det er vist, at allelerne stadig vil være til stede i populationen og den kraftige selektion, der vil ske, hvis anvendelsen af et middel, mod hvilket der tidligere er udviklet resistens, genoptages, vil betyde, at der hurtigt ses resistens igen [134]. Hos får har været observeret reversion; at følsomheden hos resistente orm vendte tilbage, men denne tilstand har kun varet kortvarigt, når behandling blev genoptaget [76]. Resistens må således opfattes som en irreversibel tilstand.

1.4.3 KONSEKVENSER AF RESISTENS

Behandlingen af ormeinfektioner bygger i dag på medicinering i en sådan grad, at når der opstår resistens, bliver kontrollen af de parasitære infektioner problematisk [32]. Den yderste konsekvens af resistens vil være, at parasitære sygdomme ikke kan behandles med medicin [121], hvilket medfører øget risiko for parasitrelaterede sygdomme hos værtsdyrene [52]. Det er svært at forstå eller forudse resistens før det optræder klinisk. Derfor er meget af den i dag anvendte rådgivning omkring management for at undgå resistens rent teoretisk [133].

Med mere effektive kemiske stoffer til at kontrollere parasitære infektioner øges sandsynligheden for, at der vil udvikles resistens, fordi en mere effektiv behandling i højere grad selekterer for overlevelse af de resistente orm, da følsomme orm ikke overlever behandlingen [123, 134]. Med tiden vil genet for følsomhed blive sjældnere, mens genet for resistens vil ses hyppigere. Med henblik på at mindske denne selektion af de resistente gener, anbefales det at være omhyggelig og forsigtig med brugen af de kemiske stoffer og bruge ikke-kemiske strategier, hvor det er muligt [134]. Resistensmanagement er i praksis en balancegang mellem forebyggelse af klinisk sygdom og bevarelse af effektive anthelmintika. Overdrevet ormekontrol vil hurtigere resultere i udbredt resistens, og for lidt kontrol giver risiko for kliniske parasitære sygdomme [133].

Det har været anført, at det kan være fristende at øge dosis og således fortsat udøve en effekt på parasitterne efter opstået resistens. Samme kilde angiver, at faren ved denne procedure er, at anthelmintika bygger på virkningsmekanismer, der også findes i værtsdyret, og der vil derfor være risiko for, at en øget dosis vil være toksisk for værten [122].

1.4.4 RELEVANTE FAKTORER, DER PÅVIRKER HASTIGHEDEN FOR UDVIKLING AF RESISTENS

Selektionspresset bestemmer, hvor hurtigt resistens udvikles. Bestemmende for selektionspressets størrelse er genetiske, reproduktionsmæssige og adfærdsmæssige forhold ved parasitten samt valget af behandlingsstrategi herunder behandlingsfrekvensen [104]. Det er anført, at der grundet længden af livscyklus, værtsartsspecifikke parasitter og tilstedeværelsen af refugium forventes en langsom udvikling af resistens hos parasitter [32].

1.4.4.1 GENETISKE FAKTORER

De nematoder, der udvikler resistens mod de kemiske anthelmintika har genetiske egenskaber, der selekterer for udviklingen af resistens. Først og fremmest har de et højt niveau af genetisk diversitet, der er et udtryk for variation i genomet [11]. En større genetisk diversitet hos ormene medfører øget sandsynlighed for, at der vil være resistente alleler til stede i populationen. Resistens kan kun opstå i individer, der bærer alleler fra generne for nedsat følsomhed overfor det anvendte stof og findes således udelukkende, hvis denne allel er til stede i den behandlede population [52]. Den genetiske variation i populationer af trichostrongyloide nematoder er stor [56].

Recessiv nedarvning vil give den langsomste resistensudvikling, men arvegangen kan først fastslås, når det aktuelle tilfælde af resistens er kendt [135]. Hos *H. contortus* er det fundet, at genet for ivermectinresistens nedarves dominant som en enkelt allel [77]. Antallet af overlevende voksne orm er afgørende for hastigheden, hvormed resistens udvikles, idet disse orm omgående kan reproducere sig [36]. Det er fremført, at stoffer med forlænget virkningstid vil fjerne en større andel af de resistente adulte fænotyper, men samtidig, at en lang periode med sublethal påvirkning vil selektere for resistens [58].

1.4.4.2 REPRODUKTIONSMÆSSIGE FAKTORER

Ormenes livscyklus har indflydelse på hastigheden, hvormed resistens udvikles, fordi den er afgørende for, hvor mange generationer, der kan udvikles om året. Parasitter med kort og direkte livscyklus, og deraf følgende kort generationsinterval, har størst risiko for at udvikle resistens [135, 136]. Alle hestens vigtige parasitter har direkte livscyklus [45]. Cyathostomernes livscyklus er på mindst 6 uger [130]. *S. vulgaris* har en livscyklus på op mod 40 uger [135]. Der vil være en naturlig årstidsvariation i populationens størrelse særligt med hensyn til de præparasitære stadier. Til sammenligning har fårets trichostrongyloider en højere frekvens af resistens end cyathostomerne og en livscyklus på 4 uger [135]. Forskelle i værtsdyret vil dog også have indflydelse.

1.4.4.3 ADFÆRDSMÆSSIGE FAKTORER OG REFUGIETS BETYDNING

Hesten som værtsdyr har naturligt en populationsstruktur, der muliggør et højt genflow[§] hos parasitterne, idet de naturligt bevæger sig over et stort område og dermed kan optage infektive larver med en anden genetisk sammensætning end dem, de i forvejen huser [11]. Sammen med en stor population af orm giver dette optimale forhold for spredning af de resistente gener [52]. I det moderne hestehold vil der være stor variation i dette genflow afhængig af besætning. Nogle besætninger er meget statiske, mens der i andre sker en stor udskiftning. Nogle har store arealer, andre har mindre.

Præparasitære larvestadier udgør en stor del af refugiet, der er den måske vigtigste faktor i forhold til udvikling af resistens [151]. Et større refugium resulterer i langsommere resistensudvikling, fordi ormene i refugiet ikke behandles og dermed undgår selektionsprocessen for resistente alleler. Ormene i refugiet forbliver således følsomme og kan virke fortyndende på andelen af resistente orm i populationen (se figur 1.4-1). Dermed nedsættes selektionspresset. Refugiet består for cyathostomernes vedkommende desuden af de encysterede stadier i tarmmucosaen ved behandling med ivermectin [151]. Det er beskrevet, at selektionspresset kan udregnes som andelen af hver generation, der er afkom af orme, som har overlevet behandling med anthelmintika. Med et større refugium vil denne andel blive forholdsvis mindre [104].

Flere af hestens nematoder udfører parenteral migration under deres udvikling. Et studie har vist tegn på, at migrerende stadier af *P. equorum* er mindre følsomme overfor normal dosering af ivermectin [35] end de intestinale stadier [90]. Der er ikke publiceret studier omkring koncentrationsfordelingen af ivermectin i forskellige væv. Det er vist, at encysterede larvestadier af cyathostomer ikke påvirkes af ivermectinbehandling [49].

1.4.4.4 VALG AF BEHANDLINGSSTRATEGI

Traditionelt har ormebehandlingen været udført ud fra en af følgende tre behandlingsstrategier: Enten undertrykkende behandling med 6-8 ugers mellemrum, strategisk behandling timet når der var færrest parasitter på marken eller selektiv behandling af heste over et vist infektionsniveau, eller heste som udviser kliniske tegn på parasitær infektion [133]. Sidstnævnte strategi er den, der efter lovændringen i 1999 anvendes i de fleste danske hestebesætninger i dag [112].

Den undertrykkende behandlingsstrategi har tidligere været meget udbredt. Målet er at holde ægudskillelsen så lav, at niveauet af fornyet smitte på græsmarken bliver minimalt [15, 45, 88, 139]. Den vigtigste enkeltfaktor i forhold til hastigheden på resistensudviklingen er hos får vist at være behandlingsfrekvensen [6].

Strategisk behandling bygger på en strategi, hvor omgivelserne bidrager til kontrol af ormene ved behandling på et tidspunkt, hvor eventuelle overlevne orm får de dårligste

---

[§] *Genflow er betegnelsen for transport af genetiske alleler fra en population til en anden, populært sagt en blanding af arveanlæg fra forskellige populationer*

betingelser for at reproducere sig [135]. Det er dog problematisk at fastlægge, hvornår det rigtige tidspunkt for behandling er placeret, da det bl.a. afhænger af klimatiske forhold [134]. Under tørke vil få af de overlevne orm efter behandlingen have mulighed for at reproducere sig, da larverne dør på marken [135].

Den selektive terapi er en behandlingsstrategi, der ikke dræber alle følsomme orm i populationen, idet en begrænset del af populationen udsættes for behandling med det formål at bremse selektionen for resistente orm [133]. De resistente gener vil dermed "fortyndes" mellem de følsomme. I denne behandlingsstrategi får refugiet stor betydning [151]. Årsagen til dette er illustreret i figur 1.4-1.

I det følgende gennemgås nogle af de argumenter og anbefalinger, der i de seneste år er fremført i litteraturen vedrørende forhold af betydning for resistensudviklingen, når behandlingsstrategien fastlægges.

RELEVANTE TILTAG FOR AT FOREBYGGE ELLER FORHALE UDVIKLINGEN AF RESISTENS

Ved ønsket om at forhale udviklingen af anthelmintikaresistens er der grundlæggende tre områder på hvilke, der kan fokuseres: Valg af ormemiddel, behandlingsfrekvens og græsningsstrategi [36]. Disse tre områder vil blive belyst i det følgende.

Simuleringer og undersøgelser hos får har vist, at den største selektion for resistens sker, når effekten af det anvendte middel er 90-99,99%. Simuleringerne viser, at selektion kan undgås ved kun at behandle en del af parasitpopulationen eller ved behandling med henblik på en reduceret effekt på mindre end 90% [134, 135]. Det er fremført, at stoffer med >99,99% effekt burde selektere mindre for resistens, da der vil være for få overlevne individer til at sikre reproduktionen. I praksis kan dette vise sig ikke at være rigtigt, eller at selektionen blot bliver langsommere [135]. Selv ved ekstremt effektive stoffer skal det tages i betragtning, at den faktiske biotilgængelighed** i praksis ikke altid er optimal. Dette kan skyldes forskellige faktorer, blandt andet værtens art og alder samt ukorrekt vægtestimering eller ukomplet tildeling af medicinen, hvis hesten ikke synker hele den tildelte mængde. Disse faktorer vil flytte ormekurens ellers høje effekt ned i området, hvor der er kraftigst selektion for resistens [135].

Det er anført, at stoffer med langvarig effekt, for eksempel ivermectin og moxidectin, der ophobes i fedtvævet, selekterer kraftigere for resistens end kortere virkende stoffer [134]. Den faldende koncentration af stoffet under eliminationsfasen efter behandling er ved computersimuleringer med modeller af får fundet at have mindre indflydelse på selektionen blandt de infektive larver [36]. Der mangler sikker forskning både for og imod dette argument [134]. Der er observeret tegn på, at anthelmintikas farmakokinetiske forskellighed i de forskellige dyrearter kan være en del af forklaringen på, hvorfor der er forskel på

** *Biotilgængeligheden er en farmakokinetisk egenskab ved et stof og beskriver, hvor stor en fraktion af den tildelte dosering, der i uændret form når den systemiske cirkulation og derved kan udøve den tiltænkte effekt. Definitionsmæssigt har i.v. administrerede midler 100% biotilgængelighed. Ved andre administrationsformer vil biotilgængeligheden være nedsat grundet ufuldstændig absorption eller first-pass metabolisme i leveren.*

niveauet af resistens mellem værter. Geder har en meget lav biotilgængelighed for anthelmintika. Deres orm udviser en meget høj grad af resistens [72].

VALG AF ANTHELMINTIKA OG BEHANDLINGSFREKVENS

Det anbefales udelukkende at anvende effektive midler. Midler mod hvilke der er udviklet resistens, eller fra en gruppe af stoffer mod hvilken der er kendt resistens, bør ikke anvendes [63]. Det er anbefalet at udføre årlige eller jævnlige resistensundersøgelser for at have kendskab til, hvorvidt et middel er effektivt i den besætning, der skal behandles [61]. Samme kilde anbefaler, at brug af midler med < 90% effekt undgås. En fortsat brug af anthelmintika mod hvilke der er konstateret resistens vil kun gøre situationen værre, da selektionen for resistens øges [63, 135].

Desuden er det vigtigt at dosere ormekuren korrekt. Det er anbefalet, at hestene vejes, eller at vægten estimeres med vægtmålebånd inden doseringen [63, 119]. Det er fremført, at ejere typisk underestimerer vægten af deres heste, og at det derfor kan være nyttigt, at anbefale en svag overdosering, da underdosering kan selektere for resistens [63, 135].

Den vigtigste årsag til hurtig selektion for anthelmintikaresistens er ved computersimulationer vist at være behandlingsfrekvensen [6]. Det anbefales derfor at nedsætte antallet af behandlinger til et nødvendigt minimum og eventuelt at time behandlingen efter forår og efterår samt eventuelt sommer, hvor ægudskillelsen naturligt er højest og refugiet størst [63, 123].

GRÆSMARKSMANAGEMENT

Som non-kemisk strategi i forhold til resistensudvikling og smittebyrde er management af folde vist at have god effekt [63]. Anvendelsen af anthelmintika i forhold til græsningsstrategien har stor betydning for hastigheden, hvormed resistens udvikles [104], ligesom klimaet har afgørende betydning [135]. Udvikling af resistens kræver, at de resistente parasitter parrer sig, lægger æg, og at larverne overlever og inficerer den næste hest. Man kan således forebygge resistens ved at bryde denne kæde, for eksempel ved at fjerne gødning og dermed æg og larver fra folden [133]. Det er anbefalet at fjerne fæces fra foldene hyppigt, gerne to gange om ugen i sommerperioden [63]. Samgræsning med ruminanter er ligeledes vist at være nyttigt, da heste og ruminanter ikke deler ormebyrde [63]. Desuden er en ikke for høj belægningsgrad afgørende for at mindske smittepresset, ligesom det er vigtigt at kende orme- og resistens status for nyankomne dyr[63]. Heste kan medbringe resistente orm, når de flyttes og derfor er der stor risiko for at få resistente orm ind i besætningen, hvis man har stor udskiftning af heste [135]. Det har været anbefalet, at sætte disse i karantæne indtil status er kendt, så foldene ikke kontamineres med eventuelle resistente orm [63].

1.5 RESISTENS HISTORISK SET

De første rapporter om anthelmintikaresistens kom i slutningen af 1950'ere og starten af 1960 og omhandlede resistens mod phenotiazin hos fårets *Haemonchus contortus* [39]. Kort herefter fulgte rapporter om phenotiazinresistens hos hestens små strongylider [38, 54, 120]. Phenothiazin var ret toksisk overfor værtsdyret, og hestene var mere følsomme end andre dyrearter [93]. I 1961 blev thiabendazol markedsført. Det var det første bredspektrede anthelmintikum fra gruppen af benzimidazoler, som blev begyndelsen til den moderne kemiske strategi mod helmintiske parasitter hos husdyrene. Disse stoffer havde den fordel, at et effektivt bredspektret middel kunne kombineres med lav toxicitet overfor værtsdyret. Thiabendazol og de følgende benzimidazoler blev derfor hurtigt accepteret og meget anvendte [72].

I løbet af få år kom rapporter om resistens mod benzimidazolerne. Resistens blev først rapporteret hos *H. contortus* [27, 43] og derefter cyathostomerne ([40] refereret af [72]). Senere blev resistens fundet hos flere af fårets trichostrongylide nematoder, og der blev iværksat undersøgelser af resistensprævalensen. I 1970'erne fandt man således, at benzimidazol-resistens var almindeligt forekommende hos flere nematodearter hos både får og heste over hele verden. Mønsteret gentog sig i 1970'erne og 1980'erne efter introduktionen af de nyere stofklasser imidazolthiazol-tetrahydropyimidin og avermectin-milbemycin (review af [72]). Herefter kom de første publikationer om orm, der var resistente overfor flere forskellige typer anthelmintika, de såkaldte multiple-drug resistant worms (MDR orm). Det første fund blev gjort i fårets *Trichostrongylus colubriformis* og *Ostertagia circumcincta* i 1979 [137].

I 1990'erne blev rapporter om MDR-orm hos får og geder hyppigere og omhandlede også orm, der var resistente overfor avermectin-milbemyciner. Hermed var anthelmintikaresistens ikke længere et potentielt fremtidigt problem af akademisk interesse, men også en trussel for produktionen af får og geder i mange dele af verden [153]. Forskningen og behandlingsintensiteten er mindre inden for kvægproduktionen, hvor dokumentationen primært består af casereports, og problemet med resistens ser ud til at være mindre [72].

Benzimidazolresistens er mest udbredt og findes over hele verden, særligt hos får, geder og hestes nematoder, og er et stort problem alle steder, hvor stofgruppen har været anvendt regelmæssigt [121]. I 1990'erne rapporteredes gentagne gange, at prævalensen af besætninger med benzimidazolresistente cyathostomer var over 75% [28, 66, 127, 128, 143]. Der er i det sydlige USA rapporteret, at over 40% af besætningerne har pyrantelresistente cyathostomer [73]. Der er ikke dokumenteret resistens hos hestens store strongylider [28]. Dette kan tænkes at have en sammenhæng med deres længere generationsinterval [28].

Der er i dag konstateret resistens hos en eller flere arter af orm mod alle kommercielt tilgængelige anthelmintika til behandling af heste. Tabel 1.5-1 giver et tidsmæssigt overblik over, hvornår og hos hvilke orm, der er konstateret resistens på nuværende tidspunkt.

Tabel 1.5-1 – Tabellen angiver, hvornår der er konstateret resistens imod de bredspektrede anthelmintika hos heste og hos hvilke orm. Tabellen er redigeret efter reference nr. [72].

Kendt resistens mod de store stofgrupper hos heste			
Stof	**Introduceret årstal**	**Første rapport om resistens**	**Resistente orm**
Benzimidazol			
Thiabenda-zol	1962	1965	Cyathostomer ([40] refereret af [72])
Imidothiazoles-tetrahydropyrimidin			
Pyrantel	1974	1995	Cyathostomer [17, 66]
Avermectin-Milbemycin			
Ivermectin	1983	2002	*P. equorum* [14, 57] Bekræftet i 2006 [74] Cyathostomer mistænkt [47]
Moxidectin	1995	2002	*P. equorum* mistænkt [14, 141]

1.5.1 AKTUEL STATUS FOR IVERMECTINRESISTENS HOS HESTENES NEMATODER

De fleste equine parasitologer er overbeviste om, at resistens mod ivermectin hos cyathostomerne er uundgåeligt [25, 72, 85, 135]. Cyathostomer er på nuværende tidspunkt resistente overfor både phenothiaziner, benzimidazoler og pyrantel, hvilket efterlader AM som den eneste fuldt effektive gruppe af stoffer [134, 140]. Der findes endnu ingen rapporter omkring cyathostomers resistens overfor ivermectin på trods af mere end 25 års brug som et af de mest anvendte stoffer [72, 93]. Dog blev der i 2008 rapporteret om en enkelt hest i Australien med manglende effekt af ivermectin imod strongylideæg [47]. Dette tilfælde er ikke undersøgt nærmere. Med den kapacitet cyathostomerne har udvist til at udvikle resistens, må det forventes, at de under de rigtige (eller forkerte) forhold også har kapacitet til at udvikle resistens mod AM [133, 134].

I 2002 kom den første rapport, der viste ivermectinresistens hos *Parascaris equorum* [14], og året efter rapporteredes det samme endnu en gang [57]. I løbet af de senere år, er der kommet flere rapporter omkring ivermectinresistens hos spolorm [83, 92, 94, 105, 140, 141, 152]. Problemet er siden blevet eftervist i et kontrolleret studie, hvor føl, der ikke tidligere havde været inficeret med spolorm, blev eksperimentelt inficeret med spolormæg, der var mistænkt for at stamme fra resistente orm [74]. Efter en præpatenstid på 10 uger fik føllene foretaget fæcesundersøgelser. Når FEC var >300 EPG blev føllene delt i en behandlings- og en kontrolgruppe. Den behandlede gruppe fik ivermectin. 13 dage senere blev begge grupper af føl aflivet. I den mellemliggende tid blev alt fæces opsamlet og undersøgt, og efter aflivning blev føllene obduceret. Der var ikke signifikant forskel på mængden af spolorm for de to grupper [74].

Da ivermectin og moxidectin tilhører samme gruppe, kan det forventes, at der vil opstå sideresistens imellem dem. Moxidectins længere virkningstid og larvocidale effekt overfor de encysterede stadier af cyathostomer kan dermed selektere for ivermectinresistens.

1.5.2 RESISTENS I DANMARK

I Danmark kom den første rapport om resistens hos hestens indvoldsparasitter i 1991, hvor der blev fundet udbredt resistens hos cyathostomerne mod benzimidazoler hos 13 af 16 besætninger [9]. I 1998 udførtes endnu en undersøgelse, der fandt benzimidazolresistens hos strongyliderne, på 79% af de undersøgte besætninger og mistanke om pyrantelresistens på 30% af besætningerne [28]. Der fandtes ingen ivermectinresistens. I 2008 blev gennemført en undersøgelse af pyrantelresistens hos strongylider. Denne viste, at 18,75% af besætningerne var under grænsen for resistens med effekt <90% og nedre konfidensinterval <85% [113].

Der blev i 2005 registreret tegn på ivermectinresistens hos spolorm i en enkelt besætning med en behandlingseffekt på 70% [140]. Dette er ikke undersøgt nærmere siden.

1.5.3 UDVIKLING AF NYE STOFFER

AM har indtil nu haft god effekt på både hestens store og små strongylider. Derfor er der ikke fra industriens side gjort meget for at udvikle nye stofklasser de seneste år [72]. Resistens hos hestens parasitter er foreløbig mindre udbredt end hos fårene, hvor problemet er hyppigt forekommende. Der er endnu ikke påvist orm hos heste mod hvilke, der ikke findes et effektivt middel, men problemet bør tages alvorligt, idet AM er nøglestoffer i equine anthelmintika pt. [72]. Derfor vil det få betydning for antallet af kliniske tilfælde, hvis, eller når, der udvikles resistens mod disse stoffer [71], forudsat at der ikke inden da er udviklet nye, bredspektrede anthelmintika. Resistensniveauet har vist sig at kunne stige hurtigt [72].

1.5.3.1 MONEPANTEL

Der er ingen kendte planer om markedsføring af nye midler i den nærmeste fremtid [72]. Af de nye anthelmintika, der arbejdes på at udvikle, er Monepantel det mest lovende. Monepantel tilhører en ny stofgruppe, der har bred anthelmintisk virkning og lav toksicitet overfor pattedyr. Den har effekt overfor både voksne orm og larvestadier og er foreløbig testet i gnavere, får og kvæg med lovende resultater og effekt også overfor orm, der er resistente eller multiresistente overfor de tre nuværende stofgrupper [69, 70]. Midlet er endnu ikke testet på heste.

1.6 DETEKTION AF RESISTENS

Anthelmintikaresistens kan detekteres enten ved *in vivo*- eller *in vitro* undersøgelser. *In vivo* undersøgelserne omfatter Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT), der i praksis er den eneste anvendelige metode samt kontrollerede studier, hvor grupper af behandlede og ikke behandlede dyr aflives og den totale ormebyrde sammenlignes [144]. Sidstnævnte metode er dyr, ikke anvendelig i praksis og vil ikke blive beskrevet nærmere. FECRT anvendes i dette speciale og vil blive beskrevet herunder.

Der findes en mængde *in vitro* metoder, der hver især er brugbare til detektion af resistens mod en specifik stofgruppe eller et bestemt anthelmintikum. De fleste af disse test er udviklet til detektion af benzimidazolresistens hos får [144]. Relevante metoder til detektion af ivermectinresistens vil blive gennemgået senere.

1.6.1 FECRT

FECRT er en simpel metode til at undersøge reduktion i det fækale ægudskillelsestal. Værtsdyret testes for udskillelse af parasitæg ved en fæcesundersøgelse med FEC, behandles mod parasitter og testes igen efter et tidsrum, hvor det anvendte middel kan forventes at have haft effekt. De to målinger, før og efter behandling, kan sammenlignes og hermed kan reduktionen beregnes [24]. Heste, der skal deltage i FECRT bør behandles med den fra forhandleren anbefalede dosering af ormemidlet [26]. For heste behandlet med ivermectin anbefales det at lave FECRT test 14-17 dage efter behandling, men hvis flere midler testes samtidig anbefales 10-14 dage af praktiske årsager [23].

FECRT kan anvendes til at undersøge resistens mod alle typer af anthelmintika [121, 145] og er standardmetode for klinisk diagnostik af anthelmintikaresistens hos heste [71]. Metoden er standardiseret af World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) [24], men til heste mangler der retningslinjer og en af litteraturen generelt accepteret standard for, hvordan testen skal udføres og data analyseres, ligesom der ikke er en vedtaget grænseværdi for, hvornår der tales om resistens for andre midler end benzimidazoler [71, 119]. En svaghed ved FECRT er, at den først afslører resistens, når det er udviklet. FECRT er kun sikker, når mere end 25% af ormene er resistente, hvilket dog ikke er ringere end *in vitro* test [99].

De største ulemper og begrænsninger ved FECRT er, at den er dyr at udføre og tager lang tid. Variation i tællinger mellem dyrene på grund af individforskelle udgør en stor fejlkilde, og mange hestebesætninger har ikke så mange heste, som det ville være at foretrække for at få optimale data ud af undersøgelsen. Selv på den samme besætning er der stor variation mellem hestenes FEC [119].

1.6.2 *IN VITRO* METODER TIL DIAGNOSTIK AF IVERMECTINRESISTENS

Til detektion af ivermectinresistens findes larvale udviklingstest og migrationstest. Disse test er udviklet til brug på fårets nematoder. Der er udviklet *in vitro* larval assays til får, der har været anvendt til heste [67], men senere er det fundet, at denne type test ikke var brugbare hos heste [106]. Ligeledes til får er der udviklet en motilitetstest til tredje stadie larver af *H. contortus* [55]. Vores viden omkring de præcise virkningssteder og -mekanismer for ivermectin er på nuværende tidspunkt så lille, at det er usandsynligt, at specifikke og sensitive molekylære prober til detektion af resistens på et tidligere tidspunkt vil kunne udvikles [121] Dette efterlader os reelt uden alternativer til FECRT i hestepraksis.

1.7 GRÆNSEVÆRDIER FOR IVERMECTINRESISTENS

Der findes ikke i litteraturen en vedtaget grænse for, hvornår der er så lav effekt af behandling med ivermectin mod indvoldsorm hos heste, at der er tale om resistens.

WAAVP fastsatte i 1992 anbefalinger og retningslinier for detektion af anthelmintikaresistens [24]. I denne publikation blev der primært fokuseret på nematoder fra får og geder. Her definerede man, at der var tale om resistens, når effekten af behandlingen var <95% og den nedre grænse for 95% konfidensinterval på mindre end 90%. Hvis kun en af disse betingelser er opfyldt er resistens mistænkt men ikke bekræftet. Disse grænser er blevet accepteret og anvendes som standard inden for parasitologi vedr. får og geder [71].

Hestene fik ikke stor opmærksomhed under udarbejdelsen af disse retningslinier. Det anførtes, at resistens hos heste primært var kendt imod benzimidazolerne og oftest hos cyathostomer. Anbefalingen til detektion af resistens var FECRT, og grænseværdien for resistens blev anbefalet at ligge på 90% effekt af behandling. Metoden skulle være sammenligning af aritmetisk gennemsnit[††] af FEC efter behandlingen og FEC for en kontrolgruppe [24]. Denne grænse har været genstand for stor debat, og er ikke rigtig blevet accepteret i litteraturen. Det har været anført, at den ikke har nogen statistisk forklaring [7], og foreslået, at denne grænseværdi sandsynligvis var valgt som et forsøg på at kompensere for den store variation, der findes hos hestene og de som oftest mindre grupper af dyr på hver besætning [119]. WAAVPs retningslinier indeholder ingen anbefalinger for andre anthelmintika end benzimidazoler, og der er ingen anbefalinger for, hvor mange heste, der bør være i en behandlingsgruppe, hvad FEC før behandling bør være som inklusionskriterium for en undersøgelse eller hvordan data bør analyseres. Dette vanskeliggør forskning og sammenligning af resultater inden for området, og har ført til, at WAAVPs guidelines ikke er blevet bredt accepteret af de eksisterende forskere, der hver især bruger egne definerede standarder [71, 119].

1.7.1 BEREGNING AF FECR

Et studie undersøgte 5 forskellige beregningsmetoder for reduktionen i FEC (Fecal Egg Count Reduction (FECR)) med det formål at finde den bedste metode til detektion af resistens [28]. Her fandtes, at metoden anbefalet af WAAVP til får var den mest sensitive. Desuden fandtes, at en metode, hvor samme kriterium anvendtes på geometrisk gennemsnit[‡‡] af individuelt beregnede behandlingseffekter kunne være anvendelig på små grupper af dyr, fordi der ikke var behov for kontrolgruppe [28]. Et lignende studie anvendte ligeledes det arithmetriske gennemsnit, men sammenlignede de behandlede heste med en kontrolgruppe og udregnede således FECR som $(EPG_{kontrol} - EPG_{behandlet})/EPG_{behandlet}$ [24]. Førstnævnte studie foretrak metoder, hvor der var to kriterier for resistens i form af både

[††] *Det aritmetiske gennemsnit er betegnelsen for det "almindelige" gennemsnit, hvor observationerne summeres og divideres med antallet af observationer. (Læg alle tal sammen og divider med antallet af tal)*

[‡‡] *Det geometriske gennemsnit beregnes ved at tage den n'te rod (hvor n=antal observationer) af produktet af alle observationer. (Gang alle tal sammen og tag [antallet-af-tal]-roden af resultatet)*

en grænse for gennemsnit og nedre konfidensinterval, fordi dette gav mulighed for at stille diagnosen mistænkt resistens i besætninger, der kun opfyldte et kriterium [28]. Et andet studie evaluerede 3 forskellige måder at udregne effekten af behandling på og anbefalede, at man udregnede FECRT for de individuelle heste ($EPG_{før}$ –EPG_{efter})/$EPG_{før}$ og at man derefter transformerede data og udregnede gruppens gennemsnit: Transformed group mean= Arithmetic mean(arcsin, square root af individuelle effekter) [119].

1.7.2 ANVENDTE GRÆNSEVÆRDIER I LITTERATUREN.

Der er i litteraturen blevet henstillet til, at en international accepteret grænseværdi for resistens bør fastsættes, da en sådan grænse har stor betydning for, hvor mange tilfælde af resistens der rapporteres, ligesom det er essentielt, at standarder for udførelse og analyse af FECRT bliver ensartet [71]. Ved fastsættelse af denne grænseværdi, er det anført, at man bør være opmærksom på, at de små grupper der arbejdes med inden for den equine parasitologi giver en stor variation i resultaterne [71]. Det har været anbefalet, at når effektiviteten er forventet til at være ≥99%, så bør grænseværdien for resistens være <95% effekt på arithmetriske gennemsnit af tilstrækkeligt store behandlingsgrupper til at se statistisk signifikante afvigelser [26]. Ulempen ved denne metode er, at en lav prævalens af resistente orm vil blive overset, ligesom en svag stigning i den dosering, der dræber 95% af ormene ikke vil registreres, fordi producentens anbefalede dosis ofte er meget højere end den krævede dosis for effekt [26].

Det har været fremført, at moderne bredspektrede anthelmintika bør resultere i en FECR på mere end 95% [144]. Andre forskere har anset en anvendt grænseværdi på 95% med nedre konfidensinterval (LCL) på 90%, som det der anbefales af WAAVP for de små drøvtyggere [24], for at være for konservativt. Derfor har de anbefalet en højere grænse, under henvisning til, at behandling med ivermectin hidtil har haft så godt som 100% effekt to uger efter behandling mod alle strongylideæg, og at selv få EPG derfor må anses for bekymrende [71]. Det har endvidere været diskuteret, at der bør være forskellige grænseværdier for de forskellige midler, idet de fra udgangspunktet har forskellige profiler overfor følsomme parasitter [32, 119]. Samme kilde anbefaler for ivermectin imod cyathostomer, hvor der forventes en effekt >99,9%, at grænsen skal ligge på 98% og med nedre konfidensinterval <95%. Begge kriterier skal opfyldes. Hvis kun det ene er opfyldt, er der mistanke om resistens. For andre stoffer er højere grænseværdier anbefalet [119].

Forskellige grænser, der har været anvendt i litteraturen og de fund, der er gjort i forhold til resistens imod ivermectin hos hhv. cyathostomer og spolorm fremgår af tabel 1.7-1.

Tabel 1.7-1 Oversigt over resultater af tidligere resistensundersøgelser efter ivermectinbehandling mod cyathostomer og spolorm. Tabellen illustrerer desuden, hvilke grænseværdier forskellige studier har anvendt og/eller anbefalet som deres definition på resistens. Bemærk, at ikke alle rapporter om behandlingseffekt tager stilling til, hvor deres resultat ligger i forhold til en kritisk grænseværdi.

Resistensgrænser for Ivermectin behandling anvendt i litteraturen				
Anvendt grænse	**Fundet effekt cyathostomer**	**Fundet effekt *P. equorum***	**Årstal**	**Kilde**
Kritisk studie 200 mg/kg	96- >99%	100%	1980	Lyons *et al.* [90]
90%			1986	Bauer *et al.*[7]
90%			1992	Coles *et al.*[24]
<80% (80-90% mistænkt og >90% effektiv)	99%		1993	Repta *et al.* [127]
95% LCL 90% (får)	96-100%		1995	Ihler
90%	99,9%		1996	Chapman *et al.* [17]
95% LCL 90% (får)	100%		1998	Craven *et al.*[28]
Forskellige for forskellige midler, 95% for AM			2000	Dargatz *et al.* [32]
90%	100%		2000	Reuber et al[128]
<80% (80-90% mistænkt og >90% effektiv)	100%		2001	Tarigo-Martinie *et al.* [143]
		Nedsat effekt, 7-43%[§§]	2002	Boersema *et al.* [14]
Anvendt 90%, Anbefaler 98% og LCL <95%	100%		2002	Pook et al [119]
<90%		8 af 12 føl med 0% effekt	2003	Hearn og Peregrine [57]
<80% (80-90% mistænkt og >90% effektiv)	99,9%		2004	Kaplan *et al.* [73]
	Fuld effekt	Nedsat effekt	2006	Lyons *et al.* [92]
		Caserapport, behandlingssvigt	2006	Stoneham og Coles [142]
Kontrolleret studie		Resistens	2006	Kaplan *et al.* [74]
95%		70%	2007	Schougaard [140]
<80% (80-90% mistænkt og >90% effektiv)			2007	Traversa *et al.*[147]
	ERP<5 uger	Nedsat effekt hos én hest	2007	Von Samson-Himmelsjerna
		33,5%	2007	Slocombe et at. [141]
	Manglende effekt i én hest		2008	Edward *et al.* [47]
		Ingen effekt	2008	Lindgren *et al.*[83]
	99,8%[§§]		2008	Lyons *et al.*[95]

[§§] *Jeg har udregnet effekten ud fra kildens angivne resultater*

1.8 EGG REAPPEARANCE PERIOD

Der findes ikke i litteraturen én fast og vedtaget definition af Egg Reappearance Period (ERP). Begrebet dækker generelt over tiden fra behandling med et anthelmintikum, til der igen udskilles æg i fæces, men der er i litteraturen ikke enighed om, hvor mange æg eller hvor lille effekt af behandlingen, der skal til, før perioden defineres som afsluttet. Forskellige studier har forsøgt forskellige definitioner. Der er enighed om, at ERP udregnes på baggrund af gennemsnittet af EPG tallet for en gruppe af heste, idet målet for behandlingen er at reducere ægudskillelsen og ormebyrden for flokken af heste som en helhed [12, 15, 102]. I det næste afsnit, "Tidligere anvendte grænseværdier", gives en oversigt over de forskellige definitioner og grænseværdier, der tidligere har været anvendt ved ERP studier.

Det er fremført, at det er nødvendigt at overvåge resistensudviklingen mere nøje end ved blot at vente på behandlingssvigt, som ved brug af FECRT [135]. Således er det forventet, at forkortet ERP efter behandling vil være det første tegn på begyndende resistensudvikling [26, 135]. På baggrund af et længere studie konkluderedes, at ERP sandsynligvis ville være forskellig for unge og ældre dyr, således at forkortet ERP vil findes først i unge dyr[62]. Det er således anført, at kortere ERP er korreleret med udviklingen af anthelmintikaresistens. Forkortet ERP må ikke forveksles med resistens [135]. Der kan findes variation i den normale ERP mellem forskellige species og geografiske lokaliteter [135]. Derfor kan overvågning bestå af at etablere en baselineværdi for ERP i en region og så monitorere denne værdi regelmæssigt, særligt hos unge dyr [135].

Der er ikke enighed i litteraturen om metoden til udregning af ERP. Nogle studier benytter besætningens gennemsnits FEC før og efter behandling og beregner herudfra effekten for besætningen [12, 13]. Denne metode benævnes i denne tekst som "pooled gennemsnit". Andre udregner effekten for hvert enkelt individ og udregner besætningens gennemsnit som gennemsnittet af individernes effekter [143, 152]. Denne metode benævnes i denne tekst "gennemsnit på baggrund af individ effekt" eller "individeffekt gennemsnit".

1.8.1 TIDLIGERE ANVENDTE GRÆNSEVÆRDIER

Tidligere studier er udført under forskellige forudsætninger og med forskellige definitioner af ERP. Således kan sammenligning af forskellige studier i litteraturen ikke med sikkerhed foretages med det formål at afgøre, hvorvidt den kortere ERP, der ses inden for de 25 år ivermectin har været på markedet, er indikation på begyndende resistens [143]. Et forsøg på et overblik over de anvendte metoder til bestemmelse af ERP samt fund fra disse undersøgelser er givet i tabel 1.8-1

Adskillige studier har anbefalet, at ERP bruges som behandlingsinterval, således at behandlingsstrategien fastlægges ud fra den enkelte besætnings ERP i et forsøg på at opnå en konstant lav ægudskillelse fra alle heste [12, 13, 15, 45, 48, 59, 89, 102, 135, 139, 149, 150]. Denne behandlingsstrategi er tidligere omtalt som undertrykkende behandling.

I 1990'erne arbejdedes i Holland en del med ERP, og meget af det senere arbejde på området baserer sig på resultater og anbefalinger fra disse studier [12, 13, 15]. Boersema *et al.* [12] definerede i 1995 ERP som "Tiden mellem behandling og det tidspunkt, hvor det gennemsnitlige FEC er 10% eller mere af det gennemsnitlige EPG på behandlingsdagen". Denne definition baserer sig på tidligere konklusioner af Borgsteede *et al.* [15], der definerer ERP som "Gennemsnitligt FEC på mindst 10% af det gennemsnitlige ægtal inden behandlingen" eller "Nedbringelse af ægtallet med mindst 90%", hvilket må formodes at være det samme. Von Samson-Himmelstjerna *et al.* [152] brugte for nylig på baggrund af ovenstående definitionen: "Tiden mellem behandling og det første fund af FECR lavere end 90%" som grænseværdi for ERP i sine undersøgelser. Tarigo-Martinie *et al.* [143] definerede en lavere grænse med ERP som "Tidspunktet efter behandling, hvor FEC er 20% eller mere af FEC før behandling"

Boersema *et al.* [12] foreslog i sin diskussion en anderledes definition af ERP end den i studiet anvendte, og fremførte, at dette burde være uden brug af procenter for at gøre ERP uafhængig af det initiale FEC og af individuelle heste, der udskiller store antal æg. Det foreslås således, at definitionen på ERP kan være "Perioden efter behandling, med ingen eller et lavt, acceptabelt niveau af udskilte æg". Under henvisning til tidligere studier blev det foreslået, at et acceptabelt niveau kunne være en gennemsnits FEC lavere end 100 EPG [59] eller 200 EPG [149]. Således blev anbefalingen fra dette studie, at ERP bør være "Perioden efter anthelmintisk behandling i hvilken, det gennemsnitlige ægtal ikke overskrider 100 EPG" [12]. Denne anbefaling anvendes af samme forfatter i et senere studie, hvor der ud fra denne definition findes ERP på 9 uger efter ivermectinbehandling [13]. Det argumenteres ikke for, hvorfor grænsen på 100 EPG vælges frem for 200 EPG.

Flere studier har taget udgangspunkt i definitioner fra anbefalinger i forbindelse med en undertrykkende terapistrategi, hvor ERP defineredes som "Perioden efter behandling, hvor udskillelsen af æg er på et negligerbart niveau" eller "Minimumstiden det tager, for et signifikant antal små strongylider at udvikles til adulte stadier efter reinfektion med infektive larver" [45]. Et studie definerede på denne baggrund ERP som "Perioden efter behandling, hvor hestene har FEC mindre end eller lig med 200 EPG"[102]. Med samme baggrund definerede andre studier ERP som "Tiden fra behandling, til halvdelen af de behandlede heste havde positiv FEC" [89] og "tidspunktet hvor genbehandling af besætningen burde finde sted", hvilket ifølge denne kilde var det samme som "Tiden efter behandling til 25% af hesteflokken har FEC større end 200 EPG" [150]. Et senere studie definerede en positiv ægudskillelse som FEC >100 EPG for føl og plage og FEC>200 EPG for voksne heste, men definerer efterfølgende ERP "Antal uger fra behandling med ivermectin til der findes æg i fæces" [84].

Kun få studier har taget stilling til normal ERP og herunder en grænse for, hvornår ERP er forkortet. De studier, der har rapporteret forkortet ERP har konkluderet dette dels ud fra tidligere litteratur og dels ud fra betragtning af enkelte besætninger i forhold til andre [95, 105, 152]. Det har også været forsøgt at definere ERP, som et tidspunkt i forhold til behandlingen, hvor det er forventeligt, at effekten bliver mindre frem for en grænse i effekt. Således defineredes ERP som "8 uger efter behandling med ivermectin" [48]. Et tidligere stu-

die definerede forkortet ERP som positiv FEC tidligere end 8 uger [84]. Ved nogle af de tidlige undersøgelser på virkningstiden for ivermectin blev ikke defineret en decideret ERP, men det fandtes, at alle behandlede heste var fri for æg eller lavt ægudskillende indtil 70 dage efter behandling. Ved 91 dage efter behandling udskilte de fleste heste æg i højere eller mindre grad [139]. Et længere studie, hvor effekten af blandt andet ivermectin blev undersøgt fandt, at ERP for unghestene blev forkortet i løbet af de tre år deres undersøgelse varede. FEC var 6 uger efter behandling det første år 0 EPG og to år senere ligeledes 6 uger efter behandling 236 EPG [62]. Lignende fund, der viser kortere ERP for unge dyr er gjort efterfølgende [13, 48].

Tabel 1.8-1 – Sammenligning af de i litteraturen anvendte definitioner af ERP og den fundne ERP for heste inficeret med strongylider og behandlet med ivermectin. Som det fremgår, er der anvendt forskellige definitioner af forskellige forfattere, hvorfor sammenligning af studier skal foretages med stor forsigtighed.

Tidligere fundne ERP for ivermectinbehandlede heste				
Årstal	**Effekt udregnet**	**ERP definition**	**Fundet ERP**	**Kilde**
1986	Nej	Reinfektion	10-13 uger	Schatzmann *et al.*[139]
1989	Nej	50% af flokken EPG>0	10 uger	Lumsden *et al.* [88]
1990		Gennemsnit <100 EPG	6-8 uger	Herd og Gabel [62]
1992		*25% af flokken EPG>200*	*3-19 uger!*	*Uhlinger (cb[150])*
1993		nej	77% efter 8 uger	Repeta *et al.* [127]
1993		90% effekt	9 (7-11) uger	Borgsteede [15]
1995	Geometrisk gennemsnit	200 EPG	10 uger	Jacobs *et al.* [68]
1995	Pooled EPG	90% effekt	*Studie på pyrantel*	Boersema *et al.* [12]
1996	Pooled EPG	100 EPG	6-9 uger	Boersema *et al.* [13]
2001			85,9% efter 7 uger	Martin-Downum *et al.* [98]
2001	Individeffekt	80% effekt	<6 uger	Tarigo-Martinie *et al.* [143]
2001		200 EPG	8 uger (56-60 dage)	Mercier *et al.* [102]
2003	Ej oplyst / Pooled EPG	EPG>0 ved 8 uger	< 8 uger	Little *et al.*[84]
2007	Individeffekt	90% effekt	< 5 uger	Von Samson-Himmelstjerna *et al.* [152]
2008	Pooled EPG	100 EPG	8 uger	Andreasen og Lindbom [2]
2008	Individuel	EPG>0	4 uger	Lyons *et al.* [95]
2008		EPG>0	4 uger	Dudeney *et al.*[44]
2008			4 uger	Molento [105]

2. Første Artikeludkast

Ivermectins effekt

UNDERSØGELSE AF IVERMECTINS EFFEKT MOD DANSKE HESTES NEMATODER OG RESISTENSNIVEAUET HOS DISSE

2.1 SAMMENDRAG

Anthelmintikaresistens er et udbredt problem i store dele af verden. Cyathostomerne har udviklet resistens overfor flere grupper af anthelmintika, men der findes endnu ikke bekræftede tilfælde af ivermectinresistens hos cyathostomer. Ivermectinresistens hos *Parascaris equorum* er bekræftet for nylig. Et feltstudie i Danmark blev udført for at fastslå resistensniveauet mod ivermectin hos hestens almindeligste nematoder. I undersøgelsen deltog i alt 196 heste behandlet ud fra en selektiv terapistrategi. 79 af disse heste var inficeret med *P. equorum*. 117 heste var udelukkende inficeret med strongylider. Hestene blev behandlet med ivermectin (ca. 0,2 mg/kg) oral pasta. Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) blev udført 10-15 dage efter behandling. Gruppen af heste inficeret med *P. equorum* havde 96,9% effekt af behandlingen. 10% af hestene havde <90% effekt. Alle heste med strongylideæg havde 100% effekt af ivermectinbehandlingen. Resultaterne tyder på, at den særlige strategi med lovgivning om receptpligte anthelmintika og selektiv terapi, der har været praktiseret i Danmark de seneste 10 år, kan have en positiv effekt på resistensniveauet.

2.2 ABSTRACT

Anthelmintic resistance is a widespread problem in many parts of the world. Cyahtostomins have developed resistance to several groups of anthelmintics, but still no confirmed cases of ivermectin resistance in cyathostomins have been reported. Ivermectin resistance in Parascaris equorum *has recently been confirmed. A field study was conducted in Denmark to determine the degree of ivermectin resistance in common horse nematodes. The study involved a total of 196 horses, each treated with a selective treatment strategy. 79 of these horses were infected with* P. equorum*. 117 horses were infected only with strongyles. The horses were treated with ivermectin (approximately 0.2 mg/kg) oral paste. Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) was performed 10-15 days post treatment. The group of horses infected with P. equorum showed 96.9% efficacy of treatment. 10% of the horses showed <90% efficacy. All horses which had passed strongyle eggs showed 100% efficacy of treatment with ivermectin. The results suggest that the specific stategy with prescription-only anthelmitics legislation and selective treatment which have been practiced in Denmark for the last 10 years may have had a positive effect on the degree of resistance.*

2.3 INTRODUKTION

Anthelmintikaresistens hos heste er over hele verden et voksende problem. Cyathostomerne, der i dag anses for den vigtigste parasit hos den voksne hest [40], er på nuværende tidspunkt resistente overfor både phenothiaziner, benzimidazoler og pyrantel, hvilket efterlader avermecitn/milbemycin (AM) som den eneste fuldt effektive kommercielt tilgængelige gruppe af anthelmintika mod disse orm [32, 66, 69]. Der findes endnu ingen rapporter fra kontrollerede studier omkring cyathostomers resistens overfor ivermectin på trods af mere end 25 års brug som et af de mest anvendte stoffer [32, 46]. De fleste equine parasitologer er dog overbeviste om, at resistens mod ivermectin hos cyathostomerne er uundgåeligt [32, 39, 67]. Med den kapacitet de hidtil har udvist til at udvikle resistens, må det forventes, at de også har kapacitet til at udvikle resistens mod AM [66]. Fornyligt har forskellige forskere rapporteret om forkortet Egg Reappearance Period (ERP) hos cyathostomer efter ivermectinbehandling på ned til 4 uger [21, 48, 52, 74] mod tidligere forventede ERP på 6-10 uger[10, 12]. De nyeste undersøgelser på området [49] tyder på, at denne forkortede ERP er et udtryk for tilstedeværelsen af ivermectinresistente fjerde stadium larver (L_4), der kort tid efter behandlingen er i stand til at etablere en ny generation af adulte reproduktionsdygtige cyathostomer.

I 2002 kom den første rapport, der viste ivermectinresistens hos *Parascaris equorum* i Holland[11] og året efter rapporteredes det samme fra Canada [26]. I løbet af de senere år, er der kommet flere rapporter omkring ivermectinresistens hos spolorm [38, 45, 47, 52, 69, 70, 74]. Problemet er siden blevet bekræftet [34], og det er nu kendt, at der flere steder i verden findes ivermectinresistente spolorm.

I Danmark kom den første rapport om resistens hos hestens indvoldsparasitter i 1991, hvor der blev rapporteret udbredt resistens hos cyathostomerne mod benzimidazoler [9]. I 1998 udførtes endnu en undersøgelse, der fandt benzimidazolresistens hos cyathostomerne på 79% af de undersøgte besætninger og mistanke om pyrantelresistens på 30% af besætningerne. Der fandtes ingen ivermectinresistens [18]. I 2005 blev der registreret tegn på ivermectinresistens hos spolorm i form af nedsat behandlingseffekt [69], og i 2008 blev udført en undersøgelse, der viste pyrantelresistens i 19% af de undersøgte besætninger. Studiet fandt desuden en overraskende høj prævalens af *Strongylus vulgaris*, idet 48% af besætningerne blev testet positive [54].

I 1999 besluttedes en lovændring i Danmark [4], der gjorde anthelmintika receptpligtige og forhindrede præventiv behandling. Lovændringen blev foretaget i et forsøg på at bremse udviklingen af anthelmintikaresistens. Lovgivningen har haft den konsekvens, at overvågning og behandling af gastrointestinale parasitter i næsten 10 år har været et veterinært anliggende, hvilket er helt unikt for Danmark. I dag benyttes i de fleste danske hestebesætninger en selektiv terapistrategi [53]. Resistensundersøgelser i danske heste sammenlignet med undersøgelser fra andre lande med anderledes lovgivning og behandlingsstrategier vil måske kunne give os information omkring den langsigtede effekt af en selektiv terapi i forhold til at bremse resistensudviklingen.

Dette studie sigter mod at fastlægge det nuværende niveau af resistens mod ivermectin hos nematoder i danske heste. AM er for tiden nøglestoffer i equine anthelmintika [31], og resistensniveauet har vist sig at kunne stige hurtigt [32]. Det vil få stor betydning for prævalensen af kliniske tilfælde af parasitrelaterede sygdomme, hvis (eller når) der udvikles resistens mod AM [31]. Ivermectin er det absolut mest benyttede anthelmintikum i Danmark [53]. Der er ikke udført resistensstudier i Danmark omkring cyathostomer og ivermectin de seneste 10 år. Det er 5 år siden, der blev fundet ivermectinresistens hos spolorm i Danmark, og niveauet er ikke undersøgt siden. Undersøgelse af det aktuelle niveau er derfor yderst relevant i forhold til overvågningen af resistensudviklingen i Danmark således, at praktiserende dyrlægers behandlingsprotokol har mulighed for at afspejle den aktuelle situation. Studiet er udformet som et feltstudie, hvor alle undersøgelser er foretaget på tilfældige, privatejede heste, der frivilligt har deltaget i undersøgelserne.

2.4 MATERIALER OG METODER

Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) blev udført på i alt 196 heste, der rutinemæssigt blev undersøgt for orm og behandlet med ivermectin i efteråret 2008. Undersøgelserne blev gennemført i perioden primo september til medio november. Det er søgt at anvende metoder, der gør fundene sammenlignelige med, hvad man vil kunne finde under praksisforhold. Alle indledende prøver var opsamlet af hesteejerne selv og indsendt uopfordret med posten til et laboratorium, hvor de blev undersøgt på ankomstdagen.

Efter den indledende undersøgelse fik ejere til heste med positivt fund af *Parascaris equorum* (i alt 79 heste) eller med >200 EPG strongylideæg (i alt 117 heste) tilsendt ivermectin (Noromectin vet. Oral pasta, 1,78%. Norbrook Laboratories Limited; Anbefalet dosis 0,2 mg/kg[6]). Hestene blev behandlet af hesteejeren selv. Anvisningen fra laboratoriet var behandling efter vægt. Vægtvurdering og dosering blev foretaget af hesteejeren. Disse data er ikke registreret.

De indledende undersøgelser er foretaget i september-oktober 2008 af Equi Lab[***]. Alle opfølgende undersøgelser er udført 10-15 dage efter første prøve. Prøver fra heste med spolorm er undersøgt af samme laboratorium. Prøver fra heste med strongylideæg er undersøgt på Studenterlaboratoriet ved IPH[†††]. Alle prøver blev udtaget af hesteejerne selv og indsendt med posten til laboratoriet, eller de blev indsamlet af en dyrlægestuderende enten ved rektal udtagelse eller som frisk afsat gødning. Instruktionen til ejerne var, at der skulle opsamles frisk afsat (varm) fæces i en lufttæt pose, der blev klemt tom for luft og lukket med en knude. Alle prøver blev undersøgt af laboratoriet på ankomstdagen.

[***] *Equi Lab, v. Stig Langeskov Petersen, Jørlunde Overdrev 7, 3550 Slangerup*

[†††] *Studenterlaboratoriet ved Institut for Produktionsdyr og Heste, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet. Højbakkegaards Allé 5, 2630 Taastrup*

Alle fæcesundersøgelser (Fecal Egg Count, FEC) er foretaget med en simpel McMaster metode med en detektionsgrænse på 50 EPG [64]. Grænseværdier for at erklære resistens er i dette studie vedtaget til gennemsnitlig behandlingseffekt af hele gruppen af heste på <90% for spolorm og <95% for strongylider.

2.4.1 UNDERSØGTE HESTE

I undersøgelsen deltog i alt 197 ivermectinbehandlede heste, der blev inddelt i to grupper på baggrund af det gjorte fund ved den indledende undersøgelse. Hos 79 af hestene var der ved den indledende undersøgelse positivt fund af æg fra *Parascaris equorum.* Der er fra disse heste kun registreret de fundne parascarisæg, men hovedparten af hestene udskilte desuden strongylideæg i større eller mindre omfang. De 79 heste stammede fra 42 forskellige besætninger og havde en gennemsnitsalder på 2,1 år (95% konfidensinterval (KI) 1,6 - 2,5). I 117 af de undersøgte heste blev der ved den indledende undersøgelse udelukkende fundet strongylideæg. Der er ikke foretaget larvedyrkning på disse æg med henblik på artsdifferentiering af de fundne strongylideæg. Disse 117 heste stammede fra 10 forskellige besætninger og havde en gennemsnitsalder på 8,7 år (KI 7,0-9,7 år). Sammensætningen af de undersøgte heste fremgår af Tabel 2.4-1. De undersøgte heste med spolorm stammede fra besætninger over hele landet. Hestene med strongylider var alle opstaldet på Sjælland, de fleste i nærheden af København.

Tabel 2.4-1 – Deskriptive parametre for heste, der indgik i studiet. Det gennemsnitlige fund af æg i fæces før behandling for heste inficeret med henholdsvis P.equorum *og Strongylider samt antallet af undersøgte besætninger og heste samt disses gennemsnitlige alder er angivet. Tal i parentes angiver 95% konfidensinterval for det angivne gennemsnit.*

Undersøgte heste, før behandling				
Infektion	**Antal heste**	**Antal besætninger**	**Gennemsnitsalder**	**FEC gennemsnit før behandling**
P. equorum	79	42	2,1 år (1,6-2,5)	323 EPG (262-385)
Strongylideæg	117	10	8,7 år (7,6-9,4)	491 EPG (421-562)

2.4.2 FECAL EGG COUNT REDUCTION

Databehandlingen blev foretaget med Microsoft Excel 2007, SP1[‡‡‡]

På grund af det meget lille antal heste fra hver besætning, særligt med hensyn til hestene med spolorm, blev det besluttet at udføre dataanalyserne ud fra en betragtning om, at alle hestene i hver gruppe var stikprøver af én stor population. Der er således ikke foretaget analyser på besætningsniveau.

For hver individuelle hest blev effekt af behandlingen udtrykt som reduktionen i fækal ægudskillelse (Fecal Egg Count Reduction (FECR)) beregnet ud fra følgende formel:

[‡‡‡] *Microsoft Coorporation, USA*

$$FECR = \frac{FEC_{før\ behandling} - FEC_{efter\ behandling}}{FEC_{før\ behandling}} \times 100\%$$

Det aritmetiske gennemsnit af disse tal blev beregnet for de to grupper af heste, ligesom der blev fundet standardafvigelser og 95% konfidensinterval for hver gruppe af heste. Desuden beregnedes prævalensen af individuelle heste med effekt under den fastsatte grænse for resistens.

2.4.3 STATISTIK

Beregning af styrke og stikprøvestørrelser er foretaget med GraphPad StatMate 2.00 Demo[§§§]. Analyserne er foretaget med et signifikansniveau på 95%, α=0,05. Ved en undersøgelse af hestene med spolorm var stikprøven på 79 heste. Med ønsket om at detektere en forskel på 100 EPG og den fundne spredning på 280 er styrken β=0,89. For at opnå β=0,8 var kravet til stikprøvestørrelsen 62 heste. For hestene med strongylideæg var testens styrke β=0,83 med stikprøvens størrelse på 117 heste, detekterbar forskel på 100 EPG og spredning på 372. For at opnå β=0,8 var den nødvendige stikprøvestørrelse 109.

Hypoteserne for studiet er, at der ikke er resistens:

$H_{0\text{-}1}$ = Gennemsnitlig effekt af ivermectinbehandling mod Parascaris >90%

$H_{0\text{-}2}$ = Gennemsnitlig effekt af ivermectinbehandling mod Strongylideæg >95%

Afgørelsen om at acceptere eller forkaste H_0 er foretaget ud fra vurdering af, om grænseværdierne var indeholdt i 95% konfidensintervallet for den pågældende gruppe af heste. Der er ikke udført statistiske analyser på datasættet.

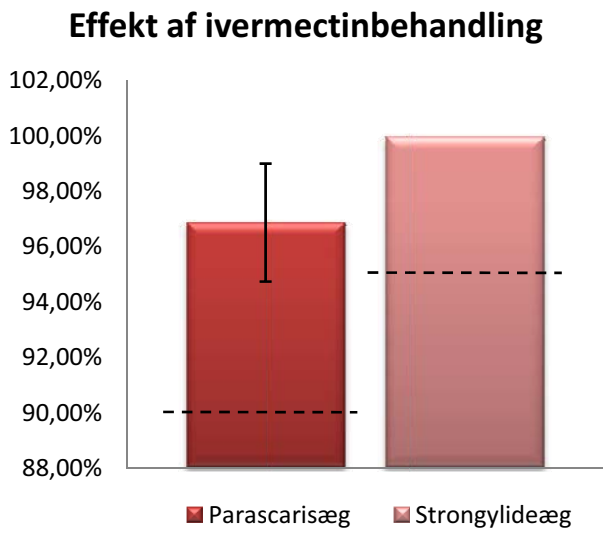
2.5 RESULTATER

2.5.1 HESTE MED PARASCARIS EQUORUM

Ved den indledende undersøgelse før behandling havde hestene med spolorm i gennemsnit 323 EPG (KI 262 - 385 EPG) hidrørende fra *P. equorum*. For yderligere detaljer henvises til tabel 2.4-1.

[§§§] *GraphPad Software Inc., USA*

I alt 9 af de 79 undersøgte heste inficeret med *P. equorum* udviste <90% effekt af behandlingen. Dette svarer til, at 10,1% af de undersøgte *P. equorum*-inficerede heste havde effekt under den definerede grænse for resistens. I gennemsnit havde de 79 undersøgte heste 96,9% (KI 94,8%-99,0%) effekt af ivermectinbehandlingen. Hypotesen H_{0-1} kan dermed ikke forkastes. På Figur 2.5-1 er resultatet illustreret og sammenlignet med hestene inficeret med strongylider

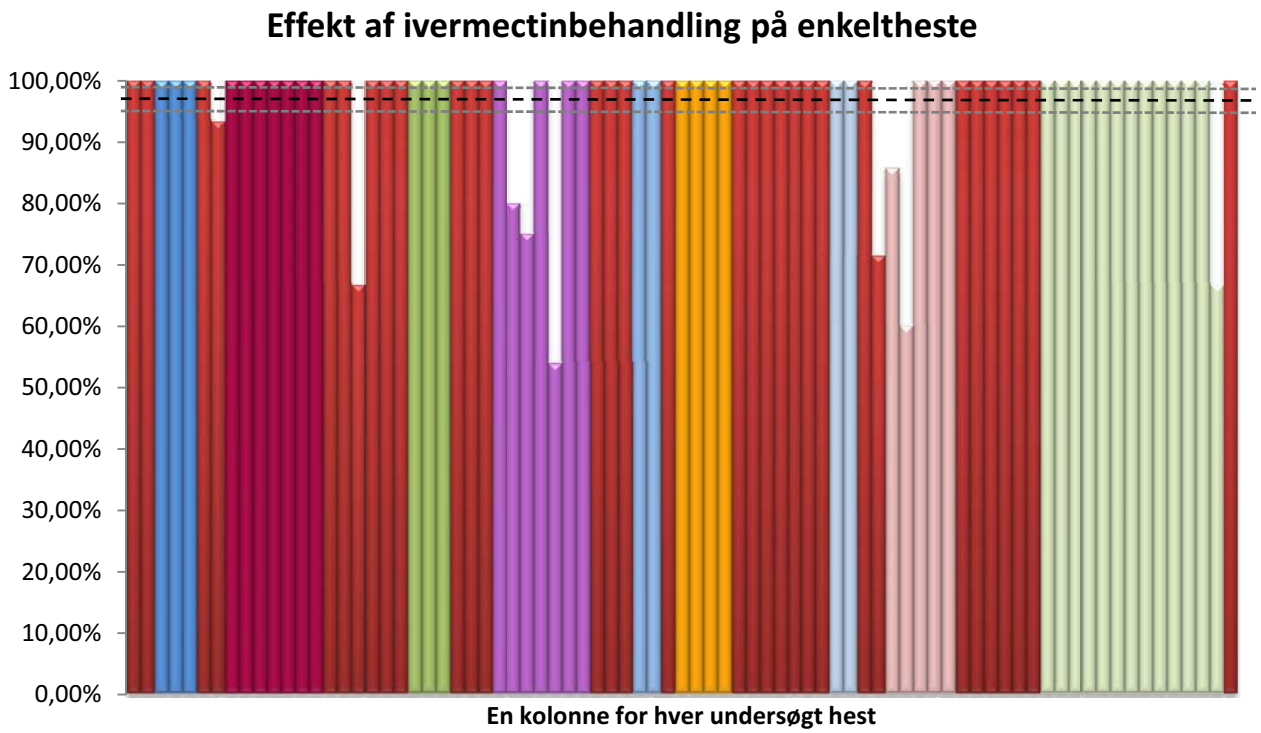


Figur 2.5-1 - Effekt af behandling med ivermectin hos heste med henholdsvis spolorm- og strongylideæg. Den stiplede linie på hver kolonne angiver grænsen for resistens på henholdsvis 90 og 95%. Den lodrette fejllinie angiver 95% konfidensinterval.

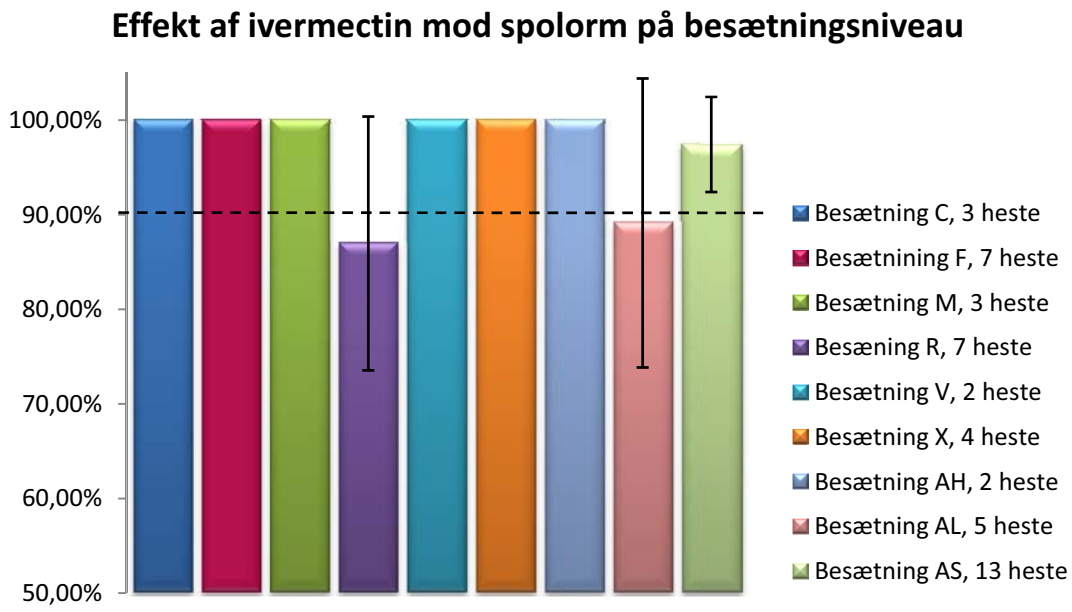
Illustration af variationen i behandlingseffekten mellem de individuelle heste med spolorm ses i figur 2.5-1. Hos en enkelt hest var der ingen effekt af behandlingen med ivermectin og FEC steg fra behandling til FECRT. Denne hest betragtes som outlier og er udeladt af datasættet, da det, som følge af den manglende kontrol med ejerens dosering, ikke kan udelukkes, at den manglende effekt skyldes fejldosering.

Fra 9 besætninger blev undersøgt mere end 1 hest. Figur 2.5-3 viser besætningsgennemsnittet af behandlingseffekt for disse 9 besætninger. I 2 besætninger (22,2%) var gennemsnittet <90%, henholdsvis 87,0% (KI 73,6-100,4%) og 79,1% (KI 73,9-104,4%).

Mange af hestene med spolorm var inficeret med strongylideæg før behandlingen med ivermectin. Efter behandling fandtes ingen strongylideæg.



Figur 2.5-2 – Effekt af ivermectinbehandling på individniveau for heste med spolorm. Hver kolonne svarer til én undersøgt hest. Den stiplede linie angiver den gennemsnitlige effekt for denne gruppe heste, 95,66%, mens de to punkterede grå linier angiver henholdsvis øvre og nedre grænse for 95% konfidensintervallet. Røde søjler repræsenterer heste, fra besætninger med kun en behandlet hest. Søjler i andre farver repræsenterer heste fra besætninger med flere heste. Hver farve repræsenterer en besætning. Farverne der er anvendt er de samme som anvendt til den tilsvarende besætning i figur 2.5-3.



Figur 2.5-3 –Effekt af ivermectinbehandling på besætningsniveau. Besætninger med mindst to heste er medtaget på figuren. Det er angivet, hvor mange heste med spolorm, der blev behandlet fra den pågældende besætning. Fejllinierne angiver 95% konfidensinterval. Den stiplede linie angiver den definerede grænseværdi for resistens på 90%.

2.5.2 HESTE MED UDELUKKENDE STRONGYLIDEÆG

Ved den indledende undersøgelse før behandling havde disse heste i gennemsnit 495 EPG (KI 432-558 EPG) Der henvises i øvrigt til tabel 2.4-1. De 117 heste, der ved første undersøgelse kun udskilte strongylideæg, havde ved FECRT alle 0 EPG og således, som det er illustreret i figur 2.5-1, 100% effekt af behandlingen med ivermectin. Dette betyder, at hypotesen H_{0-2} ikke kan forkastes.

2.6 DISKUSSION

Studiets resultater afslørede overordnet ikke problemer med ivermectinresistens hos spolorm eller strongylider i den undersøgte population af danske heste ved FECRT 10-15 dage efter behandling.

Der fandtes en gennemsnitseffekt af ivermectinbehandling mod *P. equorum* på 96,9% (KI 94,8%-99,0%). Da 90% ikke er indeholdt i konfidensintervallet, kan det konkluderes, at gennemsnitseffekten er signifikant forskellig fra den vedtagne grænse for resistens på 90% effekt, og at der dermed ikke på undersøgelsestidspunktet var resistens overfor ivermectin hos spolormene i den undersøgte hestepopulation. Hos 10% af hestene var effekten <90%. Hos alle undersøgte heste med strongylideæg fandtes 100% reduktion af FEC efter ivermectinbehandlingen.

2.6.1 EFFEKTEN AF IVERMECTIN IMOD SPOLORM

Dette studie har vist, at ivermectin er effektivt mod spolorm i flertallet af heste. Effekt af behandlingen på <90% fandtes i 10% af hestene og 2 ud af 9 besætninger med mere end én hest. Dette er et markant lavere niveau end en 5 år gammel undersøgelse, der fandt gennemsnitligt 70% effekt og resistens hos 2 af 5 undersøgte heste fra samme besætning [69].I langt de fleste besætninger er spolormene fortsat følsomme overfor ivermectin. Resultatet viser, at der er behov for at kende den enkelte besætnings resistensstatus. Ivermectin bør ikke bruges mod spolorm i besætninger, hvor der er konstateret resistens, i fortsat brug vil selektere yderligere for resistens [29]. Der bør således altid udføres FECRT efter ivermectinbehandling af spolorm.

Den fundne effekt i denne undersøgelse er langt højere, end rapporteret i lignende studier de seneste år. Den første og hidtil eneste rapport omhandlende effekten af ivermectin mod *P.equorum* i Danmark rapporterede, at der var 70% (95% KI: 57-82%) effekt [69]. Denne undersøgelse, der omhandlede 5 føl fra samme besætning, hvoraf to udviste resistens, er på nuværende tidspunkt ca. 5 år gammel. Der er ikke publiceret yderligere resultater omkring udviklingen i denne besætning.

Analyse af resultaterne fra besætninger med mere end én hest viste, at to besætninger havde <90% effekt, hvilket tyder på besætningsproblemer med resistens blandt spolormene. Disse to besætninger havde henholdsvis 87,0% (KI 73,6-100,4%) og 79,1% (KI 73,9-

104,4%) effekt af behandlingen. Dette er noget højere effekt end den tidligere undersøgelse, men da konfidensintervallet fra denne besætning overlapper konfidensintervallerne fra begge besætninger i nærværende undersøgelse kan der ikke konstateres signifikant forskel. I den tidligere undersøgelse var resultatet signifikant lavere end grænsen for resistens. Grænsen for resistens er ligesom 100% effekt indeholdt i konfidensintervallet for begge besætninger i nærværende studie. Det bør bemærkes, at besætninger med 5-7 heste som disse rapporter stammer fra giver en meget lav statistisk styrke for resultaterne. Som gennemgået i metodeafsnittet var det nødvendigt med 62 heste i en stikprøve for at få en styrke på β=0,8. En stikprøve fra samme population vil med et krav om at detektere en forskel på 100 EPG have en styrke på β= 0,12. En stikprøve i den nødvendige størrelsesorden er kun mulig at skaffe i meget få besætninger under danske forhold. Resultaterne må derfor accepteres og vurderes under hensyn til den lave styrke.

Mistanke om, at spolorm var resistente mod ivermectin, rapporteredes første gang i Holland i 2002, hvor der rapporteredes om nedsat eller manglende effekt af behandling med både ivermectin og moxidectin mod spolorm med en maximal effekt på 43%[****] efter ivermectinbehandling [11]. I 2003 rapporteredes fra Canada, at 8 af 12 føl behandlet med ivermectin havde fund af parascarisæg efter behandlingen i samme eller højere antal end FEC før behandling [26]. Fund af ivermectinresistente spolorm er senere blevet bekræftet i et kontrolleret studie i USA [34], og der er gentagne gange er rapporteret om nedsat eller manglende effekt af ivermectin mod spolorminfektioner [38, 45, 52, 70, 71, 74]. Fundet i dette studie afviger dermed kraftigt fra andre nyere publicerede undersøgelser. Den særlige danske lovgivning på området kan være en mulig årsag og denne forklaring vil blive diskuteret senere.

2.6.1.1 DOSISBEGRÆNSENDE PARASIT

Det er anført, at *P. equorum* er den dosisbegrænsende parasit i undersøgelser med ivermectin[32], altså at det er denne, der først vil vise resistens overfor midlet. Der findes ikke publicerede studier med denne konklusion og dermed ingen dokumentation for, at det skulle være tilfældet. Argumentet, der anføres er, at de immature migrerende stadier vil være mindre modtagelige overfor behandling med den anbefalede dosering. Hvis det skulle forholde sig som anført, at *P. equorum* skulle være den dosisbegrænsende parasit på grund af lavere følsomhed i de migrerende stadier, vil ægudskillelsen først forekomme, når disse stadier er adulte og reproduktive 60-90 dage senere [41].

I en undersøgelse blev der fundet tegn på, at de immature stadier i lever og lunger er mindre følsomme overfor en dosering på 0,2 mg/kg [20]. I et andet studie blev det vist, at de intestinale stadier er følsomme overfor lave doser omkring 0,05-0,1 mg/kg [42]. Ved de første undersøgelser af ivermectins effekt overfor spolorm i starten af 1980'erne fandtes i feltstudier fuld effekt af ivermectin i 10-12 uger (70-84 dage) efter behandling, dog fandtes i en enkelt hest positiv FEC 4 uger efter behandling [43]. Kontrollerede studier viste

---

[****] *Artiklen angiver udelukkende FEC før og efter behandlingen, beregning af FECR udtrykt i % effekt er foretaget af mig.*

ingen spolorm i tarmen ved obduktion 7 dage efter behandling med oral ivermectinpasta [43]. Ved brug af ivermectin på injektionsform udskilte enkelte *P. equorum* æg i halvdelen af hestene 2 uger efter behandling [43]. Præpatenstiden for *P. equorum* er 72-115 dage[13]. Da både præpatenstiden og tiden fra migration til adult stadium således er oplyst i litteraturen at kunne variere med op til 30 dage, og de to intervaller overlapper som følge af larvernes migrationstid, kan det ikke med sikkerhed afgøres, om fund af parascarisæg i fæces 70-84 dage efter behandling stammer fra reinfektion (72-115 dage) eller migrerende larvestadier (60-90 dage), der ikke er blevet påvirket af behandlingen.

Når der som i nærværende og tidligere studier findes parascarisæg i fæces 10-14 dage efter behandling må disse nødvendigvis stamme fra adulte eller præadulte hunner i tarmlumen, som ikke er døde af behandlingen. *P. equorum* har således vist sig, at være den første af hestens parasitter, der udviklede resistens overfor ivermectin [34]. Om dette skyldes, at de migrerende larvestadier aldrig har været fuldt følsomme, og at der dermed er blevet selekteret for resistens, kan ikke afgøres ud fra den publicerede litteratur. At der ikke findes larver i tarmen 7 dage efter behandling[43] er udelukkende et udtryk for, at ingen larver har fortsat deres migration fra lungerne til tarmen efter behandlingen. Det giver ingen viden om, hvad der er sket med larverne, og om de er døde. Migration fra leveren gennem lungerne og til tarmen tager mere end 7 dage, idet opholdet her er ca. 14 dage af de 3 uger migrationen tager [13], og undersøgelsen siger således intet om, hvad der er sket med larver, der på behandlingstidspunktet opholdt sig i leveren. Ivermectin biotransformeres efter optag fra tarmen i leveren til mindre aktive stoffer. Det er derved muligt, at koncentrationen af ivermectin lokalt i leveren kan være lavere end i resten af vævet. Man kan dermed forestille sig, at migrerende larver, der opholder sig i leveren på behandlingstidspunktet, udsættes for subletale doser af ivermectin, hvilket kan selektere for resistens [67]. Det er således ikke givet, at det faktum, at spolorm blev den første af hestens nematoder, som udviklede ivermectinresistens, skyldes, at de er mindre følsomme overfor stoffet. Det kan ligeså vel begrundes i, at de under deres migrationsrute som en del af deres udvikling risikerer at blive udsat for subletale koncentrationer af ivermectin. Denne påstand kan underbygges af, at pyrantel og benzimidazol, mod hvilket der ikke er udviklet resistens, henholdsvis ikke optages og kun i ringe grad optages og biotransformeres i kroppen [1]. Herved vil de migrerende stadier blot optræde som refugium uden kontakt til det behandlede stof.

2.6.2 EFFEKT MOD STRONGYLIDER

Hos alle heste med strongylider fandtes 100% reduktion af FEC 2 uger efter ivermectinbehandlingen. Fuld effekt af ivermectin mod strongylideæg er forventet, og hvad der hidtil har været rapporteret i litteraturen [18, 33, 45, 58, 72]. Ivermectin har været anvendt i mere end 25 år imod cyathostomer, der endnu ikke har udviklet resistens. Det er fremført som en mulig forklaring, at cyathostomerne ikke er i stand til at blive resistente overfor avermectin/milbemyciner, fordi tidligere behandlinger med andre stofgrupper har reduceret den genetiske diversitet til et punkt, hvor de eksisterende arter og genotyper ikke er i stand til at udvikle resistens. Dette virker dog usandsynligt ud fra den betragtning, at den

genetiske diversitet ikke erre begrænset globalt [67]. En fremsat teori er, at cyathostomer ikke bliver resistente overfor ivermectin, fordi det ikke påvirker de encysterede larvestadier i mucosaen [31]. Da de encysterede larver ofte er langt i overtal i forhold til de adulte i lumen, der bliver påvirkede af ivermectin, udgør de encysterede således et stort refugium, der kan nedsætte selektionspresset betydeligt og dermed forsinke udviklingen af resistens.

Det er fremsat, at længerevarende effekt vil selektere for resistens i højere grad end en kortere effekt, fordi ormene udsættes for stoffet i længere tid. Ivermectin er det korteste virkende af avermectin/milbemycinerne og derfor sandsynligvis også det stof fra denne gruppe, der selekterer mindst for resistens [67]. Da ivermectin og moxidectin tilhører samme gruppe, kan det forventes, at moxidectins længere virkningstid og larvocidale effekt overfor de encysterede stadier af cyathostomer kan være årsag til sideresistens og dermed forårsage ivermectinresistens.

Den første og hidtil eneste rapport om behandlingssvigt af ivermectin overfor strongylider kom fra Australien i 2008 , hvor der hos en enkelt hest var set manglende effekt af ivermectinbehandling[22]. På det seneste er der kommet rapporter om forkortet ERP fra flere steder i verden [21, 48, 52, 74]. Forkortet ERP menes at være et udtryk for begyndende resistens [67], og det ser ud til, at den forkortede ERP hos cyathostomerne skyldes tilstedeværelsen af ivermectinresistente L_4 [49]. I Danmark er der på nuværende tidspunkt ikke fundet tegn på forkortet ERP [35].

2.6.3 BETYDNINGEN AF DEN DANSKE BEHANDLINGSSTRATEGI

Fundene i dette studie; ingen fund af ivermectinresistens hos spolorm med en behandlingseffekt på 96,9% og 100% effekt af ivermectin mod strongylideæg kombineret med viden om, at der ikke er fundet forkortet ERP på strongylideæggene [35] er en styrke for den unikke danske strategi på området.

Den fundne effekt mod spolorm i dette studie er højere, end hvad der er fundet i tidligere publikationer. Enkelte heste (10%) og få besætninger (2 ud af 9, svarende til 22%) udviser tegn på resistente spolorm med effekt <90%. For at be- eller afkræfte denne mistanke er det nødvendigt at udføre kontrollerede studier på dyr inficeret med de æg, der mistænkes for at stamme fra resistente spolorm. Et sådan studie er tidligere udført [34] med æg fra et tidligere fund af mistænkt ivermectinresistens hos spolorm [70], hvilket bekræftede fundet af resisstens.

At effekten tilsyneladende er højere i Danmark end i andre lande kan med stor sandsynlighed skyldes den lovgivning, der siden 1999 har gjort, anthelmintika receptpligtige[4]. I Danmark har lovændringen været årsag til en gradvis ændring i behandlingsmønsteret og ført til en selektiv behandlingsstrategi med færre behandlinger [53]. Selv om mange dyrlæger stadig udskriver ormekur til føl og plage uden først at have udført fæcesundersøgelser [53], er der god grund til at tro, at behandlingerne foregår med langt mindre frekvens end i andre lande. Inden loven trådte i kraft, blev danske heste behandlet i gennemsnit ca. 4

gange årligt [37]. I 2006 så det ud til, at de fleste dyrlæger anbefalede 2 årlige fæcesundersøgelser og kun behandlede heste med fund af mere end ca. 200 EPG [53]. Ved demonstration ud fra en computermodel for får er det vist, at den vigtigste enkeltfaktor i forbindelse med resistensudvikling er behandlingsfrekvensen [7]. For at forsinke udviklingen af resistens anbefaledes derfor, at behandle sjældnere, hvilket netop er den effekt, den danske lovgivning ser ud til at have haft..

Mindre behandlingshyppighed vil give mindre selektion for resistens og derfor er der grund til at tro, at den danske strategi med selektiv terapi og dyrlægen som rådgiver i forbindelse med parasitbekæmpelse har forsinket udviklingen af resistens i dette land. Denne enkeltstående undersøgelse kan dog ikke alene hverken be- eller afvise denne påstand. Flere og fremtidige studier sammenholdt med de udenlandske fund må vise, om lovgivningen har haft den ønskede effekt.

2.6.4 RESISTENSDEFINITIONER OG GRÆNSEVÆRDIER

Der findes ikke en af litteraturen vedtaget grænse for hvornår, der er så lav effekt af behandling med ivermectin, at det defineres som resistens. I 1992 fremsatte World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) deres anbefalinger og retningsliner for detektion af anthelmintikaresistens [17]. I denne publikation fokuseredes primært på nematoder fra får og geder. Her defineredes resistens, når effekten af behandlingen var <95% og den nedre grænse for 95% konfidensinterval var mindre end 90%. Hvis kun én af disse betingelser er opfyldt er resistens mistænkt men ikke bekræftet. Disse grænser er blevet godt accepteret og anvendes som standard inden for parasitologi hos får og geder [31].

Hestene fik ikke megen opmærksomhed i denne publikation. Grænseværdien for resistens blev anbefalet at ligge på 90% effekt af behandling ved detektion af benzimidazolresistens hos cyathostomer. Til detektion af resistens anbefaledes FECRT. FECR skulle beregnes ved sammenligning af aritmetisk gennemsnit af FEC efter behandlingen og FEC for en kontrolgruppe [17]. Denne anbefalede grænse på 90% har været genstand for stor debat, og er ikke blevet accepteret fuldt ud i litteraturen. Det er anført, at den ikke har nogen statistisk forklaring [8]. Der er ingen anbefalinger for andre anthlemintika end benzimidazoler. Der eksisterer ingen anbefalinger for, hvor mange heste, der bør være i en behandlingsgruppe, hvad FEC før behandling bør være som inklusionskriterium, eller hvordan data bør analyseres. Disse manglende kriterier vanskeliggør forskning og sammenligning af resultater, fordi hver forsker har sin egen metode og blandt andet disse manglende vejledninger har ført til, at WAAVPs retningslinier ikke er blevet bredt accepteret af de eksisterende forskere, der hver især bruger egne definerede standarder [31, 58].

Det er blevet undersøgt, hvilken beregningsmetode der giver den største sensitivitet ved beregning af FECR effekt. Et studie af 5 metoder til beregning af FECR fandt, at WAAVPs anbefalinger vedrørende grænseværdier hos får gav den største sensitivitet og, at metoden desuden havde den fordel, at to kriterier skulle opfyldes for at konkludere resistens i en besætning [18]. Således kunne der også opstilles mistanke om resistens ved kun et op-

fyldt kriterium. WAAVPs grænseværdi for heste på 90% gav lidt lavere sensitivitet og manglede muligheden for at finde mistænkt resistens. Et andet studie evaluerede 3 forskellige måder at udregne effekten på og anbefalede, at man beregnede FECRT for de individuelle heste og derefter transformerede data og udregnede gruppens gennemsnit [58]. Det er desuden fundet, at en metode, hvor geometrisk gennemsnit af individuelt beregnede behandlingseffekter kunne være anvendelig på små grupper af dyr, fordi der ikke var behov for kontrolgruppe [18].

Det er anført i kritik af WAAVPs retningslinier, at grænseværdien på 90% for hestene sandsynligvis er valgt i et forsøg på at kompensere for, at der som oftest kun findes mindre grupper af dyr på hver hestebesætning og, at der findes stor variation i ægudskillelsen [58]. Der er ikke udført studier, der underbygger denne påstand og korrelationen mellem ægudskillelse og ormebyrde hos heste er ikke kendt. Hos mennesker med hageorminfektion er det fundet, at FEC korrelerer godt til den adulte ormbyrde [68]. Undersøgelser af får har vist en god korrelation mellem ormebyrden og ægudskillelsen for andre arter end *Nematodirus spp [51].* Det er anført, at der hos fårets *Ostertagia spp* er der et ikke lineært forhold mellem ægudskillelsen og ormebyrden [60]. Ved studier vedrørende hestens spolorm, er der observeret store variationer i ægudskillelsen fra dag til dag og variationer på 50-17500 EPG over 12 dage [14, 15]. Ved undersøgelser af heste med strongylider er det observeret, at ægudskillelsen fra den individuelle hest kan svinge over tid med nogle hundrede EPG om dagen [25, 35, 48].

Den anvendte McMasters detektionsgrænse, variationen i ægudskillelsen, ikke kontrollerede faktorer omkring dosering af ormekuren, samt indsamling og opbevaring af fæcesprøver forud for analysen giver anledning til usikkerheder i studiedesignet. Der må tages højde for disse usikkerheder, når grænseværdier for resistens fastsættes.

Valget af grænseværdi, når resistens defineres, vil påvirke udfaldet af undersøgelsen og andelen af heste eller besætninger i hvilke der konstateres resistens. Dette er demonstreret ved tidligere sammenligninger af beregningsmetoder [18, 58]. Disse sammenligninger har desuden vist, at en høj grænseværdi giver en højere sensitivitet, hvilket betyder, at testen har stor sandsynlighed for at påvise resistens, hvis det er til stede i en besætning (sandt positive). Sensitiviteten kan også øges ved at øge antallet af prøver [5]. Specificiteten angiver sandsynligheden for at en besætning, hvor der ikke er resistens vil konkluderes ikke resistent (sandt negative). På besætningsniveau er sammenhængen mellem sensitiviteten og specificiteten således, at en højere sensitivitet vil give en lavere specificitet [5]. Dette er vigtigt, ved fastlægning af grænseværdien for resistens. En høj grænse og dermed en høj sensitivitet vil give flere resistensdiagnoser, både sande hos besætninger, hvor der forekommer resistens og, på grund af den lave specificitet, også falske i besætninger hvor resistens ikke er til stede.

En publikation har ønsket at lægge en meget høj grænseværdi for resistens. Således er foreslået en grænse på 98% med et nedre konfidensinterval på 95% [58] . Det førte argument er, at FECRT kun er sikker, når mere end 25% af ormene er resistente [50]. En så høj grænse vil af de tidligere beskrevne årsager detektere et højt antal falsk positive besæt-

ninger. I et ønske om at undgå falsk positive kræves en høj specificitet. Dette opnås ved en lavere, mere konservativ grænse for resistens. Således har en grænse for resistens på 80% og mistænkte resistens i intervallet mellem 80 og 90% været anvendt flere gange [33, 63, 72].

I dette studie var det ønsket at påvise resistens, hvis det var til stede, men samtidig at undgå påvisning af resistens i falsk positive besætninger. Ønsket om både høj sensitivitet og høj specificitet er ikke muligt at opfylde i studier med diagnostik på besætningsniveau [5]. Under skelen til de tidligere observerede variationer i ægudskillelsen [14, 15, 25, 35, 48], blev det valgt at fastsætte forskellige grænseværdier for de forskellige arter af orm. Der er valgt en mere konservativ grænse på 90%, for spolorm end for strongyliderne, hvor grænsen blev fastsat til 95%. På grund af den antydede større sikkerhed i det observerede ægtal blev det vurderet, at variationen i observerede ægtal er mindre end for spolorm, hvormed usikkerheden i undersøgelsen bliver mindre, og den højere grænseværdi kan forsvares. Denne højere grænse skyldes også, at der ikke tidligere er konstateret resistens mod ivermectin hos strongylider. En høj grænse vil som omtalt give høj specificitet og mulighed for at detektere resistens tidligst muligt, hvilket var ønsket i denne undersøgelse. Et fund af resistens med en så høj grænseværdi som anvendt for strongylider i dette studie må nødvendigvis eftervises i et kontrolleret studie, før diagnosen stilles med sikkerhed. For at opnå en større sikkerhed i de fundne resultater vil det være nødvendigt at gentage studiet på et større antal heste fra flere besætninger, således at diagnostik kan foretages på besætningsniveau. Hidtil har kun få danske dyrlæger regelmæssigt udført FECRT [53]. Det må anbefales, at FECRT udføres langt hyppigere, status for resistens på besætningen eller i praksisområdet kendes og optimale behandling kan iværkesættes.

Det ville være en fordel med mere end et kriterium som grænseværdi, da dette giver større sikkerhed i diagnosen af resistens og muligheden for at kategorisere en besætning som mistænkt. Kombinationen 95% effektgennemsnit og 90% som nedre grænse for konfidensintervallet har været anvendt og anbefalet [8, 18]. En mulig anbefaling fremadrettet for grænseværdier ved ivermectinresistens ville være denne kombination af 95% effekt og nedre konfidensinterval på 90% for strongylider og en lavere på 90% effekt og 80% nedre grænse for konfidensintervallet for spolorm. Denne forskel må begrundes i den større spredning, der ofte ses i forbindelse med spolorm, fordi kun få heste i hver besætning er inficeret. Anvendelse af disse grænser ville ikke have ændret på konklusionerne i denne undersøgelse hverken for spolorm eller strongylider, men ville give et mere sikkert krav i undersøgelser, hvor resultaterne var anderledes.

2.6.5 STUDIETS DESIGN OG METODER

Det er vigtigt at tage metodens usikkerhed i betragtning ved vurdering af studiets fund. Feltstudier som det her udførte er brugbare i overvågningen af anthelmintikas effektivitet, men har visse begrænsninger, da data udelukkende består af fæcesundersøgelser, hvor ormebyrden estimeres på baggrund af ægudskillelsen. Således diagnosticeres kun æglæggende orm af hunkøn. Hanner og præpatente larvestadier kan ikke diagnosticeres på denne måde [28]. Hunormenes frugtbarhed er vist at have variationer over tid [55]. Korrelationen mellem infektionsbyrden og ægudskillelsen kendes ikke hos heste. En større sikkerhed for de fundne data kan opnås i kontrollerede studier, hvor hestene aflives, og den aktuelle ormebyrde kan fastslås med stor nøjagtighed. Denne metode egner sig dog kun til videnskabelige studier og er ikke praktisk anvendelig i løbende kontrol og overvågning af resistensniveauet i almindelige besætninger.

Undersøgelserne i dette studie er udført om efteråret i perioden september-november 2008, hvor hestene normalt undersøges og behandles for orm. De fleste danske dyrlæger anbefaler ikke fæcesundersøgelser senere end oktober [53]. Et parallelt studie påviste høj udskillelse af strongylideæg fra ubehandlede heste i midten af november, og det kan derfor antages, at de negative fund ikke skyldes årstiden, men manglende eller meget lavgradig ægudskillelse hos de behandlede heste. [35]

2.6.5.1 MCMASTER

Den anvendte McMaster har en detektionsgrænse på 50 EPG, og lave FEC under dette niveau vil derfor med stor sandsynlighed blive vurderet til 0 EPG, idet McMaster har en tendens til at være falsk negativ ved lave ægudskillelser [23]. Anvendelsen af McMaster øger dermed risikoen for falsk negative resistensdiagnoser. Det er anført, at McMaster har en usikkerhed på op mod 50% på grund af variationer i ormenes ægudskillelse [73]. En modificeret McMaster med lavere detektionsgrænse eller gentagne målinger på den samme prøve ville forbedre sikkerheden af undersøgelserne [19, 73]. Imidlertid var målet med undersøgelsen at skabe resultater, der var anvendelige i praksis. For at kunne sammenligne resultater, er det nødvendigt at anvende samme metode. Den her anvendte McMaster er den, der undervises i på dyrlægestudiet i Danmark, og formodes at være den test der anvendes ved de fleste danske standardundersøgelser [53].

2.6.5.2 FECRT

FECRT er standardprocedure for klinisk diagnostik af anthelmintikaresistens hos heste [31]. Metoden er standardiseret [17], men til heste mangler der en af litteraturen generelt accepteret standard for, hvordan testen skal udføres og data analyseres, ligesom der ikke er en vedtaget grænseværdi for, hvornår der er resistens for andre midler end benzimidazol. Metoden har begrænsninger, idet den tager lang tid og indeholder fejlkilde i form af individvariation. Mange hestebesætninger har ikke så mange heste, som det ville være at foretrække for at få optimale data ud af undersøgelsen, og selv på den samme besætning er der stor variation mellem hestenes ægtal [24, 58]. En svaghed ved FECRT er, at den kun er sikker, når mere end 25% af ormene er resistente [50]. For at detektere resistens på et

tidligere tidspunkt er det nødvendigt at udvikle brugbare *in vitro* metoder. Imidlertid er den tilgængelige viden omkring de præcise virkningssteder og -mekanismer for ivermectin på nuværende tidspunkt så lille, at det er usandsynligt, at specifikke og sensitive molekylære metoder til detektion af resistens vil kunne udvikles på nuværende tidspunkt [59]. Dermed er FECRT det eneste brugbare middel til detektion af resistens i klinisk praksis.

For heste behandlet med ivermectin er det anbefalet, at FECRT udføres 14-17 dage efter behandling [16]. I dette studie afhang indsamlingen af disse prøver i høj grad af vejledningen fra det anvendte samarbejdslaboratorium[57] og hesteejernes samarbejdsvilje. Disse retningslinier er baseret på anbefalinger, der af praktiske årsager anbefaler 10-14 dage som en gennemsnitsløsning, hvis flere midler testes sammen [16]. Alle prøver fra heste med strongylideæg er indsamlet dag 13-14. Prøverne fra heste med spolorm er indsendt af hesteejerne ud fra laboratoriets anbefalinger og modtaget 10-15 dage efter behandling. Således er FECRT i dette studie udført 10-15 dage efter behandling. Dette er lidt tidligere end de anbefalede retningslinier for ivermectin, men opfylder de generelle anbefalinger [16].

2.6.5.3 STIKPRØVESTØRRELSE

Antallet af heste pr. besætning har været meget varierende i litteraturen. Der findes meget få generelle anbefalinger og i praksis kan det være svært at skaffe store grupper, da mange hestebesætninger kun består af få heste[17]. Den danske selektive terapistrategi gør desuden, at der selv i store besætninger ofte kun er få behandlede heste. Som vist i beregninger af styrken i dette studie kræves, med den fundne spredning og et ønske om at detektere en forskel på 100 EPG, stikprøver fra 62 og 109 heste for henholdsvis spolorm og strongylider for at opnå en styrke i testen på 0,8. Så store besætninger er sjældne i Danmark, og det er derfor nødvendigt at acceptere en mindre stikprøve, der gør styrken svagere eller den mindste detekterbare forskel større.

Ønsket om så stor en stikprøvegruppe som muligt med henblik på en høj styrke, var den direkte årsag til, at det valgtes at slå hestene sammen i to grupper udelukkende på baggrund af infektionstypen (*P. equorum* positive heste og heste med udelukkende strongylideinfektion). Den store stikprøve giver større styrke i undersøgelserne, men med manglende hensyntagen til besætningsforskelle er der en risiko for, at andre faktorer end behandlingen, særligt forskellige managementfaktorer mellem besætningerne ignoreres. Det ville have været en styrke i undersøgelserne, at have taget hensyn til besætningsforskelle og udregne gennemsnitseffekten for besætningerne. Det er forsøgt at udregne prævalensen af besætninger med resistente spolorm, men sikkerheden i disse beregninger svækkes af, at der i nogle besætninger kun har været to behandlede heste, og i disse besætninger er β=0,05.

Det må bemærkes, at den udførte undersøgelse af 196 behandlede heste repræsenterer en meget lille stikprøve af den samlede hestepopulation i Danmark. For at kunne drage sikre konklusioner omkring resistensniveauet i hele landet, er et større studie, hvor indflydelse fra besætningsmanagement, geografisk placering og lignende forhold kan ude-

lukkes og en tilstrækkelig stor stikprøve kan opnås, nødvendigt. Fremtidige studier, bør inkludere flere heste fra hver besætning, så der opnås mulighed for at fastlægge prævalensen af besætninger med resistente spolorm

2.6.5.4 BEREGNING AF FECR

Ved udregning af behandlingseffekt har der i litteraturen været anvendt forskellige metoder. WAAVP anbefalede, at FECR blev udregnet på baggrund af gennemsnitlig FEC for den behandlede og en ikke behandlet gruppe [17]. Et studie sammenlignede denne metode med den, der er anvendt i nærværende studie, hvor FECR udregnes for hver individuel hest ved at sammenligne FEC før og efter behandling og fandt flere fordele ved sidstnævnte [58]. Ved beregning af FECR på baggrund af individuelle heste er der ikke behov for en kontrolgruppe. Endvidere vil variationen reduceres, når hesten sammenlignes med sig selv, idet individvariationer ikke er til stede. Derved opnås større styrke i de statistiske test. Beregningsmetoden giver et bredere spektrum, men smallere konfidensinterval, hvor den nedre grænse findes tættere på gennemsnittet. Beregningsmetoden har i et resistensstudie været sammenlignet med andre metoder [58]. Det blev fundet, at denne metode afslørede færre tilfælde af resistens end metoden fra WAAVP ved en grænseværdi på 90%.

På baggrund af antallet af behandlede heste fra hver besætning blev det derfor valgt at betragte hestene som stikprøver fra den samme population uden at tage hensyn til besætningsforskelle. Dette giver en risiko for konfundering, men en større statistisk styrke af de fundne resultater. Effekten for hver gruppe af heste, er, ud fra et ønske om mindst mulig individvariation, i dette studie beregnet som gennemsnittet af individuel FECR for hver hest. Der er ikke gjort forsøg på at transformere data til en normalfordeling for at udføre statistiske test. Sikkerheden i accept af de opstillede hypoteser er større ved statistiske test af hypotesen end ved sammenligning af konfidensintervaller og grænseværdier, som det er gjort i dette studie, men en så omfattende transformation som er nødvendig med tal som datasættet i dette studie, udgør en risiko for at manipulere med tallene i en grad, at resultatet ikke bliver troværdigt.

2.6.5.5 HESTEEJERNES INDFLYDELSE

Hestene blev i dette studie behandlet og dermed doseret af ejeren selv. Alle indledende prøver er indsamlet af hesteejerne selv og indsendt til laboratoriet med almindelig post. Dermed er der ingen kontrol med indsamlingen og opbevaringen af fæcesprøverne, hvorved faktorer som tid og temperatur, der er vist at have betydning for udviklingen og antallaet af strongylideæg [30, 65], ikke har været mulige at kontrollere. Upublicerede studier har vist, at inden for det første døgn er opbevaring på køl den vigtigste faktor for antallet af talte æg ved analysen [2]. Dette er ikke praktisk muligt under postforsendelse og opbevaringstemperaturen for prøverne under transporten kendes ikke.

Den enkelte hesteejers vægtvurdering og doseringssikkerhed bliver som følge af den manglende kontrol en betydelig kilde til fejl og usikkerheder i studiet. Der er ikke foretaget nogen undersøgelser af doseringssikkerheden; om nogle af hestene spyttede en del af

ormekuren ud efter behandling, eller om ejerens indstilling af doseringssprøjten svarede til det anbefalede. I nogle besætninger gik et stykke tid, fra analysen på laboratoriet blev udført til hestene blev behandlet, og den faktiske FEC på behandlingsdagen kendes dermed ikke. Ejernes dosering og den manglende kontrol gør, at det ikke kan udelukkes, at den nedsatte effekt i nogle heste eller besætninger kan skyldes fejl i forbindelse med administrationen af ormekuren, fejldoseringer, heste der ikke har slugt hele doseringen eller lignende. Der er ikke ført kontrol med opbevaring af ormekurene før behandlingen eller med udløbsdatoen for præparaterne. Ormekurene blev tilsendt direkte fra et apotek til hesteejeren, og dermed må disse faktorer kunne antages at være i orden. Alle heste havde fuld effekt af behandlingen mod strongylider 2 uger efter behandlingen. Dette gælder også den majoritet af de spolormeinficerede heste, der samtidig udskilte strongylideæg inden behandlingen. Det må derfor antages, at doseringen har været korrekt eller tilstrækkelig.

Forholdet omkring disse usikkerheder afspejler meget præcist den virkelighed, mange praktiserende dyrlæger må forholde sig til, og fejlkilden er derfor blevet accepteret. Disse fejlkilder vil muligvis gøre, at resultatet realistisk kan sammenlignes med fremtidige undersøgelser udført i praksis.

2.6.6 ANBEFALINGER FOR FREMTIDIG BRUG AF IVERMECTIN I DANMARK

For at kunne designe det mest optimale ormekontrolprogram er det af yderste vigtighed at kende resistensstatus i det aktuelle geografiske område eller endnu bedre for den enkelte besætning [18]. Derfor er FECRT med regelmæssige mellemrum anbefalelsesværdigt i alle hestehold. Dette er i ikke standard i Danmark på nuværende tidspunkt [53] og vil kræve en ekstra indsats fra hesteejere og dyrlæger, men er ikke desto mindre yderst relevant.

Cyathostomer er langt den hyppigste nematode hos heste [3, 27, 33, 44, 46, 54, 56]. Der er i dag kendte problemer med cyathostomer, der har udviklet resistens mod alle andre kommercielt tilgængelige anthelmintika end AM [66]. Benzimidazol og pyrantel resistens er beskrevet i Danmark for mere end 10 år siden [18]. Der er ingen grund til at antage, at niveauet skulle være blevet mindre, idet resistens hos parasitter er permanent. [32, 36]. Med mindre der foretages systematiske larvedyrkninger ved den parasitologiske undersøgelse, kan cyathostomæggene ikke skelnes fra andre strongylideæg. Larvedyrkninger er tidskrævende og det er næppe realistisk at overbevise alle danske dyrlæger om nødvendigheden af disse, selv om regelmæssig larvedyrkning fra alle besætninger for at kende prævalensen af de forskellige strongylider er at foretrække.

Det må derfor anbefales, at strongylidinfektioner behandles med AM. Moxidectin antages grundet sin længere virkningstid at selektere kraftigere for resistens end ivermectin [67]. Det må derfor anbefales, at man som udgangspunkt vælger ivermectin til behandling af strongylideinfektioner hos danske heste. I vinterhalvåret er behandling med ivermectin kædet sammen med syndromet larval cyathostominose [61]. Såfremt behandling om vinte-

ren af kliniske årsager er nødvendig anbefales derfor brug af moxidectin, der har effekt mod de hypobiotiske encysterede stadier af cyathostomlarver.

Hos spolorm er der kun rapporteret om resistens imod stoffer fra AM-gruppen [34]. Nærværende studie antyder, at problemet kun findes hos ca. 10% af den undersøgte population og dermed muligvis ikke er så udbredt i Danmark som først antaget.[69]. Fortsat brug af ivermectin vil selektere for en større prævalens af resistente spolorm [29] og derfor bør førstevalget ved spolorminfektioner være et middel, mod hvilket der ikke er kendt resistens. Valget kan foretages med henblik på ikke at selektere yderligere for resistens hos cyathostomer, der altid må forventes at være til stede [62]. I praksis kan man ikke gå ud fra, at hesten kun er inficeret med en type orm [62]. Ved behandling kan selektion for resistens dermed forekomme, uafhængigt af, hvilket middel man vælger. Ofte er føl og plage inficeret med både strongylider og spolorm. Dette stiller et stort dilemma: Hvordan skal disse heste behandles? Hvordan vælger man den optimale behandling, når ormene er resistente mod forskellige stoffer?

Ved kendte blandingsinfektioner, hvor der ved fæcesundersøgelsen er fundet æg fra både spolorm og strongylider, er det nødvendigt at fastlægge sin strategi ud fra den individuelle hest og kendskab til sammensætningen af besætningens ormepopulation. Det kan være nødvendigt at vælge, hvilken type orm, man vil føre den hårdeste kamp imod. Typisk sættes hårdest ind mod den type, der vurderes som den mest patogene enten ud fra art eller ægudskillelse.

Heste, der er massivt inficerede med spolorm, men kun lavgradigt med strongylider, bør behandles med et middel mod hvilket, det ikke er kendt resistens hos spolorm. Pyrantel bør være at foretrække frem for benzimidazoler, idet frekvensen af benzimidazolresistens er fundet at være højere hos cyathostomer i Danmark end frekvensen af pyrantelresistens [18]. I det omvendte tilfælde bør ivermectin anvendes. Uanset hvilket middel man vælger, bør man i situationer, hvor behandlingen vides ikke at være optimal mod alle typer parasitter i den aktuelle hest, udføre en FECRT 10-14 dage senere og vurdere effekten af behandlingen samt evt. behov for endnu en behandling med et andet stof. Der kan argumenteres for at behandle føl og plage inficeret med både spolorm og strongylider med ivermectin. Dette vil, i langt de fleste tilfælde, have fuld effekt mod begge typer orm. Denne undersøgelse har påvist effekt under den fastsatte resistensgrænse på 90% for spolorm i 10% af de undersøgte dyr. I langt de fleste tilfælde vil der være god effekt af ivermectin mod spolorm og dette middel kan, med efterfølgende FECRT, anvendes til behandling af blandede infektioner i besætninger, hvor der ikke tidligere er påvist resistens.

2.7 REFERENCER

[1] Adams, H.R. (2001) Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 8th edn., Iowa State Press.

[2] Andersen, U.V. og Pilegaard, K. (2009) *Udvalgte Faktorers Indflydelse På Antallet Af Strongylideæg I Hestefæces Påvist Ved Flotation - Opbevaringstid, Opbevaringstemperatur Og Lufttilgang*. Veterinært Speciale Københavns Universitet, Det Biovidenskabelige Fakultet, Frederiksberg.

[3] Andreasen, L.L. og Lindbom, J. (2008) *Prevalence, Infection Intensity, Differentiation and Treatment of Strongyle Species in Nicaraguan Working Horses*. Veterinært Speciale, Københavns Universitet, Det Biovidenskabelige Fakultet, Institut for Veterinær Patobiologi, København.

[4] Anonym (1998) Lov Nr. 1043 Af 23/12-1998 Om Ændring Af Lov Om Lægemidler.

[5] Anonym (2006) *Diagnostiske Test Vurdering*, [onnline] Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet København. Citeret d. 9. februar 2008. Tilgængelig online [http://www.dfvf.dk/Default.aspx?ID=9097].

[6] Anonym (2008) *Produktresume Noromectin Vet.*, [onnline] Lægemiddelstyrelsen, København S. Citeret d. 10. oktober 2008 Tilgængelig online [http://www.produktresume.dk/docushare/dsweb/Get/Document-23867/Noromectin+Vet.%2C+oral+pasta+1%2C87+_.doc].

[7] Barnes, E.H. og Dobson, R.J. (1990) Population-Dynamics of Trichostrongylus-Colubriformis in Sheep - Computer-Model to Simulate Grazing Systems and the Evolution of Anthelmintic Resistance. *International Journal for Parasitology* 20 (7), 823-831.

[8] Bauer, C., Merkt, J.C., Jankegrimm, G. og Burger, H.J. (1986) Prevalence and Control of Benzimidazole-Resistant Small Strongyles on German Thoroughbred Studs. *Veterinary Parasitology* 21 (3), 189-203.

[9] Bjørn, H., Sommer, C., Schougard, H., Henriksen, S.A. og Nansen, P. (1991) Resistance to Benzimidazole Anthelmintics in Small Strongyles (Cyathostominae) of Horses in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica* 32 (2), 253-260.

[10] Boersema, J.H., Eysker, M., Maas, J. og Vanderaar, W.M. (1996) Comparison of the Reappearance of Strongyle Eggs in Foals, Yearlings, and Adult Horses after Treatment with Ivermectin or Pyrantel. *Veterinary Quarterly* 18 (1), 7-9.

[11] Boersema, J.H., Eysker, M. og Nas, J.W.M. (2002) Apparent Resistance of Parascaris Equorum to Macrocylic Lactones. *Veterinary Record* 150 (9), 279-281.

[12] Borgsteede, F.H.M., Boersma, J.H., Gaasenbeek, C.P.H. og Vanderburg, W.P.J. (1993) The Reappearance of Eggs in Feces of Horses after Treatment with Ivermectin. *Veterinary Quarterly* 15 (1), 24-26.

[13] Clayton, H.M. (1978) Ascariasis in Foals. *Veterinary Record* 102 (25), 553-556.

[14] Clayton, H.M. (1986) Ascarids - Recent Advances. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice* 2 (2), 313-328.

[15] Clayton, H.M. og Duncan, J.L. (1979) Migration and Development of Parascaris-Equorum in the Horse. *International Journal for Parasitology* 9 (4), 285-292.

[16] Coles, G.C. (2005) Anthelmintic Resistance - Looking to the Future: A Uk Perspective. *Research in Veterinary Science* 78 (2), 99-108.

[17] Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A. og Waller, P.J. (1992) World-Association-for-the-Advancement-of-Veterinary-Parasitology (Waavp) Methods for the Detection of Anthelmintic Resistance in Nematodes of Veterinary Importance. *Veterinary Parasitology* 44 (1-2), 35-44.

[18] Craven, J., Bjorn, H., Henriksen, S.A., Nansen, P., Larsen, M. og Lendal, S. (1998) Survey of Anthelmintic Resistance on Danish Horse Farms, Using 5 Different Methods of Calculating Faecal Egg Count Reduction. *Equine Veterinary Journal* 30 (4), 289-293.

[19] Denwood, M.J., Love, S., Reid, S.W.J. og Innocent, G.T. (2008) Investigating the Reliability of a Single Faecal Egg Count to Quantify the True Egg Shedding Rate of a Horse. In: *47th BEVA Congress, British Equine Veterinary Association*, Liverpool.

[20] Dipietro, J.A., Lock, T.F., Todd, K.S. og Reuter, V.E. (1987) Evaluation of Ivermectin Paste in the Treatment of Ponies for Parascaris-Equorum Infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 190 (9), 1181-1183.

[21] Dudeney, A., Campbell, C. og Coles, G. (2008) Macrocyclic Lactone Resistance in Cyathostomins. *Veterinary Record* 163 (5), 163-164.

[22] Edward, C.L. og Hoffmann, A.A. (2008) Ivermectin Resistance in a Horse in Australia. *Veterinary Record* 162 (2), 56-58.

[23] Egwang, T.G. og Slocombe, J.O.D. (1981) Efficiency and Sensitivity of Techniques for Recovering Nematode Eggs from Bovine Feces. *Canadian Journal of Comparative Medicine-Revue Canadienne De Medecine Comparee* 45 (3), 243-248.

[24] Galvani, A.P. (2003) Immunity, Antigenic Heterogeneity, and Aggregation of Helminth Parasites. *Journal of Parasitology* 89 (2), 232-241.

[25] Gibson, T.E. (1953) The Effect of Repeated Anthelmintic Treatment with Phenothiazine on the Faecal Egg Counts of Housed Horses, Whit Some Observations on the Life Cycle of *Trichonema* Spp. In the Horse. *Journal of Helminthology* 27, 29-40.

[26] Hearn, F.P.D. og Peregrine, A.S. (2003) Identification of Foals Infected with Parascaris Equorum Apparently Resistant to Ivermectin. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223 (4), 482-485.

[27] Herd, R.P. (1990) The Changing World of Worms - the Rise of the Cyathostomes and the Decline of Strongylus-Vulgaris. *COMPENDIUM ON CONTINUING EDUCATION FOR THE PRACTICING VETERINARIAN* 12 (5), 732-736.

[28] Herd, R.P. (1992) Performing Equine Fecal Egg Counts. *Veterinary Medicine* 87 (3), 240-244.

[29] Herd, R.P.C., G.C. (1995) Slowing the Spread of Anthelmintic Resistant Nematodes of Horses in the United Kingdom. *The Veterinary Record* 136, 481-485.

[30] Haaning, N. og Nielsen, M.K. (2000) *Anvendeligheden Af Epg-Tællinger I Overvågningen Af Hestens Strongylider*. Veterinært Speciale, Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, Klinisk Institut, Intern Medicin, København.

[31] Kaplan, R.M. (2002) Anthelmintic Resistance in Nematodes of Horses. *Veterinary Research* 33 (5), 491-507.

[32] Kaplan, R.M. (2004) Drug Resistance in Nematodes of Veterinary Importance: A Status Report. *Trends in Parasitology* 20 (10), 477-481.

[33] Kaplan, R.M., Klei, T.R., Lyons, E.T., Lester, G., Courtney, C.H., French, D.D., Tolliver, S.C., Vidyashankar, A.N. og Zhao, Y. (2004) Prevalence of Anthelmintic Resistant Cyathostomes on Horse Farms. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 225 (6), 903-910.

[34] Kaplan, R.R., Cr; Slocombe, O; Murray, Mj (2006) Confirmation of Ivermectin Resistance in a Purportedly Resistant Canadian Isolate of Parascaris Equorum in Foals. In: *Proceding at the 51st Annual Meeting American Association of Veterinary Parasitology*. pp 51-59.

[35] Larsen, M.L. (2009) Undersøgelse Af Egg Reapperance Periode (Erp) I Ivermectinbehandlede Danske Heste. In: *Ivermectins effekt mod hestens nematoder under danske forhold - Studier af fækal ægreduktion og egg reapearance period, Veterinært Speciale*, Faggruppen Medicin og Kirurgi, Institut for Produktionsdyr og Heste, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet., København.

[36] Leathwick, D.M., Pomroy, W.E. og Heath, A.C.G. (2001) Anthelmintic Resistance in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 49 (6), 227-235.

[37] Lendal, S., Larsen, M.M., Bjorn, H., Craven, J., Chriel, M. og Olsen, S.N. (1998) A Questionnaire Survey on Nematode Control Practices on Horse Farms in Denmark and the Ex-

istence of Risk Factors for the Development of Anthelmintic Resistance. *Veterinary Parasitology* 78 (1), 49-63.

[38] Lindgren, K., Ljungvall, O., Nilsson, O., Ljungstrom, B.L., Lindahl, C. og Hoglund, J. (2008) Parascaris Equorum in Foals and in Their Environment on a Swedish Stud Farm, with Notes on Treatment Failure of Ivermectin. *Veterinary Parasitology* 151 (2-4), 337-343.

[39] Lloyd, S. og Soulsby, L. (1998) Is Anthelmintic Resistance Inevitable: Back to Basics? *Equine Veterinary Journal* 30 (4), 280-283.

[40] Love, S., Murphy, D. og Mellor, D. (1999) Pathogenicity of Cyathostome Infection. *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 113-121.

[41] Lyons, E.T., Drudge, J.H. og Tolliver, S.C. (1976) Studies on Development and Chemotherapy of Larvae of Parascaris-Equorum (Nematoda-Ascaridoidea) in Experimentally and Naturally Infected Foals. *Journal of Parasitology* 62 (3), 453-459.

[42] Lyons, E.T., Drudge, J.H. og Tolliver, S.C. (1980) Anti-Parasitic Activity of Ivermectin in Critical Tests in Equids. *American Journal of Veterinary Research* 41 (12), 2069-2072.

[43] Lyons, E.T., Drudge, J.H. og Tolliver, S.C. (1986) The Ascaricidal Efficacy of Ivermectin Paste in Horses - as Good as Injectable. *Veterinary Medicine* 81 (11), 1062-&.

[44] Lyons, E.T., Drudge, J.H. og Tolliver, S.C. (1990) Prevalence of Some Internal Parasites Found (1971-1989) in Horses Born on a Farm in Central Kentucky. *Journal of Equine Veterinary Science* 10 (2), 99-107.

[45] Lyons, E.T., Tolliver, S.C. og Collins, S.S. (2006) Field Studies on Endoparasites of Thoroughbred Foals on Seven Farms in Central Kentucky in 2004. *Parasitology Research* 98 (5), 496-500.

[46] Lyons, E.T., Tolliver, S.C. og Drudge, J.H. (1999) Historical Perspective of Cyathostomes: Prevalence, Treatment and Control Programs. *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 97-111.

[47] Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M. og Collins, S.S. (2008) Evaluation of Parasiticidal Activity of Fenbendazole, Ivermectin, Oxibendazole, and Pyrantel Pamoate in Horse Foals with Emphasis on Ascarids (Parascaris Equorum) in Field Studies on Five Farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitology Research* 103 (2), 287-291.

[48] Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M., Lewellen, A. og Collins, S.S. (2008) Field Studies Indicating Reduced Activity of Ivermectin on Small Strongyles in Horses on a Farm in Central Kentucky. *Parasitology Research* 103 (1), 209-215.

[49] Lyons, E.T.T., S.C.; Collins, S.S. (2009) Probable Reason Why Small Strongyle Epg Counts Are Returning "Early" After Ivermectin Treatment of Horses on a Farm in Central Kentucky. *In press*.

[50] Martin, P.J., Anderson, N. og Jarrett, R.G. (1989) Detecting Benzimidazole Resistance with Fecal Egg Count Reduction Tests and Invitro Assays. *Australian Veterinary Journal* 66 (8), 236-240.

[51] Mckenna, P.B. (1981) The Diagnostic-Value and Interpretation of Fecal Egg Counts in Sheep. *New Zealand Veterinary Journal* 29 (8), 129-132.

[52] Molento, M.B., Antunes, J., Bentes, R.N. og Coles, G.C. (2008) Anthelmintic Resistant Nematodes in Brazilian Horses. *Veterinary Record* 162 (12), 384-385.

[53] Nielsen, M.K., Monrad, J. og Olsen, S.N. (2006) Prescription-Only Anthelmintics - a Questionnaire Survey of Strategies for Surveillance and Control of Equine Strongyles in Denmark. *Veterinary Parasitology* 135 (1), 47-55.

[54] Nielsen, M.K. og Petersen, S.L. (2008) Prevalence of Pyrantel Resistant Strongyles and *S. Vulgaris* on Danish Horse Farms Using Selective Therapy. In: *Equine Parasite Drug Resistance Workshop*, Ed: R.M.N. Kaplan, M. K., Samfundslitteratur Grafik, University of Copenhagen. p 23.

[55] Ogbourne, C.P. (1971) Variations in Fecundity of Strongylid Worms of Horse. *Parasitology* 63 (OCT), 289-&.

[56] Ogbourne, C.P. (1976) Prevalence, Relative Abundance and Site Distribution of Nematodes of Subfamily Cyathostominae in Horses Killed in Britain. *Journal of Helminthology* 50 (3), 203-214.

[57] Petersen, S.L. (2008) *Ormestrategi*, [onnline] Equi Lab, Slangerup. Citeret d. 20. august 2008. Tilgængelig online [http://equilab.dk/ormestrategi.html].

[58] Pook, J.F., Power, M.L., Sangster, N.C., Hodgson, J.L. og Hodgson, D.R. (2002) Evaluation of Tests for Anthelmintic Resistance in Cyathostomes. *Veterinary Parasitology* 106 (4), 331-343.

[59] Prichard, R. (1994) Anthelmintic Resistance. *Veterinary Parasitology* 54 (1-3), 259-268.

[60] Prichard, R.K., Hall, C.A., Kelly, J.D., Martin, I.C.A. og Donald, A.D. (1980) The Problem of Anthelmintic Resistance in Nematodes. *Australian Veterinary Journal* 56 (5), 239-251.

[61] Reid, S.W.J., Mair, T.S., Hillyer, M.H. og Love, S. (1995) Epidemiologic Risk-Factors Associated with a Diagnosis of Clinical Cyathostomiasis in the Horse. *Equine Veterinary Journal* 27 (2), 127-130.

[62] Reinemeyer, C.R., Smith, S.A., Gabel, A.A. og Herd, R.P. (1984) The Prevalence and Intensity of Internal Parasites of Horses in the USA. *Veterinary Parasitology* 15 (1), 75-83.

[63] Repeta, D.L., Birnbaum, N. og Courtney, C.H. (1993) Anthelmintic Resistance on Pleasure Horse Farms in North Central Florida. *Equine Practice* 15 (4), 8-12.

[64] Roepstorff, A. og Nansen, P. (1998) *Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Swine*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. p 161.

[65] Rupasinghe, D. og Ogbourne, C.P. (1978) Laboratory Studies on Effect of Temperature on Development of Free-Living Stages of Some Strongylid Nematodes of Horse. *Zeitschrift Fur Parasitenkunde-Parasitology Research* 55 (3), 249-253.

[66] Sangster, N.C. (1999) Anthelmintic Resistance: Past, Present and Future. *International Journal for Parasitology* 29 (1), 115-124.

[67] Sangster, N.C. (1999) Pharmacology of Anthelmintic Resistance in Cyathostomes: Will It Occur with the Avermectin/Milbemycins? *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 189-201.

[68] Schad, G.A. og Anderson, R.M. (1985) Predisposition to Hookworm Infection in Humans. *Science* 228 (4707), 1537-1540.

[69] Schougaard, H. og Nielsen, M.K. (2007) Apparent Ivermectin Resistance If Parascaris Equorum in Foals in Denmark. *Veterinary Record* 160 (13), 439-440.

[70] Slocombe, J.O.D., De Gannes, R.V.G. og Lake, M.C. (2007) Macrocyclic Lactone-Resistant Parascaris Equorum on Stud Farms in Canada and Effectiveness of Fenbendazole and Pyrantel Pamoate. *Veterinary Parasitology* 145 (3-4), 371-376.

[71] Stoneham, S. og Coles, G. (2006) Ivermectin Resistance in Parascaris Equorum. *Veterinary Record* 158 (16), 572-572.

[72] Tarigo-Martinie, J.L., Wyatt, A.R. og Kaplan, R.M. (2001) Prevalence and Clinical Implications of Anthelmintic Resistance in Cyathostomes of Horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218 (12), 1957-1960.

[73] Uhlinger, C.A. (1993) Uses of Fecal Egg Count Data in Equine Practice. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian* 15 (5), 742-749.

[74] Von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schuermann, S., Rohn, K., Schnieder, T. og Epe, C. (2007) Cases of Reduced Cyathostomin Egg-Reappearance Period and Failure of Parascaris Equorum Egg Count Reduction Following Ivermectin Treatment as Well as Survey on Pyrantel Efficacy on German Horse Farms. *Veterinary Parasitology* 144 (1-2), 74-80.

3. ANDET ARTIKELUDKAST

EGG REAPPEARANCE PERIOD

UNDERSØGELSE AF EGG REAPPERANCE PERIOD I IVERMECTINBEHANDLEDE DANSKE HESTE

3.1 SAMMENDRAG

Anthelmintikaresistens er udbredt i store dele af verden. Cyathostomerne har udviklet resistens overfor flere grupper af anthelmintika, og flere studier har vist forkortet Egg Reappearance Period (ERP) for cyathostomer efter behandling med ivermectin. Et feltstudie blev udført for at fastslå ERP for strongylideæg hos danske heste. I undersøgelsen deltog 9 besætninger, alle med selektiv behandlingsstrategi, med i alt 96 heste, der var blevet behandlet med ivermectin (ca. 0,2 mg/kg) oral pasta mod strongylideæg. Ugentlige Fecal Egg Count Reduction Tests (FECRT) blev udført fra 2 til 6 uger efter behandling. Den gennemsnitlige effekt 6 uger efter behandling var 96,9%. En enkelt besætning havde forkortet ERP med <90% effekt 6 uger efter behandling. Hestene var doseret og behandlet af ejeren. Hesteejerens dosering blev registreret og hestens vægt estimeret med vægtmålebånd. Heste, der havde været overdoseret med ivermectin viste signifikant lavere effekt 5 og 6 uger efter behandling, end heste der ikke var overdoseret. Desuden fandtes en signifikant effekt af et højt infektionspres i besætningen på ægudskillelsen efter behandling. En gruppe af ubehandlede kontrolheste blev undersøgt sideløbende med de behandlede heste. De ubehandlede heste udviste en markant stigning i Fecal Egg Count (FEC) i studieperioden. Det konkluderes, at ERP ikke er forkortet i Danmark på undersøgelsestidspunktet.

3.2 ABSTRACT

Anthelmintic resistance is widespread in the world. Cyahtostomins have developed resistance to several groups of anthelmintics and several studies have shown shortened Egg Reappearance Period (ERP) for cyathostomins after treatment with ivermectin. A field study was conducted to determine ERP in Danish horses. The study involved 9 farms, each with a selective treatment strategy, a total of 96 horses which were treated with ivermectin (approximately 0.2 mg/kg) oral paste against strongyle eggs. Weekly Fecal Egg Count Reduction Tests (FECRT) were performed from 2 to 6 weeks post treatment. Average effect 6 weeks post treatment was 96.9%. A single farm showed shortened ERP with <90% efficacy of treatment 6 weeks post treatment. All horses were dosed and treated by the owner. The owner's dosage was recorded and weight of the horse was estimated by girth weight tape. Horses overdosed with ivermectin showed significantly lower efficacy 5 and 6 weeks after treatment than horses which were not overdosed. Furthermore, a significant effect of a high infection pressure at the farm was found on the number of egg shed post treatment. .A group of untreated horses were examined in parallel with the treated horses. The untreated group showed a notably increase in Fecal Egg Count (FEC) during the study period. It is concluded, that ERP is not shortened in Denmark at the moment.

3.3 INTRODUKTION

Anthelmintikaresistens hos hestes nematoder er over hele verden et voksende problem. Der er udbredt resistens mod både benzimidazoler og tetrahydropyrimidiner blandt cyathostomerne [23, 46], der i dag anses for den vigtigste parasitgruppe hos den voksne hest [28]. Dette efterlader Avermectin/Milbemycin (AM), som er den eneste af de tre kommercielt tilgængelige stofgrupper mod hvilken, cyathostomerne ikke har udviklet resistens [23]. De nye stoffer, der på nuværende tidspunkt er under udvikling er endnu ikke testet på heste [22], og derfor er bevarelse af AM-midlernes status som effektive overfor cyathostominfektioner essentiel i behandlingen af infektioner med orm af denne type.

Ivermectin tilhører gruppen af avermectiner. Det er flere gange vist, at perioden fra behandling med ivermectin, til hesten igen udskiller cyathostomæg, er forkortet i forhold til, da stoffet først blev markedsført i starten af 1980'erne [30, 31, 54]. Denne periode kaldes Egg Reappearance Period (ERP), og begrebet dækker over tiden fra behandling med et anthelmintikum, til der igen udskilles æg i fæces. Det formodes, at denne forkortede ERP er et udtryk for begyndende resistens [46]. Forkortet ERP er et udtryk for kortere livscyklus hos ormene og må ikke forveksles med resistens, der er et udtryk for svigtende effekt af anthelmintika og manglende evne til at reducere den fækale ægudskillelse (Fecal Egg Count (FEC)).

Resistens kan først erkendes klinisk, når prævalensen af resistente orm stiger til et niveau, hvor behandlingen svigter [46]. Det er vist, at resistens initielt udvikles langsomt, hvorefter det ret hurtigt eskalerer til maximumniveau [40]. Kendskab til ERP og overvågning af denne vil gøre det muligt at overvåge og opfange tegn på resistens eller forkortet livscyklus hos de gastrointestinale parasitter på et tidligere tidspunkt end med en Fecal Egg Count Reduction Test, (FECRT) [46], der er standardproceduren til resistensdiagnostik, således at nødvendige forholdsregler overfor den begyndende resistens kan tages.

Der findes ikke i litteraturen en fast, vedtaget definition af ERP. Der mangler standarder for grænseværdier og beregningsmetoder. Der er dog enighed om, at ERP udregnes på baggrund af det gennemsnitlige fækale ægtal for en gruppe af heste [4, 5, 6, 54], idet målet med behandlingen er at reducere ægudskillelsen og ormebyrden for flokken af heste som en helhed [35]. ERP har tidligere været anvendt til at bestemme intervallerne mellem anthelmintiske behandlinger i et forsøg på at undgå kontaminering af græsmarken med parasitæg [4, 5, 6, 12, 14, 19, 29, 35, 46, 49, 52, 53]. Denne undertrykkende strategi har dog vist sig uhensigtsmæssig i forhold til udviklingen af anthelmintresistens [23], da hyppige behandlinger er vist at selektere kraftigt for resistens [3]. I dag benyttes i de fleste danske hestebesætninger en selektiv terapistrategi, som konsekvens af en lovændring i 1999, der gjorde anthelmintika receptpligtige og forhindrede præventiv behandling[2]. Dermed har overvågning og behandling af gastrointestinale parasitter i næsten 10 år været et veterinært anliggende, hvilket er helt særligt for Danmark [37]. I kombination med denne selektive terapistrategi vil ERP kunne benyttes til overvågning af anthelmintikas virkning i et længere tidsmæssigt perspektiv.

Dette studie sigter mod at fastslå ERP for strongylide æg i ivermectinbehandlede danske heste ved hjælp af gentagne FECRT. Ivermectin er i dag det mest benyttede anthelmintikum i Danmark [37]. ERP er ikke tidligere undersøgt i danske heste og en afklaring af ERP i Danmark vil fastsætte en normalværdi for ERP på nuværende tidspunkt og gøre det muligt at overvåge udviklingen fremadrettet. Studiet sigter mod at fastslå, om ERP på nuværende tidspunkt er forkortet efter ivermectinbehandling af danske heste. ERP er i denne undersøgelse defineret som tidspunktet, til hvilket en besætnings gennemsnitseffekt af behandling er 90% eller mindre på udskillelsen af strongylideæg. Den normalt forventede varighed af behandling med ivermectin er ca. 6-8 uger [12, 21]. Forkortet ERP er i denne undersøgelse defineret som et fald i effekten på besætningsniveau til under 90% inden 6 uger efter behandling.

Studiet er udformet som et feltstudie. Alle undersøgelser er foretaget på tilfældige, privatejede heste, der frivilligt har deltaget i undersøgelserne. Det er søgt at anvende metoder, der gør fundene sammenlignelige med, hvad man vil kunne finde under praksisforhold.

3.4 MATERIALER OG METODER

Fæcesundersøgelser blev udført på 226 heste, der rutinemæssigt blev undersøgt for orm i efteråret 2008. Alle indledende prøver var opsamlet af hesteejerne selv og indsendt uopfordret med posten til et laboratorium, hvor de blev undersøgt på ankomstdagen.

96 heste med >200 strongylideæg per gram fæces (EPG) blev behandlet med ivermectin (Noromectin vet. Oral pasta, 1,78%. Norbrook Laboratories Limited; Anbefalet dosis 0,2 mg/kg). Dosering og behandling blev foretaget af hesteejerne selv. Anvisningen fra laboratoriet var behandling efter vægt. Hesteejerne har selv forestået vægtvurdering i forbindelse med behandlingen. Heste fra samme besætninger med < 200 EPG blev ikke behandlet, men deltog i varierende omfang som kontrolheste både løbende og ved undersøgelsens afslutning 6 uger efter behandling. Formålet med disse heste var at påvise, at et manglende fund af æg i de behandlede heste ikke skyldtes årstiden for undersøgelsen.

3.4.1 UDVÆLGELSE AF HESTE TIL UNDERSØGELSEN

Besætninger, der var beliggende i Storkøbenhavn eller Nordsjælland og havde mindst 10 behandlede heste blev udtaget til undersøgelsen. Efterfølgende frafaldt enkelte af disse heste undersøgelse, på grund af flytning til andre opstaldningssteder eller lignende. Dog bibeholdtes besætningen i undersøgelsen, selv om det samlede antal heste blev under 10. I alt deltog 9 besætninger med til sammen 96 ivermectinbehandlede heste i undersøgelsen. Hestene var af forskellige racer og blandet både heste og ponyer. De fleste var rideheste, men der deltog også enkelte plage i undersøgelsen. Gennemsnitsalderen på de deltagende heste var 9,1 år (95% konfidensinterval (KI) 7,9 - 10,3 år). Heste, der indgik i

undersøgelsen havde ikke været behandlet med ormekur i mindst 12 uger inden første undersøgelse.

De behandlede heste havde ved den indledende undersøgelse før behandling i gennemsnit 501 EPG (KI 420 - 583 EPG). Der var i alle heste kun fundet strongylideæg, og der blev ikke foretaget larvedyrkning i den indledende undersøgelse.

3.4.2 REGISTRERINGER AF DELTAGENDE HESTE

For alle heste blev hestens navn registreret sammen med oplysninger om stald, alder, køn, EPG før behandling og den vægt efter hvilken, ejeren havde doseret ormekur til hesten. Ved et besøg i besætningen blev ligeledes registreret race og estimeret vægt med et vægtmålebånd[††††]. Anvisningerne fra producenten blev fulgt under måltagning af hestene. Der er anvendt det samme målebånd til alle heste, også dem, der var yngre end 3 år. I besætning nr. 7 er hestenes vægt ikke blevet estimeret. Detaljer omkring de deltagende heste fremgår af Tabel 3.4-1 og Tabel 3.4-2 samt appendiks 4.

For hver stald blev det gennemsnitlige fækale ægtal for alle heste, både behandlingskrævende og ikke behandlingskrævende før undersøgelsens start registreret, ligesom andelen af behandlede heste blev registreret. For kontrolhestene registreredes udelukkende hvilken stald hestene kom fra, samt EPG ved den indledende undersøgelse.

3.4.2.1 DOSERING

De estimerede vægtoplysninger blev brugt til at vurdere doseringen af ivermectin til den enkelte hest. Korrekt dosering blev defineret som overensstemmelse mellem den af målebåndet fundne vægt og den vægt, efter hvilken hestene var doseret af ejeren inden for en margin på +/- 25 kg. Afvigelser fra den estimerede vægt med mere end 25 kg blev defineret som henholdsvis over- og underdosering af ormekuren. I besætningerne 2 og 4 foretog ejerne ikke estimering af vægt. Disse besætninger foretog bevidst overdosering ved at give alle heste uanset vægt en hel sprøjte ormekur (7,49 g ivermectin, svarende til behandling af 700 kg hest). I besætningerne 3, 5, 7, 8 og 9 blev dosering foretaget efter visuelt estimeret vægt. Besætning 6 doserede så nøjagtigt som muligt efter vægt estimeret med målebånd. I besætning 1 doseredes de fleste heste efter målebånd og enkelte efter vægt estimeret visuelt. Hestene i denne besætning blev bevidst doseret lidt over den estimerede vægt. Tabel 3.4-2 giver et overblik over disse og andre forskelle imellem besætningerne.

[††††] *Horse Weight Tape, Pavo Equimax fra Virbac. Ifølge producenten kan målebåndet anvendes til heste over tre år.*

3.4.3 FECRT

Efter behandlingen af hestene blev der indsamlet fæces til FECRT fra samtlige heste henholdsvis 2, 3, 4, 5, og 6 uger efter behandlingen. Ved hver indsamling blev FEC for hver enkelt hest registreret, og effekten for hvert individ blev udregnet ved hjælp af følgende formel

$$FECR = \frac{FEC_{før\ behandling} - FEC_{efter\ behandling}}{FEC_{før\ behandling}} \times 100\%$$

I tilfælde, hvor FEC efter behandling var øget i forhold til før behandling, blev effekten sat til 0% efter eksempel i litteraturen [24, 51].

3.4.3.1 PRØVEINDSAMLINGEN

De indledende undersøgelser er foretaget i september-oktober 2008 af Equi Lab[‡‡‡‡]. Alle resterende undersøgelser er foretaget i perioden ultimo september 2008 til medio november 2008 på Studenterlaboratoriet ved IPH[§§§§], KU-LIFE. Alle FEC er foretaget med en simpel McMaster metode med en detektionsgrænse på 50 EPG [42], og begge laboratorier har anvendt samme metode ved FEC.

Alle prøver før behandling er opsamlet af hesteejeren fra frisk afsat fæces og opbevaret i en lukket plastikpose klemt tom for luft indtil analysetidspunktet. Disse prøver er sendt med posten til laboratoriet og opbevaringstemperaturen er dermed ukendt. Prøverne til FECRT efter ivermectinbehandlingen er enten indsamlet fra frisk afsat fæces eller udtaget rektalt. De er ligeledes opbevaret så anaerobt som muligt og på køl indtil analysetidspunktet. Alle prøver undtagen enkelte indsamlinger fra besætning nr. 7 er analyseret inden for 24 timer fra opsamlingstidspunktet. Nærmere oplysninger om disse forhold fremgår af tabel 3.4-2 og appendiks 4.

3.4.4 LARVEDYRKNING

Der blev foretaget larvedyrkning for de 12 heste fra hvilke, der fandtes strongylideæg igen i løbet af undersøgelsesperioden. 10 g fæces blev afvejet, opslæmmet i destilleret vand til en fugtig konsistens og blandet med vermaculite i volumenforholdet ca. 1:2. Dyrkningen foregik ved stuetemperatur i 13-17 dage i fugtigt miljø, hvorefter blandingen blev ophængt i gaze i destilleret vand et døgn i et Baermann glas. Efterfølgende blev sedimentet mikroskoperet ved tørlinse med 100-400 gange forstørrelse med henblik på artsbestemmelse af de fremdyrkede larver.

[‡‡‡‡] Equi Lab, v. Stig Langeskov Petersen, Jørlunde Overdrev 7, 3550 Slangerup

[§§§§] *Studenterlaboratoriet ved Institut for Produktionsdyr og Heste, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet. Højbakkegaards Allé 5, 2630 Taastrup*

Der taltes 100 larver fra hver dyrkning. Såfremt antallet af larver var mindre end 100, taltes alle larverne. Larverne blev vurderet at være store eller små strongylider ved optælling af tarmceller, vurdering af størrelse og halelængde[44].

3.4.5 DE DELTAGENDE BESÆTNINGER

De registrerede parametre for de deltagende besætninger er anført i Tabel 3.4-1 og Tabel 3.4-2. Mere detaljerede beskrivelser af besætningerne findes i Appendiks 4.

Tabel 3.4-1. Gennemsnitsdata for hver af de deltagende besætninger samt vægtet gennemsnit og standardafvigelse for hver parameter. De angivne vægtdata er den estimerede vægt fundet med vægtmålebånd. Der er ikke registreret vægtdata på besætning nr. 7.

Oversigt over de deltagende besætninger						
Besætning	**Antal deltagende heste**	**Alder (år)**	**Vægt (kg)**	**Andel behandlede i besætningen**	**EPG for besætningen**	**EPG for behandlede heste**
1	10	8,1	402	0,50	395	690
2	7	8,3	432	0,62	792	1400
3	10	10,8	384	0,63	224	300
4	24	6,7	562	0,86	342	392
5	9	12,4	516	0,48	331	583
6	10	8,0	452	0,74	236	319
7	10	13,7	-	0,48	263	450
8	10	10,6	567	0,71	247	295
9	6	2,7	381	0,29	171	525
Gennemsnit	10,67	9,1	484	0,59	305	501
Standardafvigelse	5,22	5,7	107	0,17	350	409

Tabel 3.4-2. Opstaldningsforhold og andre deskriptive variable i de deltagende besætninger. Under racer er anført de dominerende hestetyper i den enkelte besætning. Sidste kur angiver, hvornår samlet undersøgelse af besætningen sidst er foretaget. Enkelte heste i besætningerne er ankommet senere og har været undersøgt på andre tidspunkter. Doseringsgrundlag angiver, hvilken metode hesteejerne har anvendt for at vurdere hestens vægt inden dosering af ormekur. Under tidspunkt er angivet, hvornår på døgnet prøverne er indsamlet. Metoden angiver indsamlingsmetoden; om fæces overvejende er indsamlet rektalt eller opsamlet fra frisk afsat gødning. Kontrol angive antallet af undersøgte ubehandlede heste fra besætningen.

Fakta om de deltagende besætninger og indsamlingen af fæces									
Stald	**Heste i alt**	**Racer**	**Staldtype**	**Fold**	**Sidste kur**	**Doserings-grundlag**	**Tidspunkt**	**Metode**	**Kon-trol**
1	30	Islændere	Løsdrift	Græs	4-5 mdr.	Målebånd + visuelt	Eftermiddag	Rektalt	0
2	14	Varmblod, Sportsponyer	Bokse + løsdrift	Jord- og græsfold	5 mdr.	Ingen	Aften	Rektalt	6
3	Ca. 40	Islændere	Løsdrift	Jord- og græsfold	5 mdr.	Visuel	Eftermiddag	Opsamlet el. rektalt	9
4	36	Varmblod, Sportsponyer	Bokse + løsdrift	Sparsomt græs	4½ mdr.	Ingen	Aften	Opsamlet	7
5	21	Varmblod, Ponyer	Bokse	Jordfold	4½ mdr.	Visuelt	Eftermiddag	Opsamlet el. rektalt	8
6	35	Sportsponyer	Bokse eller løsdrift	Græs	4½ mdr.	Målebånd	Morgen	Opsamlet	7
7	23	Blandinger	Bokse	Jordfold	5 mdr.	Visuelt	Morgen	Opsamlet	14
8	17	Varmblod Blandinger	Bokse	Jordfold	5 mdr.	Visuelt	Morgen	Opsamlet	7
9	26	Islændere	Løsdrift	Græs- og jordfold	4½ mdr., Plage 3 mdr.	Visuelt	Aften	Rektalt	5

3.4.6 STATISTIK

3.4.6.1 UNDERSØGELSENS DESIGN

Beregning af styrke og stikprøvestørrelser er foretaget med GraphPad StatMate 2.00 Demo[*****]. Analyserne er foretaget med et signifikansniveau på 95%, α=0,05. Ved en gennemsnitlig stikprøvestørrelse på 10,67 heste pr. besætning, en standardafvigelse i den undersøgte population på 350 og et ønske om at detektere en forskel på 100 EPG er styrken β=0,15. For at opnå β=0,80 kræves en stikprøvestørrelse på 97 heste, hvilket næsten var antallet af heste undersøgt i alt. Besætningen med flest behandlede dyr havde 24 heste, hvilket giver β=0,29. Med den givne stikprøvestørrelse på 10,67 heste og en styrke på β=0,80 kan detekteres en forskel på 300 EPG.

[*****] *GraphPad Software Inc., USA*

3.4.6.2 BEHANDLINGSEFFEKT, FECR

Databehandlingen blev foretaget med Microsoft Excel 2007, SP1[†††††]. For hver besætning blev til hver tid beregnet gennemsnitlig behandlingseffekt som det aritmetiske gennemsnit af de enkelte hestes FECR. Desuden beregnedes standardafvigelse og 95% konfidensinterval for dette gennemsnit.

3.4.6.3 STATISTISKE ANALYSER

De statistiske analyser er udført med Statistical Analysis Software (SAS)[‡‡‡‡‡] 9.1.3, servicepack 4.

Datas normalfordeling blev undersøgt med proc univariate, der afgjorde, at data på FEC efter behandlingen ikke var normalfordelte (p=0,0016). Data for FECR fandtes ligeledes ikke normalfordelte (p<0,0001) Det blev valgt, ikke at transformere de ikke-normalfordelte data for at manipulere så lidt som muligt med tallene. I stedet opstilledes en model for EPG efter behandlingen over tid.

Data er analyseret ved hjælp af en varianskomponentmodel (Mixed linear models, proc mixed i SAS), som er en model til analyse af studier med tilfældige virkninger af flere faktorer herunder tid. Som responsvariabel valgtes EPG efter behandling, hvorefter modellen kunne omregnes til effekt, idet udregningen af FECR betragtedes som manipulation af data. EPG er en kvantitativ diskret variabel. Som forklarende variable opstilledes de kategoriske variable stald (besætningsnummer), hestens tildelte nummer, køn (hoppe, hingst eller vallak), tid (uge 2, 3, 4, 5 eller 6 efter behandling) og dosering (under-, normal eller overdosering) samt de non-kategoriske variable alder, start-EPG, besætningens gennemsnitlige EPG og andelen af behandlede i besætningen. Som tilfældige variable anførtes hest og stald som udtryk for individuelle forskelle på hestene både mellem staldene og i den samme besætning og managementmæssige forskelle imellem staldene.

Den opstillede model blev forfinet for at opnå større styrke for de testede variable, ved at udelade variable, der havde høj p-værdi (tæt på 1). Variable, der blev udeladt var: Køn, alder, EPG før behandling, andelen af behandlede i besætningen og besætningens gennemsnits EPG før behandling. Disse udeladte variable er ikke omtalt yderligere. Programmerne er beskrevet herunder i de relevante afsnit, 3.4.6.5 og 3.4.6.8, og findes sammen med resultaterne af de statistiske analyser i appendiks 8.

[†††††] *Microsoft Coorporation, USA*
[‡‡‡‡‡] *SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.*

3.4.6.4 FORKORTET ERP

Hypotesen for studiet er, at ERP ikke er forkortet;

H_{0-1} = FECR ved indtil mindst 6 uger er min. 90%

Da data ikke er normalfordelte er afgørelsen af, om de fundne effekter er forskellige fra 90% foretaget ud fra en vurdering om, hvorvidt 90% er indeholdt i gennemsnitseffekten for besætningens 95% konfidensinterval til hver enkelt tid.

3.4.6.5 EFFEKT AF STALD

Hypotesen var, at der ikke var forskel på ERP for de undersøgte stalde, hvilket betyder, at der ikke var en effekt af hvilken stald, man stod opstaldet i.

H_{0-2}= Ingen effekt af opstaldningssted

Stalden som variabel indeholder mange faktorer, som der ikke analyseres yderligere på, herunder forskelle i hesteracer, størrelsen på stald og folde, belægningsgrad og management.

Analysen af disse data består af en forfinet model af det program, der er beskrevet under afsnit 3.4.6.3. Data er analyseret ved hjælp af en proc mixed i SAS. Som responsvariabel valgtes EPG efter behandling. Som forklarende variable opstilledes de kategoriske variable stald (besætningsnummer), hestens tildelte nummer og tid (uge 2, 3, 4, 5 eller 6 efter behandling). Som tilfældige variable anførtes hest og stald. Der blev foretaget sammenligning af resultaterne ved hjælp af mindste kvadraters metode (lsmeans) og en liste af p-værdier for alle kombinationsmuligheder (pdiff). Staldene sammenlignes således for at finde statistiske forskelle. Eventuelle forskelle forklares ikke nærmere.

3.4.6.6 EFFEKT AF INFEKTIONSPRESSET I BESÆTNINGEN

Hypotesen var, at infektionspresset i besætningen havde betydning for hvor hurtigt der igen blev udskilt æg fra de behandlede heste og dermed for ERP. Infektionspresset i besætningen blev i denne analyse udtrykt ved besætningens gennemsnitlige FEC før behandlingen. I dette gennemsnit indgik både behandlede og ikke behandlede heste.

H_{0-3} = Ingen effekt af besætningens gennemsnits EPG før behandling

Analysen af disse data er foretaget med en forfinet model af det program, der er beskrevet under afsnit 3.4.6.3. Data er analyseret ved hjælp af en proc mixed i SAS. Som responsvariabel valgtes EPG efter behandling, og som forklarende kategoriske variable opstilledes staldens tildelte nummer og tid (uge 2, 3, 4, 5 eller 6 efter behandling), som non-kategoriske variable anførtes de andelen af behandlede i besætningen, besætningens gennemsnits EPG før behandling. Som tilfældige variable anførtes hest og stald.

3.4.6.7 UBEHANDLEDE HESTE

Formålet med gruppen af ubehandlede heste var at fungere som kontrolgruppe og vise, hvorvidt der på trods af årstiden stadig udskiltes æg fra ikke behandlede heste. For hver uge efter behandling blev der beregnet gennemsnit, standardafvigelse og 95% konfidensinterval for de undersøgte ikke-behandlede heste.

Hypotesen var, at der ikke var forskel på behandlede og ikke behandlede heste.

$H_{0\text{-}4}$ = Ingen effekt af behandling, $FEC_{behandlede} = FEC_{ubehandlede}$

Vurdering af hvorvidt hypotesen skulle accepteres eller forkastes blev foretaget ved vurdering af 95% konfidensintervaller for gennemsnittet af kontrol- og behandlede heste for hver uge. Hypotesen blev vurderet ud fra, hvorvidt der var overlap mellem 95% konfidensintervaller for de to grupper til hver tid.

3.4.6.8 EFFEKT AF DOSERING

Heste, på hvilke der ikke blev målt vægt, hvor ejeren ikke havde registreret sin dosering, eller som var yngre end 3 år (grænsen for valide resultater ved brug af det valgte målebånd), blev ikke medtaget i denne analyse. Analyserne er foretaget med dosis som en kategorisk variabel. Modellen tager ikke højde for i hvilken grad der er over- eller underdoseret.

Analysen af disse data består af en forfinet model af det program, der er beskrevet under afsnit 3.4.6.3. Data er analyseret ved hjælp af proc mixed i SAS. Som responsvariabel valgtes EPG efter behandling. Som forklarende variable opstilledes de kategoriske variable hestens tildelte nummer, doseringen (under- normal eller overdosering) og tid (uge 2, 3, 4, 5 eller 6 efter behandling). Som non-kategoriske variable anførtes EPG før behandling. Som tilfældige variable anførtes hest. Der blev foretaget sammenligning af resultaterne ved hjælp af mindste kvadraters metode (lsmeans). Estimater og p-værdier blev sammenlignet. Eventuelle forskelle er ikke forklaret nærmere.

$H_{0\text{-}5}$ = Ingen effekt af doseringens præcision

Hvorvidt hypotesen skulle accepteres eller forkastes på baggrund af signifikante afvigelser mellem tallene blev afgjort ved at vurdere overlap mellem 95% konfidensintervaller.

Alle heste, der udskilte æg inden undersøgelsens afslutning og opfyldte kravene til deltagelse i denne analyse, var overdoseret med ivermectin i forhold til deres estimerede vægt.

3.5 RESULTATER

3.5.1 FORKORTET ERP

Der var i alle besætninger fuld effekt (100%) af ivermectin 2 og 3 uger efter behandlingen. Besætningsresultaterne fremgår af tabel 3.5-1 og er illustreret i figur 3.5-1.

Tabel 3.5-1 – Aritmetisk gennemsnit af resultaterne af FECR for den enkelte besætning. For tal <100% er i parentes angivet 95% konfidensinterval. Tal markeret med fed skrift angiver, at tallet ikke er signifikant forskelligt fra 90% vurderet på baggrund af det angivne konfidensinterval.

Oversigt over resultater på besætningsniveau					
Besætning	**Uge 2**	**Uge 3**	**Uge 4**	**Uge 5**	**Uge6**
1	100%	100%	100%	100%	100%
2	100%	100%	100%	**94,9% (84,6-105,0)**	**89,6% (72,0-107,1)**
3	100%	100%	100%	100%	100%
4	100%	100%	**95,8% (87,7-104,0)**	96,6% (91,4-101,7)	**92,6% (83,9-101,2)**
5	100%	100%	100%	100%	100%
6	100%	100%	100%	100%	100%
7	100%	100%	100%	98,5% (95,8-101,3)	99,2% (97,5-100,8)
8	100%	100%	100%	100%	**93,8% (81,5-106,0)**
9	100%	100%	100%	100%	96,9% (90,8-103,0)
Gennemsnit	100%	100%	99,5% (99,3-99,8)	98,9% (98,5-99,3)	96,9% (96,1-97,7)

Den gennemsnitlige effekt 6 uger efter behandling for de 9 undersøgte besætninger var 96,9% (KI 96,1-97,7%) og H_{0-1} kan derfor accepteres. I en besætning (besætning nr. 2) var effekten efter 6 uger <90% (89,6%). I to andre besætninger (nr. 4 og 8) var effekten efter 6 uger ikke signifikant forskellig fra 90%. Prævalensen af besætninger i nærværende studie med forkortet ERP er 1 ud af 9 svarende til 11%. I yderligere 22% af besætningerne kunne forkortet ERP ikke afvises signifikant.

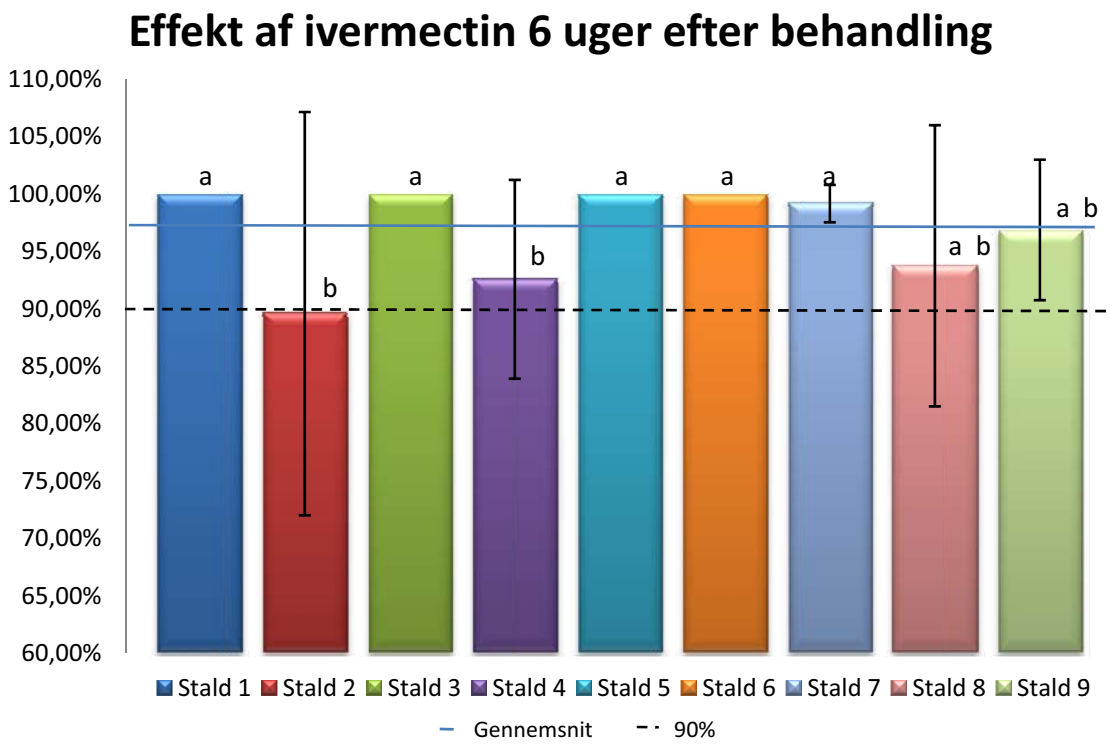
3.5.1.1 LARVEDYRKNING

Larvedyrkningerne fra de heste, der nåede at udskille æg igen i testperioden, var ikke alle af lige høj kvalitet. I flere af prøverne var der problemer med ikke færdigdifferentierede larver og afvigende larvetyper, der af rutinerede laboranter bedømtes til at være jordnematoder. Disse fandtes også i prøver udtaget rektalt.

I de fleste prøver fandtes udelukkende cyathostomlarver. Ingen prøver indeholdt larver fra store strongylider.

3.5.2 EFFEKT AF OPSTALDNINGSSTED

Analyserne med mixed procedure i SAS viser, at der er en signifikant effekt af tiden efter behandling (p=0,0012). Der findes ingen statistisk effekt af opstaldningsstedet som overordnet faktor (p=0,3482). H_{0-2} kan dermed ikke forkastes, men når de enkelte stalde sammenlignes er der en signifikant effekt af at være opstaldet i enten stald 2 eller 4 (henholdsvis p=0,0046 og p=0,0154). Forskellene er markeret på figur 3.5-1.



Figur 3.5-1 – FECR i % 6 uger efter behandling for hver individuel stald. Fejllinierne angiver 95% konfidensintervaller. Den fuldt optrukne blå streg angiver gennemsnittet for de 9 besætninger (96,9). Den stiplede sorte linie angiver grænsen for forkortet ERP. Det fremgår af figuren, at denne grænse er indeholdt i konfidensintervallet for besætningerne 2, 4 og 8. Stalde markeret med a er signifikant forskellige fra stalde markeret med b. Stalde markeret med a b er ikke signifikant forskellige fra nogen af de andre.

Der er ikke påvist en direkte effekt af kombinationen tid*stald (p=0,0747). Med mindste kvadraters rod (funktionen lsmeans) kan påvises signifikant effekt med p<0,05 for stald 2 både 5 og 6 uger efter behandling (henholdsvis p=0,0159 og p<0,0001) og stald 4, 6 uger efter behandling (p<0,0001).

3.5.3 EFFEKT AF INFEKTIONSPRESSET I BESÆTNINGEN

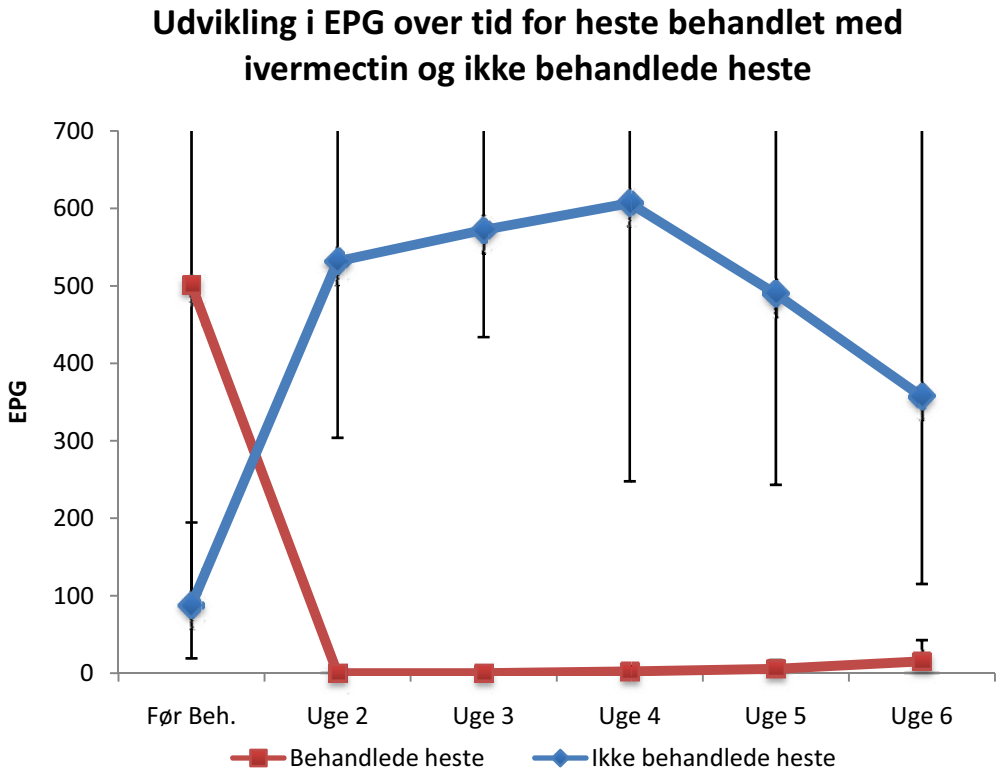
Der fandtes en signifikant effekt af det gennemsnitlige FEC for samtlige heste i besætningen før behandling (0,0198). H_{0-3} kan dermed forkastes. Der fandtes ingen effekt af andelen af heste, der blev behandlet (p=1631). Den signifikante effekt af infektionspresset var uafhængigt af tiden, der også er vist at have signifikant effekt på ægudskillelsen (p=0,0006).

Ved sammenligning af covarians parametre fra både denne og de øvrige udførte analyser i SAS ses, at op i mod en tredjedel af varaiationen i de fundne resultater kan tilskrives individuelle biologiske variationer imellem hestene.

3.5.4 UBEHANDLEDE HESTE

De ubehandlede heste viste, at det på trods af årstiden var muligt at finde strongylideæg på tidspunktet for undersøgelsen. Kun få af disse kontrolheste havde 0 EPG. Det gennemsnitlige FEC for de ubehandlede heste var signifikant højere end for de behandlede heste (95% konfidensintervaller havde ikke overlap). H_{0-4} kan således forkastes. Forskellen er illustreret i figur 3.5-2.

Flere af kontrolhestene steg meget kraftigt på meget kort tid (enkelte fra 0 EPG ved den indledende undersøgelse til over 1000 EPG allerede 2 uger senere). Mulige årsager til denne stigning er ikke undersøgt nærmere. Stigningen sås sporadisk i staldene 2, 4, 5, 6, 7, 8 og 9. Hos enkelte kontrolheste, som fik lavet FEC flere gange i forløbet sås først en stigning og siden et markant fald, svarende til gennemsnittet for kontrolhestene. Forløbet er illustreret i figur 3.5-2.

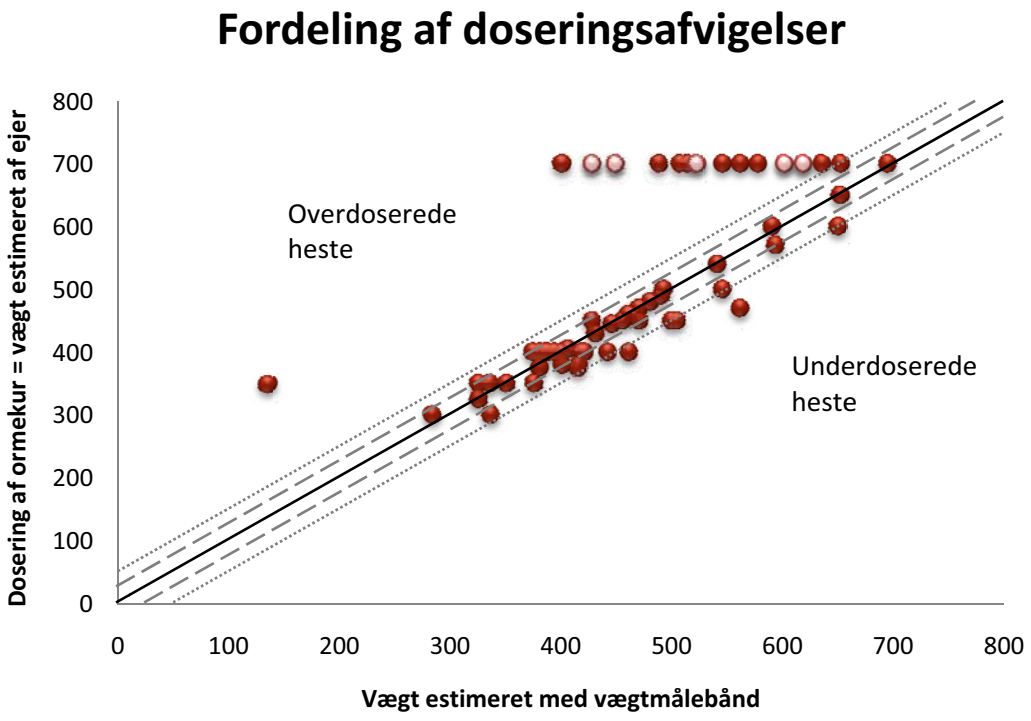


Figur 3.5-2 – Gennemsnits EPG for behandlede og ikke behandlede heste. Fejllinierne på kurven angiver 95% konfidensinterval. Der ses signifikant effekt af behandling til alle tidspunkter. Før behandling var der ikke signifikant forskel på de to grupper. Manglende FEC hos de behandlede heste kan på baggrund af dette ikke tilskrives årstiden

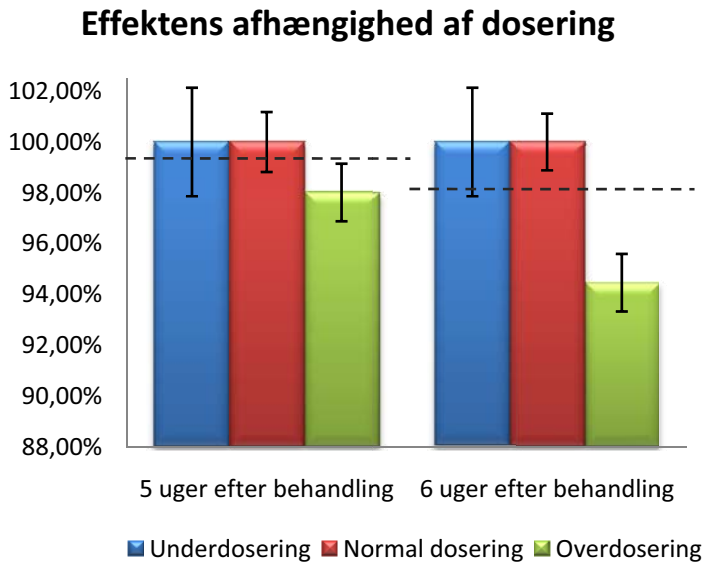
3.5.5 EFFEKT AF DOSERINGENS PRÆCISION

71 heste, der var ældre end 3 år og havde fået estimeret deres vægt efter behandlingen, indgik i denne analyse. Heraf var 9 heste (12,7%) underdoseret, 32 heste (45,1%) var korrekt doseret og 30 heste (42,3%) var overdoseret i forhold til de angivne kriterier. Af de overdoserede heste var 29 heste bevidst overdoseret, idet hesteejeren havde tildelt en hel sprøjte ormekur (til behandling af 700 kg hest) uden hensyn til hestens vægt. Afvigelserne i ejerens dosering af ormekur i forhold til hestens vægt er illustreret i figur 3.5-3.

Analyserne med mixed procedure i SAS på tværs af stalde, angiver sandsynligheden for en effekt af den kategoriske variabel for doseringen af ormekuren p=0,1417. Når tidspunktet efter behandling tages i betragtning, findes der en signifikant effekt af doseringen (p=0,0483). Analyserne viser, at der ikke på noget tidspunkt er signifikant forskel på effekten af ormekuren for de korrekt og for lavt doserede heste. Der påvises signifikant lavere effekt (p=0,0488) i de for højt doserede heste i forhold til gennemsnittet 5 uger efter behandling, og signifikant lavere effekt (p<0,0001) i de for højt doserede heste i forhold til begge de andre grupper og gennemsnittet 6 uger efter behandling. Effekten af dosering er angivet i figur 3.5-4



Figur 3.5-3 – Afvigelserne mellem den af vægtmålebåndet estimerede vægt og den vægt, efter hvilken ejerne har doseret ormekuren. Den sorte streg midt i figuren markerer overensstemmelse mellem disse parametre og de stiplede linier på hver side af denne markerer det interval på +/- 25 kg som markerer korrekt dosering. Den punkterede linie markerer en afvigelse mellem værdierne på +/- 50 kg. Lyserøde punkter markerer heste, der havde positiv FEC senest 6 uger efter behandling.



Figur 3.5-4 – Effekt af korrekt dosering af ormemidlet. Figuren viser den gennemsnitlige reduktion i den fækale ægudskillelse henholdsvis 5 og 6 uger efter behandling med ivermectin. Den stiplede linie viser den gennemsnitlige effekt af ormemidlet hos de behandlede heste til hver tid. Fejllinierne angiver 95% konfidensinterval. Der er signifikant lavere effekt af behandlingen hos de heste, der er blevet overdoseret med ormemiddel i forhold til gennemsnittet.

3.6 DISKUSSION

I 8 af de 9 undersøgte besætninger fandtes >90% effekt af ivermectin 6 uger efter behandlingen. Således var prævalensen af besætninger med forkortet ERP 11%. Gennemsnitseffekten for besætningerne 6 uger efter behandling var 96,9%. Resultaterne er ikke alarmerende. Der er overordnet set ikke tegn på forkortet ERP i Danmark på undersøgelsestidspunktet, ud fra den i studiet definerede grænse på 90% effekt 6 uger efter behandling. Det fundne gennemsnit kan danne baggrund for en referenceværdi for fremtidige studier og gør det muligt at følge udviklingen i ERP for ivermectinbehandlede heste i Danmark fremadrettet. For en sikker bekræftelse af eventuelle fund af forkortet ERP vil det være nødvendigt at udføre et kontrolleret studie, hvor hestene aflives, og ormebyrden tælles.

Undersøgelsen viste, at overdosering med ivermectin ser ud til at give signifikant højere FEC allerede 5 uger efter behandling i forhold til gennemsnittet og en signifikant højere FEC 6 uger efter behandling både i forhold til de underdoserede, de korrekt doserede heste og gennemsnittet. Såfremt det antages, at det observerede behandlingsmønster er det, der anvendes ved hver behandling i den givne besætning, giver undersøgelsen anledning til at tro, at bevidst overdosering selekterer kraftigere for forkortet ERP end dosering efter vægt. Der er ikke i litteraturen rapporteret lignende fund.

Hos de undersøgte ubehandlede heste fandtes en ikke nærmere undersøgt stigning i FEC under studiet. Lignende stigninger er iagttaget hos en gruppe ubehandlede heste i et tidligere studie [31].

3.6.1 POSITIVE FEC 4 UGER EFTER BEHANDLINGEN

Det tidligste tidspunkt, der i denne undersøgelse genfandtes strongylideæg var 4 uger efter behandlingen. Fundet blev gjort i én besætning hos en enkelt hest. I yderligere 2 besætninger var der positiv FEC 5 uger efter behandling. I 5 af de 9 undersøgte besætninger fandtes heste med FEC >0 EPG efter 6 uger.

Fund af positiv FEC allerede 4 uger efter behandling stemmer godt overens med tidligere rapporterede fund [31, 36]. Et studie rapporterede i 2008 begyndende positiv FEC 4 uger efter behandling med ivermectin med stigende FEC i de følgende uger [31]. En mulig forklaring af dette fund har været, at de tidligere fund af positiv EPG skyldtes en ændring i effekten af behandlingen, så ormene ikke blev fjernet men kun midlertidigt sterile. Denne mekanisme blev beskrevet ved phenothiazinresistens [10]. Dette fund af forkortet ERP er efterfølgende blevet undersøgt nærmere, og årsagen ser ud til at være en anden. Undersøgelsen viste, at der var fuld effekt af ivermectin mod voksne cyathostomer, men kun begrænset effekt med L_4 og måske tidlige adulte stadier [32]. Det tyder dermed på, at den kortere ERP skyldes disse L_4 som ikke dør af behandlingen og hurtigt bliver voksne og kan reproducere sig med positiv FEC til følge. Effekten af ivermectin mod L_4 er tidligere undersøgt og fundet at være høj, selv om der ved aflivning 16 dage efter behandling blev fundet

unge voksne stadier af cyathostomer i tarmlumen [15]. Disse resultater tyder altså på, at forkortet ERP skyldes, at der er udviklet resistens hos L_4 men ikke hos voksne orm.

Det er i litteraturen anført, at forkortet ERP forventes at forekomme først hos unge heste [8, 18, 46]. Hestene brugt i det kontrollerede studie, der viste resistente L_4 var plage på 1 år [32]. I et nyere studie af forkortet ERP fandtes ingen sammenhæng mellem alder og forkortet ERP [54]. Den hest, der i nærværende studie udskilte strongylideæg 4 uger efter behandling, var en 4 år gammel Dansk Varmblods hoppe. Yderligere 3 heste på henholdsvis 3, 16 og 17 år udskilte strongylideæg 5 uger efter behandlingen. Ved de statistiske analyser fandtes ingen effekt af alder, og tendensen fra litteraturen kan således ikke bekræftes. Dette kan skyldes, at der i dette studie kun indgik 6 plage. For at udtale sig om alderens påvirkning vil det være krævet at opstille et studie, hvor hestene inddeles i grupper på baggrund af alder.

3.6.1.1 ANDRE STUDIERS FUND AF FORKORTET ERP

I de undersøgte danske heste genfandtes ikke den tendens til forkortede ERP, der er set i udlandet de seneste år. Der er på det seneste rapporteret om forkortet ERP efter ivermectinbehandling mod strongylideæg fra flere sider. I 2007 rapporteres fra Tyskland, at besætningseffekten var <90% i 2 ud af 6 besætninger 35 dage efter behandling [54]. I Brasilien blev der i 2008 fundet 65% behandlingseffekt 4 uger efter behandling [36], og i USA blev der i 2008 fundet positiv FEC 4 uger efter behandling [31]. For 15 år siden, da de første undersøgelser af ERP efter ivermectinbehandling blev foretaget i Holland, rapporteredes om ERP på 6-9 uger, og det blev fundet, at der i gennemsnit var min. 90% effekt indtil 63 dage efter behandling med ivermectin [6]. Ved en anden definition på ERP fandtes positiv FEC 6 uger efter behandling og gennemsnitlig FEC på 100 EPG 9 uger efter behandling [5].

Det har været anført, at ERP er første tegn på begyndende resistens [46]. Såfremt dette er sandt, kan det konkluderes ud fra den længere ERP i Danmark end i udlandet, at danske cyathostomer er længere fra at udvikle resistens end de undersøgte tyske og amerikanske artsfæller. I Danmark har de praktiserende dyrlæger siden en lovændring i 1999 varetaget opgaven omkring ormebehandling, herunder overvågning og rådgivning i forbindelse med valg af behandlingsstrategi [2]. Lovgivningen blev ændret med det formål at bevare effektiviteten af de eksisterende anthelmintika og forsinke udviklingen af resistens. De fleste danske dyrlæger anbefaler gødningsprøve fra samtlige heste to gange årligt og selektiv terapi ud fra resultatet af prøverne. Nogle steder praktiseres yderligere behandling af føl og plage i løbet af græsningssæsonen [37]. Dette betyder, at lovændringen har været årsag til en gradvis ændring i behandlingsmønsteret og ført til en selektiv behandlingsstrategi med færre behandlinger end før loven blev indført, hvor danske heste blev behandlet i gennemsnit ca. 4 gange årligt [26]. Strategien bakkes op af en anbefaling om sjældnere behandling for at forsinke udviklingen af resistens bygget på en computermodel af nematoder hos får, der viste, at den vigtigste enkeltfaktor i forbindelse med resistensudvikling er behandlingsfrekvensen.[3]

Det er nærliggende at antage, at tilsyneladende længere ERP i Danmark end andre lande kan have en sammenhæng med den lave behandlingsfrekvens. Det kan ikke udelukkes, at den danske strategi har gjort en forskel, men denne enkeltstående undersøgelse kan heller ikke bevise, at den har gavnet. Et dansk studie udført parallelt med dette viste en højere gennemsnitseffekt af ivermectin mod spolorm end i resten af verden [25]. Flere og fremtidige studier må vise, om lovgivningen har haft den ønskede effekt.

3.6.2 STUDIETS DESIGN OG METODER

Det er vigtigt at tage metodens usikkerhed i betragtning ved vurdering af studiets fund. Feltstudier som det her udførte er brugbare i overvågningen af anthelmintikas effektivitet, men har visse begrænsninger, fordi data udelukkende består af FEC, hvor ormebyrden estimeres på baggrund af ægudskillelsen. Således diagnosticeres kun æglæggende orm af hunkøn. Hanner og præpatente larvestadier kan ikke diagnosticeres på denne måde. Hunormenes frugtbarhed er desuden vist at have variationer over tid [38]. Korrelationen mellem infektionsbyrden og ægudskillelsen kendes ikke hos heste. Hos mennesker med hageorm er er det fundet, at FEC korrelerer godt til den adulte ormbyrde [48]. Hos får er der derimod fundet et ikke lineært forhold mellem ægudskillelsen og ormebyrden hos *Ostertagia spp* [41], og god korrelation mellem ormebyrden og FEC hos alle andre arter end *Nematodirus spp.* [34]. Det er observeret, både i tidligere undersøgelser [16, 31] og ved de ubehandlede heste i dette studie (data ikke vist), at ægudskillelsen fra den individuelle hest kan svinge over tid.

Det er anført, at McMaster har en usikkerhed på op mod 50%. på grund af variationer i ormenes ægudskillelse [53]. Den anvendte McMaster har en detektionsgrænse på 50 EPG [42], og lave FEC under dette niveau vil derfor med stor sandsynlighed blive vurderet til 0 EPG. Variationen i ægudskillelsen giver risiko for, at FEC er lav i perioder og dermed ikke kan detekteres med den anvendte metode. McMaster har en tendens til at være falsk negativ ved lave ægudskillelser [13]. Argumentet for alligevel at vælge denne metode er, at det er denne test der anvendes ved de fleste danske standardundersøgelser [37], og at anvendelsen af denne derfor vil gøre resultaterne sammenlignelige med fund, der fremover kan gøres i klinisk praksis.

Det er en styrke ved undersøgelsen, at der sås en stor kontinuitet i udskillelsen. Når en hest havde fået konstateret FEC >0 EPG, fortsatte dette ved de efterfølgende undersøgelser. Der var en tendens til, at når en besætning havde én positiv hest, fulgte flere ugen efter. Hos ingen heste eller besætninger forsvandt den positive FEC, når den først var konstateret. Dermed må det forventes, at det observerede er et reelt billede af status i de undersøgte besætninger.

En større sikkerhed for de fundne data kan opnås i kontrollerede studier, hvor hestene aflives, og den aktuelle ormebyrde kan fastslås med stor nøjagtighed. Denne metode egner sig dog kun til videnskabelige studier og er ikke praktisk anvendelig i løbende kontrol og overvågning af resistensniveauet i almindelige besætninger.

3.6.2.1 UDREGNING AF FECR

Ved udregning af behandlingseffekt har der i litteraturen været anvendt forskellige metoder. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) anbefalede, at FECR blev udregnet på baggrund af gennemsnitlig FEC for den behandlede og den ikke behandlede gruppe [7]. Et studie sammenlignede denne metode med den, der er anvendt i dette studie, hvor FECR udregnes for hver individuel hest ved at sammenligne FEC før og efter behandling [39]. Ved beregning af FECR på baggrund af individuelle heste er der ikke behov for en kontrolgruppe, og variationen reduceres, fordi hesten sammenlignes med sig selv. Derved opnås større styrke i de statistiske test. Beregningsmetoden giver et bredere spektrum, men smallere konfidensinterval, hvor den nedre grænse findes tættere på gennemsnittet. Beregningsmetoderne har været anvendt i et ressistensstudie, hvor det fandtes, at sidstnævnte metode afslørede færre tilfælde af resistens end den første metode ved en grænse på 90% [39]. Færre tilfælde af resistens kan være et udtryk for en lavere sensitivitet eller en højere specificitet. I denne undersøgelse var det ønsket at lave en konservativ beregningsform uden risiko for falsk positive diagnoser, hvilket var en del af argumentet for denne beregningsmetode. Metoden er desuden anvendt i flere nyere studier og ser ud til at blive accepteret af litteraturen [31, 50, 54].

Beregningen af gennemsnittet for alle undersøgte besætninger kan foretages på flere måder. Mange steder i litteraturen er det ikke anført præcist, hvilken metode, der er anvendt, hvilket vanskeliggør sammenligning af forskellige fund. WAAVP anbefalede ved beregning af besætningsgennemsnittet at benytte aritmetisk gennemsnit. Denne beregningsmetode begrundes i et bedre estimat af ægudskillelsen, et mere konservativt estimat af effekten og lettere udregningsmetode, og generelt ser det ud til, at denne anbefaling følges. Nogle studier har benyttet besætningsgennemsnittet af FEC for alle heste i besætningen før og efter behandling, og derefter beregnet besætningseffekten ud fra disse to tal [4, 5, 27]. Andre har beregnet effekten for hver enkelt undersøgt hest, og derefter beregnet besætningsgennemsnittet af de individuelt udregnede FECR effekter for hver besætning [31, 50, 54]. Ved valg af den første metode tillægges den individuelle hest begrænset betydning, og vægten i studiet placeres på besætningens samlede udskillelsesniveau. Denne metode har været anbefalet med argumentation om, at den har den laveste risiko for falsk detektion af resistens [39]. Sidstnævnte metode benyttes i dette studie.

Undersøgelsens samlede gennemsnitsresultat kan beregnes enten på baggrund af fundne gennemsnitseffekter for hver undersøgt besætning, eller der kan beregnes et vægtet gennemsnit, hvor gennemsnittet af samtlige undersøgte heste beregnes. Den førstnævnte metode er blevet anvendt i beregningerne i dette studie. Den tillægger individuelle heste med lav effekt mindre værdi i forhold til det vægtede gennemsnit. Dette giver en mindre variation og smallere konfidensinterval, idet heste, der kunne mistænkes for at være outliers tillægges meget lille værdi. Ved beregninger af gennemsnit i dette studie er således valgt en metode for den enkelte besætning, hvor der lægges vægt på den enkelte hest, og en metode til det samlede gennemsnit, hvor enkeltindivider tillægges mindre betydning. Dette ud fra en betragtning af, at den enkelte hest kan have en betydning for besætningen, hvis blot en enkelt hest viser nedsat effekt af behandlingen. Den nedsatte

effekt kan skyldes fejlbehandling, der kan være årsag til selektion for resistens, eller udtryk for allerede begyndende resistens hos enkelte parasitter. Disse parasitter, på hvilke der ikke er fuld effekt af anthelmintikabehandling, vil reproducere sig og året efter vil en større del af parasitpopulationen i besætningen tilhøre denne type. Denne metode er samtidig valgt ud fra en vurdering af de usikkerheder, der ligger i at anvende fæcesundersøgelser og i den anvendte McMaster. Disse metoder giver en stor spredning og ringe reproducerbarhed af resultatet, hvorfor en enkelt hest med ekstraordinært højt eller lavt FEC blot kan skyldes metodernes usikkerheder. McMasters høje detektionsgrænse, og den deraf følgende risiko for falsk negative resultater, argumenterer, på grund af den lave specificitet, for valg valget af beregningsmetode, der tillægger enkelthesten en værdi. Ægudskillelsen skal være omkring 50 EPG før det tidligst findes med den anvendte McMaster-teknik. For en hest, der før behandling havde 200 EPG, som var den valgte grænse for behandling svarer dette til en effekt på kun 75%. Mange heste vil dermed ikke kunne opdages ved den valgte grænse på 90% effekt med den anvendte metode, hvorfor der kan argumenteres for, at enkelte positive fund bør tillægges stor værdi.

I det store perspektiv vil den enkelte hest dog have mindre betydning, og behandlingssvigt i én hest er således ikke udtryk for et generelt problem i alle orm i et større geografisk område, hvorfor den metode, det giver mindre vægt til enkeltindivider er valgt til beregning af det samlede gennemsnit.

3.6.2.2 STIKPRØVERNES STØRRELSE

Antallet af heste pr. besætning har været meget varierende i litteraturen. Der findes meget få generelle anbefalinger, og i praksis kan det være svært at skaffe store grupper, da mange hestebesætninger kun består af få heste [7]. Den danske selektive terapistrategi gør desuden, at der selv i store besætninger ofte kun er få behandlede heste. Det blev valgt at sætte inklusionskriteriet i denne undersøgelse til 10 heste pr. besætning i et forsøg på at opnå en stikprøve af en rimelig størrelse, der stadig var realistisk. I praksis endte antallet af heste i hver besætning varierende. Få besætninger havde flere end 10 heste, der alle deltog i undersøgelsen. I andre besætninger nåede nogle heste at flytte i løbet af undersøgelsen og disse udgik således af undersøgelsen og fremgår ikke af resultatet.

Som det fremgår af afsnittet om statistik og undersøgelsens design betyder gruppernes størrelse, ar undersøgelsens statiske styrke bliver lav, eller at den mindste detekterbare forskel bliver ret høj. Dette er praktiske problemer, som det ikke har været muligt at omgås i planlægningen af undersøgelsen.

3.6.2.3 HESTEEJERNES INDFLYDELSE

Den enkelte hesteejers vægtvurdering og doseringssikkerhed er en betydelig kilde til fejl og usikkerheder i studiet. Der er ikke foretaget nogen undersøgelser af doseringssikkerheden, eller om nogle af hestene spyttede en del af ormekuren ud efter behandling. I nogle besætninger gik der op til 10 dage fra analysen på laboratoriet blev udført til hestene blev behandlet, og den faktiske FEC på behandlingsdagen kendes dermed ikke. Dette giver store usikkerheder på grund af den anvendte beregningsmetode, hvor hesten netop

sammenlignes med sin egen FEC før behandling. Da alle heste i studiet har haft fuld effekt 2 uger efter behandlingen, kan det antages, at doseringen har været korrekt. Der er ikke observeret tilfælde af manglende effekt af behandling.

Hestene blev i dette studie behandlet og dermed doseret af ejeren selv. Alle indledende prøver er indsamlet af hesteejerne selv og indsendt til laboratoriet med almindelig post. Dermed er der ingen kontrol med indsamlingen og opbevaringen af fæcesprøverne, hvorved faktorer som tid og temperatur, der er vist at have betydning for udviklingen af strongylideæg [43], ikke har været mulige at kontrollere. Upublicerede studier har vist, at inden for det første døgn er opbevaring på køl den vigtigste faktor for antallet af talte æg ved analysen [1]. Dette er ikke praktisk muligt under postforsendelse, og opbevaringstemperaturen for prøverne under transporten kendes ikke, men kan ikke forventes at være nedkølet. Postforsendelse giver endvidere muligheden for en potentiel lang transportperiode, hvis prøven postes for sent eller posten bliver forsinket. Enkelte prøver til FECRT i dette studie blev indsendt med post og et par gange gik 2-3 døgn fra hesteejeren oplyste, at prøven var sendt, til den blev modtaget i laboratoriet. I enkelte af disse prøver fandtes embryonerede strongylideæg med højmotile larver, hvilket antyder muligheden for, at andre æg kan være klækket og dermed ikke kunne tælles. Flertallet af prøver til FECRT i studiet blev dog indhentet til omgående analyse af forfatteren selv.

Forholdet omkring disse usikkerheder afspejler meget præcist den virkelighed, mange praktiserende dyrlæger må forholde sig til, og fejlkilden er derfor blevet accepteret i dette studie. Disse fejlkilder vil muligvis gøre, at resultatet realistisk kan sammenlignes med fremtidige undersøgelser udført i praksis.

3.6.3 DEFINITION AF ERP

ERP er ikke defineret i litteraturen. Dette er et stort problem for den videnskabelige forskning på området, fordi forskellige forskeres forskellige metoder gør det svært at sammenligne resultater. I denne undersøgelse blev valgt en grænse for forkortet ERP på 90% effekt af behandling. Alternativet til at vælge en grænse i procent er valget af en absolut grænse på for eksempel 100 EPG i gennemsnitlig for besætningen FEC. Med denne metode vil ERP være uafhængigt af infektionsniveauet før behandling og en enkelt hest, der udskiller mange æg igen hurtigt, vil have mindre betydning på besætningen som helhed [4]. Fordelen ved at bruge en procentvis reduktion frem for en absolut værdi for FEC er, at der foretages sammenligning med den behandlede hest selv. Dette er med til at mindske den biologiske variation mellem de undersøgte individer. Samtidig er den procentuelle effekt et bedre udtryk for den faktiske virkning af det anvendte anthelmintikum. En lav FEC fra en hest, der kun havde få EPG før behandling, vil på denne måde registreres som en lav effekt af behandling. Faren ved denne metode er, at korrelationen mellem infektionsbyrden og FEC er ukendt. Grænsen på 90% har domineret litteraturen for de forskere, der har valgt at udregne ERP i % effekt [5, 6, 54]. Der ser ikke ud til at være et statistisk argument for netop denne grænse. Anvendelsen af en fast FEC værdi i stedet for procent effekt er primært brugbar i de tilfælde, hvor man ønsker at benytte ERP som et udtryk for den anbefalede tid mellem behandlinger i en undertrykkende strategi. I Danmark anvendes primært selektiv terapi [37], og det er derfor mere oplagt at anvende ERP i overvågning af resistensudviklingen. Til dette formål vil resultatet udtrykt i % effekt være det bedste. Denne beregningsmetode vil gøre det muligt at sammenligne kraftigt forkortet ERP med resultater fra resistensundersøgelser, hvor effekten beregnes i procent.

Det er tidligere anført, at ERP efter ivermectinbehandling må forventes at være 6-8 uger[4, 5, 6, 12, 20, 50]. I den første undersøgelse af ERP med 90% som grænseværdi rapporteredes, at denne grænse indtraf efter 7-11 uger [6]. Grænsen for hvornår ERP var forkortet blev i dette studie lagt på 6 uger efter behandling, idet 6-8 uger blev opfattet som minimumstiden for normal ERP.

Ud fra definitionerne i dette studie, minimum 90% effekt af ivermectin 6 uger efter behandling, er der ikke tegn på forkortet ERP i Danmark. Sammenlignet med 15 år gamle fund fra Holland er der heller ikke umiddelbare tegn på, at ERP er forkortet i nærværende studie [5]. Alligevel findes i lande, vi normalt sammenligner os med, herunder Tyskland og USA i disse år tydelige tegn på forkortet ERP. En mulig forklaring på denne forskel skal måske findes i den anderledes lovgivning, der tidligere er omtalt. Den ikke forkortede ERP kan være et udtryk for, at denne lovgivning måske har opfyldt sit formål, men yderligere kontrollerede studier vil være påkrævet for at afgøre dette med sikkerhed. Et længere varende studie, hvor besætningen blev fulgt til gennemsnitseffekten var under 90% ville være relevant at udføre i fremtiden, da nærvende studie ikke har fastlagt, hvornår den definerede grænse for ERP på 90% effekt indtræder. Et lignende studie blev udført i Holland i1993, hvor man fandt et at gennemsnittet nåede 90% efter 9 uger, og at tidspunktet varierede i besætningerne fra 7-11 uger [6].

Baseret på ovenstående overvejelser, må det anbefales, at ERP defineres som "Perioden fra behandling til den gennemsnitlige besætningseffekt er <90%". For Ivermectin bør en periode på 6-8 uger vurderes som normal, baseret på de tidlige undersøgelser af ERP [6]og de fund, der er gjort i dette studie. En effekt på <90% før 6 uger må betragtes som forkortet ERP. For at kunne sammenligne studier er det essentielt, at beregningerne foretages ensartet af alle forskere. Det anbefales, at besætningseffekten udregnes som gennemsnit af den individuelle hests effekt, sådan som det er gjort i dette studie og tidligere [31, 39, 50, 54]. Usikkerhederne i forbindelse med fæcesundersøgelserne gør det tilrådeligt at vælge den konservative beregningsmetode, der er anvendt i dette studie.

3.6.4 EFFEKT AF DOSERINGENS PRÆCISION

Resultaterne i dette studie tyder på, at præcis dosering af ormekuren efter vægt er at foretrække frem for at overdosere hestene bevidst. Det er anbefalet, at hestene vejes, eller at vægten estimeres med vægtmålebånd inden doseringen med anthelmintika [21, 39]. Ældre publikationer har anbefalet, at hesteejerne rådes til en svag overdosering, da hesteejere har tendens til, at underestimere vægten af deres heste [21]. I de tilfælde, hvor hesteejerne i dette studie har forsøgt at estimere vægten af deres hest, enten visuelt eller med målebånd, har de fleste hesteejere (46%) ramt vægten med ret stor nøjagtighed, inden for en grænse på +/- 25 kg. Mange af hesteejerne oplyste, at de benyttede vægtmålebånd til estimering af vægten. Dette kan være en stor del af forklaringen på den gode overensstemmelse med den estimerede vægt. Anbefalingen til hesteejeren bør være at estimere hestens vægt med vægtmålebånd og runde den fundne vægt op til en værdi, der er let at indstille på ormekurens doseringssprøjte. Man bør sikre sig, at hesten sluger den fulde mængde ormekur efter tildeling, men det anbefales ikke at overdosere for at "være sikker".

Grænsen for korrekt dosering på +/- 25 kg blev valgt dels ud fra en vurdering af tidligere fundet sikkerhed ved brug af vægtmålebåndet [39], og dels ud fra vurdering af sikkerheden ved indstilling af doseringssprøjten med ormekur, på hvilken doseringsintervallet er 25 kg. For de heste, der er overdoseret med ormekur gælder, at overdoseringen i nogle besætninger er sket bevidst og i andre ubevidst. Ingen heste var underdoseret bevidst. De fleste af de underdoserede heste var således kun underdoseret ganske lidt, mens mange overdoserede heste fra ejerens side bevidst var overdoseret kraftigt, idet de var tildelt en hel sprøjte med ormekur til behandling af 700 kg hest uanset hestenes faktiske vægt. Nogle heste har således fået tildelt ca. 150% af den anbefalede dosis. For illustration af dette forhold henvises til figur 3.5-3. Var en anden grænse for præcis dosering blevet valgt, for eksempel +/- 50 kg fra målebåndets vægt, ville andelen af korrekt behandlede heste have været højere (56%) og andelen af underdoserede ville være 4% i forhold til 12,7% ved den anvendte margin på 25 kg. Andelen af overdoserede heste ville derimod kun falde fra 42,3% til 39%. Dette kan have en betydning for de afvigelser, der blev påvist, idet der i den statistiske analyse ikke blev skelnet mellem graden af overdosering, der givetvis må forventes at have en betydning. De ejere, der oplyste, at de bevidst havde overdoseret deres heste, oplyste desuden, at dette var besætningens normale praksis. Andre faktorer,

der kan spille ind på resultatet af disse analyser er forskellen i opstaldningsform, belægningsgrad på foldene eller andre ukendte faktorer, der kan udgøre en form for confounding. Der er ikke taget hensyn til disse forhold i de statistiske analyser.

Hestenes vægt blev, for at afgøre korrektheden af den dosering ejeren havde opgivet, estimeret ved brug af et vægtmålebånd. Målebåndets nøjagtighed var ikke kontrolleret inden brug, men målebånd som dette er tidligere vist at give resultater, der ikke var signifikant forskellige fra vejning på en elektronisk vægt [39]. Metoden er anvendt i flere nyere studier [24, 31, 33, 39, 50, 54]. Det anvendte målebånd var oplyst af producenten at være sikkert til estimering af vægt på voksne heste over 3 år, og heste under denne alder er derfor udeladt fra analyserne af disse resultater. Anvendelsen af målebåndet var nødvendigt, da der i der ikke var adgang til elektroniske vægte i besætningerne. At veje hesten på en vægt ville have givet et langt mere nøjagtigt resultat af disse analyser, og en sådan fremgangsmåde bør anvendes, hvis fundne skal kontrolleres i et senere studie. Det var dog ikke logistisk eller praktisk muligt i dette studie, at transportere alle heste til en elektronisk vægt. Derved bedømmes målebåndets estimat som den sande værdi. Heste, hvor der har anvendt tilsvarende målebånd ved doseringen, vil dermed blive bedømt som korrekt doseret uanset, at der potentielt kan være vurderet ukorrekt af begge målebånd.

Alternativet til at vælge en fast grænse for definitionen på korrekt dosering kunne være at vælge en acceptabel fejlmargin i procent i forhold til hestens vægt. Dette ville give et mere nuanceret billede, idet en fejlvurdering på 25 kg vil have større betydning for doseringens afvigelse målt i procent fra det korrekte hos en shetlandspony på 150 kg end hos en varmblods hest på 650 kg. Begge typer heste indgik i studiet. De fleste heste vejede imellem 350 og 600 kg, hvor 25 kg udgør en afvigelse på 4-7%.

Det er ikke muligt ud fra observationerne i dette studie at udtale sig om, hvor vidt gentagne kraftige overdoseringer har en betydning i forhold til enkeltstående tilfælde af mild overdosering, men det må antages, at der kan være en forskel. Studiet er ikke stort nok og er ikke designet til, at afgøre betydningen af præcis dosering af ivermectin. Ud fra de fund, der er gjort, vil det være relevant at undersøge dette forhold nærmere. En mulighed for at undersøge sammenhængen vil være et kontrolleret studie, hvor grupper af heste bliver behandlet med forskellige doseringer af ivermectin i forhold til deres vægt og aflivet for eksempel 6 uger senere, hvor deres totale ormebyrde ville kunne afgøres og grupperne sammenlignes. En teori i et sådant studie kunne være, at overdoseringen ville selektere for resistens hos L_4 af de årsager, der diskuteres herunder. For at udelukke konfundering mellem grupperne vil det være af betydning at vælge ensartede heste af samme alder, størrelse og med samme baggrund. Det vil derudover være relevant at undersøge, om tidsperioden i hvilken hesten har været udsat for fejldosering har betydning. Dette kunne belyses ved at foretage gentagne behandlinger af sådanne grupper af heste over flere år før aflivning.

3.6.4.1 FARMAKOLOGISKE FORKLARINGER PÅ EFFEKTEN AF DOSERINGENS PRÆCISION

I forhold til dosering og udvikling af resistens må farmakokinetiske forhold overvejes. Ved en enkelt oral administration af et anthelmintikum vil dette blive absorberet og elimineret efter førsteordenskinetik [17]. Det betyder, at stoffet fjernes eksponentielt. Således afhænger mængden af stof, der fjernes over en given tidsperiode af mængden af stof, der er til stede. Den maksimale koncentration vil opnås, når den mængde, der absorberes er ligeså stor som den mængde, der udskilles. Herefter vil koncentrationen falde. Først hurtigt, men når mængden af stof tilbage i kroppen falder, falder også mængden af stof, der udskilles, og derfor får eliminationskurven den karakteristiske "hale" [17].

Det er anført, at det er afgørende for succesfuld behandling, at parasitterne udsættes for de nødvendige koncentrationer af stoffet i tilstrækkelig lang tid til at fjerne alle orm, og at det er vigtigt, at parasitpopulationen ikke udsættes for de lave koncentrationer i slutningen af eliminationsperioden, der kan selektere for resistens [17]. Det er fremført, at den mængde aktivt stof, der er tilbage i kroppen i eliminationsperioden kan selektere for resistens hos de nye larver, hesten fortsat optager under græsning [45]. Der er således anført mistanke om, at stoffer med langvarig effekt, fx ivermectin og moxidectin, der ophobes i fedtvævet, selekterer kraftigere for resistens end kortere virkende stoffer på grund af den længere eliminationsperiode. Ved computersimuleringer med modeller af får er det fundet, at den faldende koncentration af stoffet under eliminationsfasen efter behandling har mindre indflydelse på selektionen for resistens blandt de infektive larver [9]. Der mangler sikker forskning både for og imod disse argumenter [45]. Det er anført, at en øget dosis ikke vil være løsningen på resistensproblemer, da paraciticid koncentration ikke holdes i signifikant længere tid efter den højere dosis, og effekten øges derfor ikke [47]. En kraftig overdosering vil give en længere eliminationskurve og dermed en længere periode, hvor nye larver udsættes for sublethale koncentrationer af ivermectin, hvilket teoretisk set resulterer i en kraftigere selektion for anthelmintikaresistens [45]. I England forventes det således af nogle forskere at se resistens hos cyathostomer i fuldblodsheste på et tidligere tidspunkt end hos andre heste, fordi de på grund af deres høje økonomiske værdi har været systematisk overdoseret [11].

Det vil ikke være tilrådeligt at underdosere anthelmintika systematisk for at undgå den skitserede problematik med hensyn til overdosering. Underdosering vil svare til at bruge et mindre effektivt middel, hvor den maksimale koncentration af stoffet er lavere og holdes i kortere tid. Dette kan sammen med langtidsvirkende stoffer selektere for resistens. Det er anført, at betydningen af underdosering eller brug af et ineffektivt middel ændres under forskellige behandlingsforhold [46].

Viden om selektionshastigheden under forskellige forhold haves primært fra forskellige teoretiske modeller og computersimuleringer [46]. Sådanne simuleringer hos får har vist, at den største selektion for resistens sker, når effekten af det anvendte middel er 90-99,99%. [45, 46]. Den kraftige selektion kan undgås ved enten kun at behandle en del af parasitpopulationen eller behandle med henblik på at opnå en reduceret effekt på mindre

end 90%, hvor også flere følsomme orm vil overleve behandlingen [45, 46]. Målet med begge strategier er at sænke andelen af resistente orm i populationen. Den danske strategi med selektiv behandling efterlader et stort ubehandlet refugium og følger således den første af disse anbefalinger. Ved tildeling af ormekur bør det overvejes, at selv ved ekstremt effektive stoffer, som for eksempel AM, er den faktiske biotilgængelighed i praksis ikke altid optimal. Forskellige faktorer, blandt andet værtens alder, ukorrekt vægtestimering eller ukomplet tildeling af medicinen, kan være årsag til dette. De nævnte faktorer, der kan sænke biotilgængeligheden, vil flytte effektiviteten af ivermectin ned i det område, hvor der er kraftigst selektion for resistens. [46] Derfor er præcis dosering vigtig.

3.6.5 EFFEKT AF INFEKTIONSPRESSET I BESÆTNINGEN

Der fandtes en signifikant effekt af infektionspresset i besætningen på ægudskillelsen hos de behandlede heste 6 uger efter behandling. Infektionspresset var udtrykt ved det gennemsnitlige FEC for både behandlede og ubehandlede heste ved den indledende undersøgelse inden behandling. Besætningens gennemsnits FEC før behandling vil være et godt estimat for, hvor stor en kontaminering med strongylideæg der sker på foldene og således også for, hvor mange infektive larver der kan forventes at være i græsset. Antallet af larver vil afhænge af årstiden og klimatiske faktorer [12], men må forventes under givne forhold at udgøre en given andel af de udskilte æg.

6 uger er nær den kortest mulige præpatenstid for cyathostomer [12, 46], og fund af æg 6 uger efter behandling kan således både stamme fra reinfektion af de behandlede heste og fra ekscystering af hypobiotiske larvestadier fra tarmmucosaen. Fundet er således ikke overraskende, idet det kan forventes, at et højt infektionspres i besætningen giver hurtig reinfektion, hvis der anvendes permanente folde. Der er i analyserne ikke taget hensyn til om der bliver foretaget foldskifte eller fjernet fæces fra de benyttede folde i besætningerne. Den signifikante effekt af infektionspresset var dog uafhængig af tiden. Dette kan skyldes, at et højere infektionspres også resulterer i flere encysterede larver i henstens tarmmucosa. Disse kan bryde ud straks efter behandlig.

Signifikant tidligere ægudskillelse ved højt gennemsnitligt FEC før behandling resulterer i hurtigere reinfektion og kraftigere kontamination af foldene. Det må derfor anbefales, at smittepresset nedbringes ved om nødvendigt at opsamle fæces fra foldene og benytte sig af korrekt management af foldene. Det bør således anbefalelses, at hestene flyttes til en ren fold i forbindelse med behandlingen. Denne flytning bør, af hensyn til opretholdelsen af et refugium af følsomme larver, ske inden behandling, således at den nye fold kan kontamineres med æg fra følsomme orm inden behandling. Eventuelle æg fra resistente orm vil da fortyndes imellem æg fra følsomme orm der tidligere er udskilt. Resultatet er fundet tilfældigt i denne undersøgelse udelukkende på baggrund af gennemsnittet af FEC i besætningerne før behandling. For at undersøge effekten nærmere må der i et fremtidigt studie lægges større vægt på at undersøge managementforholdene omkring de deltagende besætninger, for eksempel med en spørgeskemaundersøgelse. Effekten kan undersøges ved at undersøge grupper af heste, der græsser på marker med forskelligt niveau af infektive larver.

3.6.6 KONTROLHESTE

Flere af kontrolhestene udviste en uforudset stigning i FEC i perioden for undersøgelsen og steg meget kraftigt på meget kort tid. Enkelte heste steg fra 0 EPG ved den indledende undersøgelse til over 1000 EPG allerede 2 uger senere. Enkelte heste blev behandlet på denne baggrund og udgik derefter af studiet. Der blev undersøgt kontrolheste fra alle stalde undtagen stald 1. Der blev fundet mere eller mindre markante stigninger hos kontrolhestene i alle stalde undtagen stald 3, hvor kun 1 kontrolhest havde positiv FEC. Hos enkelte kontrolheste, som fik lavet FEC flere gange i forløbet, sås først en stigning og siden et markant fald, svarende til gennemsnittet for kontrolhestene. Faldet kan måske tilskrives årstiden, idet de sidste prøver er udtaget primo-medio november.

Årsagen til denne stigning er ikke undersøgt nærmere, idet formålet med kontrolhestene udelukkende var at vise, at det var muligt at finde strongylideæg på tidspunktet for undersøgelsen. Kontrolhestene viser tydeligt, at der blev udskilt endog betydelige mængder strongylideæg selv i november måned. Dermed kan den manglende ægudskillelse i de behandlede heste ikke tilskrives årstiden.

Det kan være et mål for fremtidige studier at undersøge, hvordan den ubehandlede del af populationen reagerer ved selektiv terapi. Denne forskning er ikke tidligere foretaget, ligesom den naturlige variation i FEC om efteråret i et tempereret klima som det danske ikke kendes. Resultaterne i dette studie antyder, at de heste, der ved de indledende undersøgelser havde så lave FEC, at behandling ikke blev foretaget, kort tid efter steg til et niveau, hvor flere heste blev behandlingskrævende. Spørgsmålet rejser sig, om ormene i disse heste blot er på et senere stadium i deres livscyklus og derfor ikke er nået et maksimalt ægudskillelsesniveau, eller om der er en uforklarlig biologisk effekt af den ophørte ægudskillelse fra de behandlede heste.

3.6.7 PERSPEKTIVER

Det her udførte studie må betragtes som værende af præliminær karakter. De fundne resultater for ERP kan danne grundlag for en viden om tilstanden i Danmark på undersøgelsestidspunktet, men yderligere undersøgelser vil være påkrævet. At gentage studiet i et design, hvor alle heste følges til besætningsgennemsnittet er under 90% vil være oplagt, og først ved et resultat af et sådant studie både i Danmark og i udlandet er det muligt at udtale sig om effekten af den selektive danske strategi med lovgivning om receptpligt i forhold til de tidligere gjorte fund i lignende undersøgelser. Et resultat af en sådan undersøgelse, vil være et argument for at indføre lignende lovgivning i andre lande. Undersøgelse af hvordan infektionspresset i besætningen påvirker ægudskillelsen og hvilke faktorer der bidrager til at øge dette smittepres er oplagte efter fundet i dette studie, da fundet af dette var tilfældigt. De gjorte observationer omkring vigtigheden af korrekt dosering og udviklingen i FEC hos de ikke behandlede heste er at betragte som tilfældige fund og bør undersøges nærmere i studier designet med dette formål, før endelige konklusioner drages.

3.7 REFERENCER

[1] Andersen, U.V. og Pilegaard, K. (2009) *Udvalgte Faktorers Indflydelse På Antallet Af Strongylideæg I Hestefæces Påvist Ved Flotation - Opbevaringstid, Opbevaringstemperatur Og Lufttilgang*. Veterinært Speciale Københavns Universitet, Det Biovidenskabelige Fakultet, Frederiksberg.

[2] Anonym (1998) Lov Nr. 1043 Af 23/12-1998 Om Ændring Af Lov Om Lægemidler.

[3] Barnes, E.H. og Dobson, R.J. (1990) Population-Dynamics of Trichostrongylus-Colubriformis in Sheep - Computer-Model to Simulate Grazing Systems and the Evolution of Anthelmintic Resistance. *International Journal for Parasitology* 20 (7), 823-831.

[4] Boersema, J.H., Borgsteede, F.H.M., Eysker, M. og Saedt, I. (1995) The Reappearance of Strongyle Eggs in Feces of Horses Treated with Pyrantel Embonate. *Veterinary Quarterly* 17 (1), 18-20.

[5] Boersema, J.H., Eysker, M., Maas, J. og Vanderaar, W.M. (1996) Comparison of the Reappearance of Strongyle Eggs in Foals, Yearlings, and Adult Horses after Treatment with Ivermectin or Pyrantel. *Veterinary Quarterly* 18 (1), 7-9.

[6] Borgsteede, F.H.M., Boersma, J.H., Gaasenbeek, C.P.H. og Vanderburg, W.P.J. (1993) The Reappearance of Eggs in Feces of Horses after Treatment with Ivermectin. *Veterinary Quarterly* 15 (1), 24-26.

[7] Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A. og Waller, P.J. (1992) World-Association-for-the-Advancement-of-Veterinary-Parasitology (Waavp) Methods for the Detection of Anthelmintic Resistance in Nematodes of Veterinary Importance. *Veterinary Parasitology* 44 (1-2), 35-44.

[8] Comer, K.C., Hillyer, M.H. og Coles, G.C. (2006) Anthelmintic Use and Resistance on Thoroughbred Training Yards in the Uk. *Veterinary Record* 158 (17), 596-598.

[9] Dobson, R.J., Lejambre, L. og Gill, J.H. (1996) Management of Anthelmintic Resistance: Inheritance of Resistance and Selection with Persistent Drugs. *International Journal for Parasitology* 26, 993-1000.

[10] Drudge, J.H., Wyant, Z.N. og Elam, G.W. (1953) Continuous Phenothiazine Therapy for Horses. *Veterinary Medicine* 48, 306-310.

[11] Dudeney, A., Campbell, C. og Coles, G. (2008) Macrocyclic Lactone Resistance in Cyathostomins. *Veterinary Record* 163 (5), 163-164.

[12] Duncan, J.L. (1985) Internal Parasites of the Horse and Their Control. *Equine Veterinary Journal* 17 (2), 79-82.

[13] Egwang, T.G. og Slocombe, J.O.D. (1981) Efficiency and Sensitivity of Techniques for Recovering Nematode Eggs from Bovine Feces. *Canadian Journal of Comparative Medicine-Revue Canadienne De Medecine Comparee* 45 (3), 243-248.

[14] Eysker, M., Bakker, J., Van Den Berg, M., Van Doom, D.C.K. og Ploeger, H.W. (2008) The Use of Age-Clustered Pooled Faecal Samples for Monitoring Worm Control in Horses. *Veterinary Parasitology* 151 (2-4), 249-255.

[15] Eysker, M., Boersema, J.H. og Kooyman, F.N.J. (1992) The Effect of Ivermectin Treatment against Inhibited Early 3rd Stage, Late 3rd Stage and 4th Stage Larvae and Adult Stages of the Cyathostomes in Shetland Ponies and Spontaneous Expulsion of These Helminths. *Veterinary Parasitology* 42 (3-4), 295-302.

[16] Gibson, T.E. (1953) The Effect of Repeated Anthelmintic Treatment with Phenothiazine on the Faecal Egg Counts of Housed Horses, Whit Some Observations on the Life Cycle of *Trichonema* Spp. In the Horse. *Journal of Helminthology* 27, 29-40.

[17] Hennessy, D.R. (1997) Physiology, Pharmacology and Parasitology. *International Journal for Parasitology* 27 (2), 145-152.

[18] Herd, R.P. (1986) Epidemiology and Control of Parasites in Northern Temperate Regions. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice* 2 (2), 337-355.

[19] Herd, R.P. (1990) The Changing World of Worms - the Rise of the Cyathostomes and the Decline of Strongylus-Vulgaris. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian* 12 (5), 732-736.

[20] Herd, R.P. og Gabel, A.A. (1990) Reduced Efficacy of Anthelmintics in Young Compared with Adult Horses. *Equine Veterinary Journal* 22 (3), 164-169.

[21] Herd, R.P.C., G.C. (1995) Slowing the Spread of Anthelmintic Resistant Nematodes of Horses in the United Kingdom. *The Veterinary Record* 136, 481-485.

[22] Kaminsky, R., Ducray, P., Jung, M., Clover, R., Rufener, L., Bouvier, J., Weber, S.S., Wenger, A., Wieland-Berghausen, S., Goebel, T., Gauvry, N., Pautrat, F., Skripsky, T., Froelich, O., Komoin-Oka, C., Westlund, B., Sluder, A. og Maser, P. (2008) A New Class of Anthelmintics Effective against Drug-Resistant Nematodes. *Nature* 452 (7184), 176-U119.

[23] Kaplan, R.M. (2004) Drug Resistance in Nematodes of Veterinary Importance: A Status Report. *Trends in Parasitology* 20 (10), 477-481.

[24] Kaplan, R.M., Klei, T.R., Lyons, E.T., Lester, G., Courtney, C.H., French, D.D., Tolliver, S.C., Vidyashankar, A.N. og Zhao, Y. (2004) Prevalence of Anthelmintic Resistant Cyathostomes on Horse Farms. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 225 (6), 903-910.

[25] Larsen, M.L. (2009) Undersøgelse Af Resistensniveauet Hos Ivermectinbehandlede Danske Hestes Nematoder. In: *Ivermectins effekt mod hestens nematoder under danske forhold - Studier af fækal ægreduktion og egg reapearance period, Veterinært Speciale*, Faggruppen Medicin og Kirurgi, Institut for Produktionsdyr og Heste, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet., København.

[26] Lendal, S., Larsen, M.M., Bjorn, H., Craven, J., Chriel, M. og Olsen, S.N. (1998) A Questionnaire Survey on Nematode Control Practices on Horse Farms in Denmark and the Existence of Risk Factors for the Development of Anthelmintic Resistance. *Veterinary Parasitology* 78 (1), 49-63.

[27] Little, D., Flowers, J.R., Hammerberg, B.H. og Gardner, S.Y. (2003) Management of Drug-Resistant Cyathostominosis on a Breeding Farm in Central North Carolina. *Equine Veterinary Journal* 35 (3), 246-251.

[28] Love, S., Murphy, D. og Mellor, D. (1999) Pathogenicity of Cyathostome Infection. *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 113-121.

[29] Lumsden, G.G.Q.-T., R.; Smith, S.M.; Washbrooke, I.M. (1989) Field Efficacy of Ivermectin, Fenbendazole and Pyrantel Embonate Paste Anthelmintics in Horses. *The Veterinary Record* 125, 497-499.

[30] Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M. og Collins, S.S. (2008) Evaluation of Parasiticidal Activity of Fenbendazole, Ivermectin, Oxibendazole, and Pyrantel Pamoate in Horse Foals with Emphasis on Ascarids (Parascaris Equorum) in Field Studies on Five Farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitology Research* 103 (2), 287-291.

[31] Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M., Lewellen, A. og Collins, S.S. (2008) Field Studies Indicating Reduced Activity of Ivermectin on Small Strongyles in Horses on a Farm in Central Kentucky. *Parasitology Research* 103 (1), 209-215.

[32] Lyons, E.T.T., S.C.; Collins, S.S. (2009) Probable Reason Why Small Strongyle Epg Counts Are Returning "Early" After Ivermectin Treatment of Horses on a Farm in Central Kentucky. *In press*.

[33] Martin-Downum, K., Yazwinski, T., Tucker, C., Fincher, M., Ralph, J. og Hamilton, J. (2001) Cyathostome Fecal Egg Count Trends in Horses Treated with Moxidectin, Ivermectin or Fenbendazole. *Veterinary Parasitology* 101 (1), 75-79.

[34] Mckenna, P.B. (1981) The Diagnostic-Value and Interpretation of Fecal Egg Counts in Sheep. *New Zealand Veterinary Journal* 29 (8), 129-132.

[35] Mercier, P., Chick, B., Alves-Branco, F. og White, C.R. (2001) Comparative Efficacy, Persistent Effect, and Treatment Intervals of Anthelmintic Pastes in Naturally Infected Horses. *Veterinary Parasitology* 99 (1), 29-39.

[36] Molento, M.B., Antunes, J., Bentes, R.N. og Coles, G.C. (2008) Anthelmintic Resistant Nematodes in Brazilian Horses. *Veterinary Record* 162 (12), 384-385.

[37] Nielsen, M.K., Monrad, J. og Olsen, S.N. (2006) Prescription-Only Anthelmintics - a Questionnaire Survey of Strategies for Surveillance and Control of Equine Strongyles in Denmark. *Veterinary Parasitology* 135 (1), 47-55.

[38] Ogbourne, C.P. (1971) Variations in Fecundity of Strongylid Worms of Horse. *Parasitology* 63 (OCT), 289-&.

[39] Pook, J.F., Power, M.L., Sangster, N.C., Hodgson, J.L. og Hodgson, D.R. (2002) Evaluation of Tests for Anthelmintic Resistance in Cyathostomes. *Veterinary Parasitology* 106 (4), 331-343.

[40] Prichard, R. (1994) Anthelmintic Resistance. *Veterinary Parasitology* 54 (1-3), 259-268.

[41] Prichard, R.K., Hall, C.A., Kelly, J.D., Martin, I.C.A. og Donald, A.D. (1980) The Problem of Anthelmintic Resistance in Nematodes. *Australian Veterinary Journal* 56 (5), 239-251.

[42] Roepstorff, A. og Nansen, P. (1998) *Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Swine*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. p 161.

[43] Rupasinghe, D. og Ogbourne, C.P. (1978) Laboratory Studies on Effect of Temperature on Development of Free-Living Stages of Some Strongylid Nematodes of Horse. *Zeitschrift Fur Parasitenkunde-Parasitology Research* 55 (3), 249-253.

[44] Russell, A.F. (1948) The Development of Helminthiasis in Thoroughbred Foals. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 58 (2), 107-127.

[45] Sangster, N.C. (1999) Anthelmintic Resistance: Past, Present and Future. *International Journal for Parasitology* 29 (1), 115-124.

[46] Sangster, N.C. (1999) Pharmacology of Anthelmintic Resistance in Cyathostomes: Will It Occur with the Avermectin/Milbemycins? *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 189-201.

[47] Sangster, N.C., Rickard, J.M., Hennessy, D.R., Steel, J.W. og Collins, G.H. (1991) Disposition of Oxfendazole in Goats and Efficacy Compared with Sheep. *Research in Veterinary Science* 51 (3), 258-263.

[48] Schad, G.A. og Anderson, R.M. (1985) Predisposition to Hookworm Infection in Humans. *Science* 228 (4707), 1537-1540.

[49] Schatzmann, U., Pfister, K. og Schmitt, K. (1986) Erhfarungen Mit Ivermectin in Enem Grösseren Pferdebestand. *Der praktische Tierarzt* 8, 649-652.

[50] Tarigo-Martinie, J.L., Wyatt, A.R. og Kaplan, R.M. (2001) Prevalence and Clinical Implications of Anthelmintic Resistance in Cyathostomes of Horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218 (12), 1957-1960.

[51] Traversa, D., Klei, T.R., Iorio, R., Paoletti, B., Lia, R.P., Otranto, D., Sparagano, O.A.E. og Giangaspero, A. (2007) Occurrence of Anthelmintic Resistant Equine Cyathostome Populations in Central and Southern Italy. *Preventive Veterinary Medicine* 82 (3-4), 314-320.

[52] Uhlinger, C.A. (1991) Equine Small Strongyles - Epidemiology, Pathology, and Control. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian* 13 (5), 863-869.

[53] Uhlinger, C.A. (1993) Uses of Fecal Egg Count Data in Equine Practice. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian* 15 (5), 742-749.

[54] Von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schuermann, S., Rohn, K., Schnieder, T. og Epe, C. (2007) Cases of Reduced Cyathostomin Egg-Reappearance Period and Failure of Parascaris Equorum Egg Count Reduction Following Ivermectin Treatment as Well as Survey on Pyrantel Efficacy on German Horse Farms. *Veterinary Parasitology* 144 (1-2), 74-80.

4. OPSAMLENDE DISKUSSION

4.1 BETYDNINGEN AF DEN SELEKTIVE DANSKE BEHANDLINGSSTRATEGI

Som det eneste land i verden har Danmark de seneste 10 år haft receptpligtige anthelmintika [3], hvilket har flyttet ansvaret for overvågning og behandling af gastrointestinale parasitter, således at dette, i stedet for at være op til ejeren selv, er blevet et veterinært anliggende [112].

Der blev i dette studie ikke fundet hverken resistens eller forkortet ERP efter behandling med ivermectin. I 10% af de undersøgte heste med spolorm fandtes en effekt under den fastsatte grænse for resistens på 90%. Desuden fandtes i 1 ud af 9 undersøgte besætninger effekt under 90% på strongylideæg 6 uger efter behandlingen. Disse fund kan tolkes som en styrke for den unikke danske anthelmintikastrategi, fordi de er betydeligt lavere end de resultater, der er fundet i andre lande de seneste år [74, 105, 152].

Det kan ikke på baggrund af dette speciale konkluderes, om den danske strategi har haft den ønskede effekt og forsinket resistensudviklingen. I 1998 blev danske heste i gennemsnit behandlet 4 gange årligt med 2,4 forskellige stoffer [78] Der er grund til at tro, at lovgivningen har ændret behandlingsfrekvensen. I 2006 anbefalede de fleste danske dyrlæger 2 årlige fæcesundersøgelser[112]. Det formodes, at behandlingsfrekvensen er den vigtigste enkeltfaktor i forbindelse med resistensudvikling [6]. En nedsat behandlingsfrekvens forventes dermed at kunne forsinke resistensudviklingen som en konsekvens af mindre selektion for resistente orm. Resultaterne i dette speciale tyder på, at denne forventning kan være korrekt. Studiets præliminære karakter nødvendiggør flere undersøgelser før en endelig konklusion kan drages. Sammenlignende studier med ensartet design i Danmark og andre lande med anderledes behandlingsstrategier vil bedrage til at belyse effekten af den danske strategi. En sådan effekt vil ikke være synlig omgående, men komme over tid, da udviklingen af resistens er en proces, der tager tid. Efter 10 år med lovgivning om receptpligt på anthelmintika og selektiv behandlingsstrategi, må det forventes at en eventuel effekt af denne strategi vil kunne afsløres ved sådanne sammenligninger.

4.2 ANVENDELIGHEDEN AF SPECIALETS FUND I PRAKSIS

4.2.1 ANVENDELSE AF FECRT I RESISTENSDIAGNOSTIK.

I 2006 viste en undersøgelse blandt halvdelen af de danske hestepraksis, at 11% af de danske hestedyrlæger udførte regelmæssige screeninger for resistens ved fæcesundersøgelser. Der er kendt resistens mod alle kommercielt tilgængelige anthelmintika, og det er anbefalet, at der udføres regelmæssige resistensundersøgelser for at være sikker på, at der er effekt af det anvendte middel [28]. Det er vist i dette speciale, at der er forskel på behandlingens effekt i forskellige besætninger. Det er derfor nødvendigt, at udføre FECRT i den aktuelle besætning for at være sikker på, at der er effekt af det valgte anthelmintikum. Ved anvendelse af midler, mod hvilke der andre steder er fundet resistens, for eksempel pyrantel mod strongylider eller ivermectin mod spolorm, bør FECRT udføres efterfølgende for at erkende det aktuelle resistensniveau i den enkelte besætning. Stoffer, mod hvilke der er fundet resistens, bør ikke anvendes længere i denne besætning, da dette vil resultere i yderligere selektion for resistens [63].

Det er af det anvendte samarbejdslaboratorium anbefalet, at resistensundersøgelser udføres på heste med høje FEC >2000 EPG [118]. Der findes ingen publicerede undersøgelser af korrelationen mellem infektionsbyrden og udvikling af resistens eller mellem FEC og den patogene effekt af ormeinfektion. Der kan derfor ikke fastsættes en videnskabeligt baseret grænse for, hvornår der bør udføres resistensundersøgelser på heste med høj FEC. At fastsætte en grænse alligevel kan være nyttigt for at ensarte proceduren hos alle dyrlæger. Beregninger i artiklen om forkortet ERP viste, at en god statistisk styrke opnås ved en høj mindste detekterbar forskel på omkring 300 EPG ved en gruppe størrelse på 10 behandlede heste. Hvis denne grænse skal bruges til at finde 90% effekt af behandlingen skal FECRT udføres på heste med FEC >3000 EPG. Så høje FEC er sjældne og i praksis vil en grænse på omkring det halve være mere realistisk. Vigtigere end systematiske FECRT ved høje ægtal er det at udføre FECRT jævnligt i en screeningsproces for resistens særligt, hvis der er anvendt et middel, mod hvilket der er mistanke om eller konstateret resistens. Således bør man anbefale FECRT i alle besætninger jævnligt, for eksempel årligt i besætninger med stor udskiftning, høj belægningsgrad, stort smittepres eller besætninger, hvor der behandles hyppigere begrundet i tilstedeværelsen af mange ungheste. I besætninger med mindre risiko, for eksempel mindre besætninger med en statisk population af heste, lille udskiftning og en i forvejen velkontrolleret behandlingsstrategi vil FECRT med et par års mellemrum formodentlig være tilstrækkeligt.

De manglende fælles standarder for beregningsmetoder og grænseværdier er et problem, da resultatet af en FECRT vil afhænge af hvilken matematisk metode, der anvendes, når data analyseres[146]. For at kunne sammenligne de fundne resultater vil det være nødvendigt dels at anvende samme grænseværdier for diagnosen resistens og dels at anvende samme beregningsmetoder. I denne undersøgelse er besætningseffekten beregnet som det aritmetiske gennemsnit af effekten beregnet for de individuelle heste. Denne metode fjerner behovet for en ubehandlet kontrolgruppe og gør det muligt at inkludere flere he-

ste i undersøgelsen med større sensitivitet til følge. Argumenterne for de i studiet valgte grænseværdier ligger blandt andet i usikkerhederne i forbindelse med fæcesundersøgelserne. Disse argumenter er anført i diskussionen i det første artikeludkast om resistensniveau. Grænseværdierne for gennemsnittet af behandlingseffekten kan desuden kombineres med grænser for det nedre konfidensinterval, hvilket vil give mulighed for at stille diagnosen 'mistænkt resistens'. Denne mulighed findes ikke i den her anvendte metode.

4.2.2 ANVENDELSE AF ERP I KLINISK PRAKSIS

Bestemmelse af ERP er et godt alternativ til FECRT, som overvågningsmetode for anthelmintikaresistens. Ved FECRT opdages resistens først, når behandlingens effekt svigter [135]. Med kendskab til ERP er det muligt, at være længere fremme i den diagnostiske proces og reagere på disse fund, hvis eventuelle tegn på begyndende resistens registreres. Ved brug af et alternativt anthelmintikum og ændrede managementstrategier, kan selektionspresset nedsættes allerede når forkortet ERP indtræffer i stedet for at vente, til resistens afsløres ved FECRT på et senere tidspunkt. Det er næppe realistisk at forestille sig overvågning af ERP som standardprocedure hos alle praktiserende dyrlæger, da den er arbejdskrævende i form af mange prøveudtagelser og -analyser, men metoden bør anvendes i overvågningen i form af større studier som det her udførte med jævne mellemrum.

Ved en spørgeskemaundersøgelse blandt danske dyrlæger i 2006 svarede kun 11% af de adspurgte hestepraksis, at de regelmæssigt anvendte FECRT til overvågning af resistens [112]. Der er ingen grund til at antage, at en procedure som ERP, der kræver endnu flere prøver, vil blive bedre accepteret eller mere anvendt af de praktiserende dyrlæger. Anbefalingen må derfor være, at standardproceduren for resistensovervågning fortsat er FECRT ca. 2 uger efter behandling. I højrisikobesætninger, for eksempel stutterier med mange føl og ungheste, hestepensioner med stor udskiftning af heste og besætninger med overbelægning, kan FECRT udvides med ERP undersøgelse ca. 6 uger efter behandlingen. FECRT 2 uger efter behandling er fortsat nødvendig for at kunne bekræfte effekt af behandlingen. Effekten 6 uger efter behandling bør være > 90%

En bestemmelse af ERP i Danmark er ikke tidligere foretaget, og sammenligning med tidligere studier af ERP i resten af verden er vanskelig, fordi der ikke findes vedtagne standarder på dette område, hverken for beregningsmetoder eller grænseværdier. Hver forsker opererer således med sin egen definition af forkortet ERP og rapporterer fund ud fra denne. Det betyder at hver undersøgelse mere eller mindre definerer sin egen ERP og benytter forskellige metoder til beregning af effekten af behandling. Således kan undersøgelserne ikke sammenlignes. Grundet de manglende standarder for måling og fortolkning af resultater, bør konklusioner ud fra forkortet ERP drages med forsigtighed.

4.3 NYE BEHANDLINGSMULIGHEDER

Der er flere gode muligheder som alternativer til en ren kemisk strategi overfor gastrointestinale parasitter, herunder græsmarksmanagement. Ingen af mulighederne er så effektive som de kemiske, og ingen af dem kan behandle livstruende ormeinfektioner, men de

forskellige strategier bør kombineres, og ormebehandling bør ikke længere opfattes som noget man udelukkende klarer med medicin [72]. Givet den viden, at resistens skal betragtes som en permanent status, bør der gøres en indsats, for at de stoffer, vi har, fortsat skal være effektive[72]. Anthelmintika bør opfattes som en værdifuld og begrænset ressource, der skal beskyttes bedst muligt [72]. Herunder bør ikke-kemiske muligheder for at kontrollere ormeinfektionen, undersøges, og om muligt benyttes i højere grad end medicinering, såfremt acceptabel effekt kan opnås, hvorved behovet for behandling kan nedsættes med mindre behandlingsfrekvens til følge.

Der er ikke markedsført nye grupper af anthelmintika til heste siden AM blev registreret i begyndelsen af 1980'erne. For tiden findes mindst én lovende ny stofgruppe. Til denne nye gruppe hører Monepantel, der har bred anthelmintisk virkning og lav toksicitet overfor pattedyr [69]. Det har effekt overfor både voksne orm og larvestadier og er foreløbig testet i gnavere, får og kvæg med lovende resultater. Monepantel er vist også at have effekt overfor orm, der er resistente eller multiresistente overfor de tre nuværende stofgrupper [69, 70]. Midlet er endnu ikke testet på heste, og der er ikke publiceret oplysninger om, hvornår det forventes markedsført.

4.4 MANAGEMENT

De statistiske analyser af resultaterne fra undersøgelsen af ERP viste, at ejerens management omkring anthelmintikabehandlingen ser ud til at have en betydning, idet der var en signifikant effekt af smittepresset i besætningen udtrykt ved det gennemsnitlige EPG i besætningen før behandling. Ligeledes fandtes en effekt efter 5-6 uger af doseringens præcision, idet heste, der var overdoseret havde en signifikant højere ægudskillelse end andre heste. Resultaterne af denne undersøgelse underbygger altså anbefalinger om at nedsætte smittepresset i besætningerne. Dette bør, af hensyn til resistensudviklingen ikke gøres ved et øget antal behandlinger, men at fjerne fæces fra foldene og skifte til en ren fold, når smittepresset bliver for stort. Foldskiftet bør af hensyn til refugiet ske før behandling, så eventuelle æg fra resistente orm blandes med følsomme larver på folden.

5. SPECIALETS KONKLUSIONER

Undersøgelsen af resistensniveauet overfor ivermectin hos hestens almindeligste nematoder viste god effekt af ivermectinbehandling. Den gennemsnitlige effekt overfor *P. equorum* var 96,9%. Ud af 79 behandlede heste inficeret med *P. equorum* var der hos 10% af hestene mindre end 90% effekt af behandlingen. Alle 117 heste med strongylideæg havde 100% effekt af behandlingen.

Der er ikke fundet forkortet ERP for strongylideæg efter ivermectinbehandling i Danmark. Undersøgelsen af ERP fastslår, at den gennemsnitlige effekt af ivermectin er 96,9% 6 uger efter behandling i de 9 undersøgte besætninger. En enkelt besætning udviste 6 uger efter ivermectinbehandling mindre end 90% effekt. Yderligere to besætninger havde 90% indeholdt i konfidensintervallet for den beregnede effekt 6 uger efter behandling.

Der er observeret en signifikant højere fækal ægudskillelse 5 og 6 uger efter behandling hos heste, der har været overdoseret med ivermectin i forhold til heste, der er doseret nøjagtigt efter vægt eller svagt underdoseret.

Observationerne af ejerens dosering af ormekur og hestens faktiske vægt viste, at i de tilfælde hvor hesteejeren har forsøgt at vurdere hestens vægt, rammes denne som oftest med ret stor præcision og en bemærkelsesværdig lille afvigelse fra hestens vægt.

Desuden er der i studieperioden, der var placeret i efteråret; september-november, observeret en ikke nærmere undersøgt stigning i FEC for heste, der ikke er blevet behandlet med anthelmintika som følge af FEC<200 EPG ved den indledende undersøgelse. Gennemsnittet af disse heste var i løbet af studieperioden over den behandlingskrævende grænse på 200 EPG.

Der er fundet en signifikant effekt på ægudskillelsen efter behandling af et højt infektionspres i besætningen i form af en høj gennemsnitlig FEC for både ubehandlede og behandlede heste.

6. PERSPEKTIVERING

Det er forfatterens håb, at specialets fund og konklusioner vil kunne anvendes i praksis. Det fundne niveau for ivermectinresistens i Danmark er lavere, og den fundne ERP ser ud til at være længere end i andre lande. Resultaterne kan derfor bruges i en mulig argumentation for indførelse af receptpligtige anthelmintika andre steder i verden. Den enkeltstående undersøgelse dette speciale udgør kan ikke alene hverken be- eller afkræfte påstanden om, at Danmarks særlige lovgivning og selektive behandlingsstrategi har forsinket udviklingen af resistens i dette land. Flere og fremtidige studier sammenholdt med de udenlandske fund må vise, om lovgivningen har haft den ønskede effekt.

Manglen på fælles accepterede grænseværdier og beregningsmetoder i litteraturen er problematisk. Et forslag er, at grænseværdierne for resistens bør være en gennemsnitlig effekt på 90% for spolorm og 95% for strongylider kombineret med et krav til den nedre grænse for konfidensintervallet på henholdsvis 85% og 90%. Grænserne for strongylideæg vil da svare til anbefalingerne fra WAAVP for får [24], der tidligere har været anvendt i litteraturen [28, 66]. Grænserne for spolorm vil med en mere konservativ grænse tage højde for en formodet større variation i ægudskillelsen hos disse[18].

Der er i dette studie anvendt en beregningsmetode, hvor den individuelle effekt i form af FECR for hver hest blev beregnet, og besætningens gennemsnitlige effekt kunne udregnes ud fra disse individuelle procentuelle effekter. Denne metode er valgt ud fra de argumenter om blandt andet ønsket om et konservativt estimat for at undgå falsk positive diagnoser, der er anført i litteraturen og diskuteret i det andet artikeludkast om ERP. Det anbefales at en identisk beregningsmodel for FECR anvendes ved fremtidige studier af både resistens og ERP, så sammenligning er mulig.

I undersøgelsen af ERP er grænseværdien på 90% effekt 6 uger efter behandling valgt ud fra en vurdering af tidligere valgte grænser i litteraturen og de fundne resultater ved de første undersøgelser af ERP[13, 15]. Denne grænse bør betragtes som et minimum for normal ERP. Flere undersøgelser med længere tidsforløb bør udføres for at vurdere, om grænsen for normal ERP bør være længere.

6.1 UDVIDEDE UNDERSØGELSER AF STUDIETS RESULTATER

For en mere præcis estimering af det nuværende niveau for ERP i Danmark burde dette studie være fortsat flere uger, således at det kunne være bestemt, hvornår effekten på besætningsgennemsnit kom under 90%. Dette vil være et oplagt mål for et fremtidigt

studie. Dette var fremgangsmåden i et af de første udførte ERP-studier fra 1993[15]. For at afgøre, om ERP er blevet forkortet i løbet af de sidste 15 år, vil sammenligning med dette studie være oplagt. Her fandtes første besætning med <90% effekt 7 uger efter ivermectinbehandling. Den sidste af de 10 undersøgte besætninger med <90% effekt fandtes efter 11 uger. Den første besætning med effekt under 90% i det netop udførte studie fandtes 6 uger efter behandling. Det kunne være interessant at se, hvordan dette udviklede sig i forhold til det tidligere studie, hvis man gentog undersøgelsen og fortsatte målingerne indtil alle besætninger var < 90%.

Den eneste tidligere udførte undersøgelse af ivermectinresistens hos spolorm i Danmark omfattede 5 heste fra samme besætning [140]. I dette studie er undersøgt 79 heste fra 42 forskellige besætninger. Ingen af disse studie design er optimale. En fremtidig undersølgelse af ivermectinresistens hos spolorm bør omfatte et antal besætninger med et større antal behandlede heste i hver besætning for en større statistisk styrke af de fundne resultater. Fund af ivermectinresistens bør bekræftes ved et kontrolleret studie hvor grupper af behandlede og ubehandlede heste aflives og ormebyrden sammenlignes. Denne type studie er ikke mulig at udføre i klinisk praksis.

Det her udførte studie er ikke af en tilstrækkelig størrelse og er ikke designet til at afgøre betydningen af præcis dosering af ivermectin. Ud fra de fund, der er gjort, vil det være relevant at undersøge dette forhold nærmere. En mulighed for at undersøge sammenhængen ville være et kontrolleret studie, hvor grupper af heste blev behandlet med forskellige doseringer af ivermectin i forhold til deres vægt og aflivet fx 6 uger senere, hvor deres totale ormebyrde ville kunne afgøres og grupperne sammenlignes. For at udelukke konfundering mellem grupperne, vil det være af betydning at vælge ensartede heste af samme alder, størrelse og med samme baggrund. Det ville ligeledes være relevant at undersøge, om tidsperioden i hvilken hesten har været udsat for fejldosering har betydning. Dette kunne belyses ved at foretage gentagne behandlinger af sådanne grupper af heste over flere år før aflivning.

At infektionspresset i besætningen har signifikant effekt på ægudskillelsen efter behandling er ligeledes fundet som et tilfældigt resultat i denne undersøgelse udelukkende på baggrund af gennemsnittet af FEC i besætningerne før behandling. Denne effekt bør undersøges nærmere i et fremtidigt studie, hvor der lægges større vægt på at undersøge managementforholdene omkring de deltagende besætninger, således at det er muligt at afgøre, hvilke tiltag, der bidrager til at nedbringe dette smittepres. En spørgeskemaundersøgelse i forbindelse med et udvidet ERP studie ville være en mulig måde at klarlægge dette forhold på. Effekten kan også undersøges ved at undersøge grupper af heste, der græsser på marker med forskelligt kendt niveau af infektive larver fx en permanent fold, der tidligere har gået heste på, og en fold der ikke har været anvendt i nogle år.

Fremtidige studier bør undersøge, hvordan den ubehandlede del af populationen reagerer ved selektiv terapi. Denne forskning er ikke tidligere foretaget, ligesom den naturlige variation i FEC om efteråret i et tempereret klima som det danske ikke kendes. Resultaterne i dette studie antyder, at de heste, der ved den indledende fæcesundersøgelse hav-

de så lave FEC, at behandling ikke blev foretaget, kort tid efter steg til et niveau, hvor flere heste blev behandlingskrævende. Spørgsmålet rejser sig, om ormene i disse heste blot er på et senere stadium i deres livscyklus og derfor ikke har nået et maksimalt ægudskillelsesniveau, eller om der er en uforklarlig biologisk effekt på den ophørte ægudskillelse fra de behandlede heste.

Den fundne værdi for ERP kan forhåbentlig danne baggrund for fremtidige studier og fungere som en referenceværdi ved ERP studier i Danmark. Det er samtidig forfatterens håb, at disse fund vedrørende dosering af ormekur sammen med fremtidige uddybende studier vil kunne bidrage til korrekt behandling af heste med anthelmintika.

.

7. REFERENCER

[1] Adams, H.R. (2001) Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 8th edn., Iowa State Press.

[2] Andreasen, L.L. og Lindbom, J. (2008) *Prevalence, Infection Intensity, Differentiation and Treatment of Strongyle Species in Nicaraguan Working Horses*. Veterinært Speciale, Københavns Universitet, Det Biovidenskabelige Fakultet, Institut for Veterinær Patobiologi, København.

[3] Anonym (1998) Lov Nr. 1043 Af 23/12-1998 Om Ændring Af Lov Om Lægemidler.

[4] Anonym (2006) Eu-Direktiv 2006/130/Ef Af 11/12/2006, Artikel 2.

[5] Anonym (2008) *Produktresume Noromectin Vet.*, [onnline] Lægemiddelstyrelsen, København S. Citeret d. 10. oktober 2008 Tilgængelig online [http://www.produktresume.dk/docushare/dsweb/Get/Document-23867/Noromectin+Vet.%2C+oral+pasta+1%2C87+ .doc].

[6] Barnes, E.H. og Dobson, R.J. (1990) Population-Dynamics of Trichostrongylus-Colubriformis in Sheep - Computer-Model to Simulate Grazing Systems and the Evolution of Anthelmintic Resistance. *International Journal for Parasitology* 20 (7), 823-831.

[7] Bauer, C., Merkt, J.C., Jankegrimm, G. og Burger, H.J. (1986) Prevalence and Control of Benzimidazole-Resistant Small Strongyles on German Thoroughbred Studs. *Veterinary Parasitology* 21 (3), 189-203.

[8] Bennett, J.L., Williams, J.F. og Dave, V. (1988) Pharmacology of Ivermectin. *Parasitology Today* 4 (8), 226-228.

[9] Bjørn, H., Sommer, C., Schougard, H., Henriksen, S.A. og Nansen, P. (1991) Resistance to Benzimidazole Anthelmintics in Small Strongyles (Cyathostominae) of Horses in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica* 32 (2), 253-260.

[10] Blackwel, N.J. (1973) Colitis in Equines Associated with Strongyle Larvae. *Veterinary Record* 93 (14), 401-402.

[11] Blouin, M.S., Yowell, C.A., Courtney, C.H. og Dame, J.B. (1995) Host Movement and the Genetic-Structure of Populations of Parasitic Nematodes. *Genetics* 141 (3), 1007-1014.

[12] Boersema, J.H., Borgsteede, F.H.M., Eysker, M. og Saedt, I. (1995) The Reappearance of Strongyle Eggs in Feces of Horses Treated with Pyrantel Embonate. *Veterinary Quarterly* 17 (1), 18-20.

[13] Boersema, J.H., Eysker, M., Maas, J. og Vanderaar, W.M. (1996) Comparison of the Reappearance of Strongyle Eggs in Foals, Yearlings, and Adult Horses after Treatment with Ivermectin or Pyrantel. *Veterinary Quarterly* 18 (1), 7-9.

[14] Boersema, J.H., Eysker, M. og Nas, J.W.M. (2002) Apparent Resistance of Parascaris Equorum to Macrocylic Lactones. *Veterinary Record* 150 (9), 279-281.

[15] Borgsteede, F.H.M., Boersma, J.H., Gaasenbeek, C.P.H. og Vanderburg, W.P.J. (1993) The Reappearance of Eggs in Feces of Horses after Treatment with Ivermectin. *Veterinary Quarterly* 15 (1), 24-26.

[16] Chapman, M.R., French, D.D. og Klei, T.R. (2003) Prevalence of Strongyle Nematodes in Naturally Infected Ponies of Different Ages and During Different Seasons of the Year in Louisiana. *Journal of Parasitology* 89 (2), 309-314.

[17] Chapman, M.R., French, D.D., Monahan, C.M. og Klei, T.R. (1996) Identification and Characterization of a Pyrantel Pamoate Resistant Cyathostome Population. *Veterinary Parasitology* 66 (3-4), 205-212.

[18] Clayton, H.M. (1978) Ascariasis in Foals. *Veterinary Record* 102 (25), 553-556.

[19] Clayton, H.M. (1986) Ascarids - Recent Advances. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice* 2 (2), 313-328.

[20] Clayton, H.M. og Duncan, J.L. (1979) Migration and Development of Parascaris-Equorum in the Horse. *International Journal for Parasitology* 9 (4), 285-292.

[21] Cohen, N.D., Gibbs, P.G. og Woods, A.M. (1999) Dietary and Other Management Factors Associated with Colic in Horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 215 (1), 53-60.

[22] Cohen, N.D., Matejka, P.L., Honnas, C.M. og Hooper, R.N. (1995) Case-Control Study of the Association between Various Management Factors and Development of Colic in Horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 206 (5), 667-673.

[23] Coles, G.C. (2005) Anthelmintic Resistance - Looking to the Future: A Uk Perspective. *Research in Veterinary Science* 78 (2), 99-108.

[24] Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A. og Waller, P.J. (1992) World-Association-for-the-Advancement-of-Veterinary-Parasitology (Waavp) Methods for the Detection of Anthelmintic Resistance in Nematodes of Veterinary Importance. *Veterinary Parasitology* 44 (1-2), 35-44.

[25] Coles, G.C., Eysker, M., Hodgkinson, J., Matthews, J.B., Kaplan, R.M., Klei, T.R. og Sangster, N.C. (2003) Anthelmintic Resistance and Use of Anthelmintics in Horses. *Veterinary Record* 153 (20), 636-636.

[26] Coles, G.C., Jackson, F., Pomroy, W.E., Prichard, R.K., Von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M.A. og Vercruysse, J. (2006) The Detection of Anthelmintic Resistance in Nematodes of Veterinary Importance. *Veterinary Parasitology* 136 (3-4), 167-185.

[27] Conway, D.P. (1964) Variance in Effectiveness of Thiabendazole against Haemonchus Contortus in Sheep. *American Journal of Veterinary Research* 25 (106), 844-&.

[28] Craven, J., Bjorn, H., Henriksen, S.A., Nansen, P., Larsen, M. og Lendal, S. (1998) Survey of Anthelmintic Resistance on Danish Horse Farms, Using 5 Different Methods of Calculating Faecal Egg Count Reduction. *Equine Veterinary Journal* 30 (4), 289-293.

[29] Crow, J.F. (1957) Genetics of Insect Resistance to Chemicals. *Annual Review of Entomology* 2, 227-246.

[30] Cully, D.F., Vassilatis, D.K., Liu, K.K., Paress, P.S., Vanderploeg, L.H.T., Schaeffer, J.M. og Arena, J.P. (1994) Cloning of an Avermectin-Sensitive Glutamate-Gated Chloride Channel from Caenorhabditis-Elegans. *Nature* 371 (6499), 707-711.

[31] Cully, D.F., Wilkinson, H., Vassilatis, D.K., Etter, A. og Arena, J.P. (1996) Molecular Biology and Electrophysiology of Glutamate-Gated Chloride Channels of Invertebrates. *Parasitology* 113, S191-S200.

[32] Dargatz, D.A., Traub-Dargatz, J.L. og Sangster, N.C. (2000) Antimicrobic and Anthelmintic Resistance. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice* 16 (3), 515-+.

[33] Dent, J.A., Davis, M.W. og Avery, L. (1997) Avr-15 Encodes a Chloride Channel Subunit That Mediates Inhibitory Glutamatergic Neurotransmission and Ivermectin Sensitivity in Caenorhabditis Elegans. *Embo Journal* 16 (19), 5867-5879.

[34] Denwood, M.J., Love, S., Reid, S.W.J. og Innocent, G.T. (2008) Investigating the Reliability of a Single Faecal Egg Count to Quantify the True Egg Shedding Rate of a Horse. In: *47th BEVA Congress, British Equine Veterinary Association*, Liverpool.

[35] Dipietro, J.A., Lock, T.F., Todd, K.S. og Reuter, V.E. (1987) Evaluation of Ivermectin Paste in the Treatment of Ponies for Parascaris-Equorum Infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 190 (9), 1181-1183.

[36] Dobson, R.J., Lejambre, L. og Gill, J.H. (1996) Management of Anthelmintic Resistance: Inheritance of Resistance and Selection with Persistent Drugs. *International Journal for Parasitology* 26, 993-1000.

[37] Dowdall, S.M.J., Proudman, C.J., Love, S., Klei, T.R. og Matthews, J.B. (2003) Purification and Analyses of the Specificity of Two Putative Diagnostic Antigens for Larval Cyathostomin Infection in Horses. *Research in Veterinary Science* 75 (3), 223-229.

[38] Drudge, J.H. og Elam, G. (1961) Preliminary Observations on the Resistance of Horse Strongyles to Phenothiazine. *Journal of Parasitology* 47 (4), 38-39.

[39] Drudge, J.H., Leland, S.E. og Wyant, Z.N. (1957) Strain Variation in the Response of Sheep Nematodes to the Action of Phenothiazine .2. Studies on Pure Infections of Haemonchus-Contortus. *American Journal of Veterinary Research* 18 (67), 317-325.

[40] Drudge, J.H. og Lyons, E.T. (1965) Newer Developments in Helminth Control and *Strongylus Vulgaris* Research. In: *11th Annual Meeting of the American Association of Equine Practitioners*, Denver, CO, USA. pp 381-389.

[41] Drudge, J.H. og Lyons, E.T. (1966) Control of Internal Parasites of Horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 148 (4), 378-&.

[42] Drudge, J.H. og Lyons, E.T. (1986) Large Strongyles - Recent Advances. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice* 2 (2), 263-280.

[43] Drudge, J.H., Wyant, Z.N., Elam, G. og Szanto, J. (1964) Field Studies on Parasite Control in Sheep - Comparison of Thiabendazole Ruelene + Phenothiazine. *American Journal of Veterinary Research* 25 (108), 1512-&.

[44] Dudeney, A., Campbell, C. og Coles, G. (2008) Macrocyclic Lactone Resistance in Cyathostomins. *Veterinary Record* 163 (5), 163-164.

[45] Duncan, J.L. (1985) Internal Parasites of the Horse and Their Control. *Equine Veterinary Journal* 17 (2), 79-82.

[46] Döpfer, D., Kerssens, C.M., Meijer, Y.G.M., Boersema, J.H. og Eysker, M. (2004) Shedding Consistency of Strongyle-Type Eggs in Dutch Boarding Horses. *Veterinary Parasitology* 124 (3-4), 249-258.

[47] Edward, C.L. og Hoffmann, A.A. (2008) Ivermectin Resistance in a Horse in Australia. *Veterinary Record* 162 (2), 56-58.

[48] Eysker, M., Bakker, J., Van Den Berg, M., Van Doom, D.C.K. og Ploeger, H.W. (2008) The Use of Age-Clustered Pooled Faecal Samples for Monitoring Worm Control in Horses. *Veterinary Parasitology* 151 (2-4), 249-255.

[49] Eysker, M., Boersema, J.H. og Kooyman, F.N.J. (1992) The Effect of Ivermectin Treatment against Inhibited Early 3rd Stage, Late 3rd Stage and 4th Stage Larvae and Adult Stages of the Cyathostomes in Shetland Ponies and Spontaneous Expulsion of These Helminths. *Veterinary Parasitology* 42 (3-4), 295-302.

[50] Fox, J.C. *Parascaris Equorum Egg*, [onnline] Oklahoma State University, College of Veterinary Medicine. Citeret d. 15. februar 2009. Tilgængelig online [http://instruction.cvhs.okstate.edu/jcfox/htdocs/disk1/images/img0039.jpg].

[51] Galvani, A.P. (2003) Immunity, Antigenic Heterogeneity, and Aggregation of Helminth Parasites. *Journal of Parasitology* 89 (2), 232-241.

[52] Geary, T.G., Sangster, N.C. og Thompson, D.P. (1999) Frontiers in Anthelmintic Pharmacology. *Veterinary Parasitology* 84 (3-4), 275-295.

[53] Gibson, T.E. (1953) The Effect of Repeated Anthelmintic Treatment with Phenothiazine on the Faecal Egg Counts of Housed Horses, Whit Some Observations on the Life Cycle of *Trichonema* Spp. In the Horse. *Journal of Helminthology* 27, 29-40.

[54] Gibson, T.E. (1960) Some Experiences with Small Daily Doses of Phenothiazine as a Means of Control of Strongylid Worms in the Horse. *Veterinary Record* 72, 37-41.

[55] Gill, J.H., Redwin, J.M., Vanwyk, J.A. og Lacey, E. (1991) Detection of Resistance to Ivermectin in Haemonchus-Contortus. *International Journal for Parasitology* 21 (7), 771-776.

[56] Grant, W.N. (1994) Genetic-Variation in Parasitic Nematodes and Its Implications. *International Journal for Parasitology* (24), 821-830.

[57] Hearn, F.P.D. og Peregrine, A.S. (2003) Identification of Foals Infected with Parascaris Equorum Apparently Resistant to Ivermectin. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223 (4), 482-485.

[58] Hennessy, D.R. (1994) The Disposition of Antiparasitic Drugs in Relation to the Development of Resistance by Parasites of Livestock. *Acta Tropica* 56 (2-3), 125-141.

[59] Herd, R.P. (1990) The Changing World of Worms - the Rise of the Cyathostomes and the Decline of Strongylus-Vulgaris. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian* 12 (5), 732-736.

[60] Herd, R.P. (1992) Performing Equine Fecal Egg Counts. *Veterinary Medicine* 87 (3), 240-244.

[61] Herd, R.P. (1995) A 10-Point Plan for Equine Worm Control. *Veterinary Medicine* 90 (5), 481-485.

[62] Herd, R.P. og Gabel, A.A. (1990) Reduced Efficacy of Anthelmintics in Young Compared with Adult Horses. *Equine Veterinary Journal* 22 (3), 164-169.

[63] Herd, R.P.C., G.C. (1995) Slowing the Spread of Anthelmintic Resistant Nematodes of Horses in the United Kingdom. *The Veterinary Record* 136, 481-485.

[64] Hodgkinson, J.E., Love, S., Lichtenfels, J.R., Palfreman, S., Ramsey, Y.H. og Matthews, J.B. (2001) Evaluation of the Specificity of Five Oligoprobes for Identification of Cyathostomin Species from Horses. *International Journal for Parasitology* 31 (2), 197-204.

[65] Haaning, N. og Nielsen, M.K. (2000) *Anvendeligheden Af Epg-Tællinger I Overvågningen Af Hestens Strongylider*. Veterinært Speciale, Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, Klinisk Institut, Intern Medicin, København.

[66] Ihler, C.F. (1995) A Field Survey on Anthelmintic Resistance in Equine Small Strongyles in Norway. *Acta Veterinaria Scandinavica* 36 (1), 135-143.

[67] Ihler, C.F. og Bjorn, H. (1996) Use of Two in Vitro Methods for the Detection of Benzimidazole Resistance in Equine Small Strongyles (Cyathostoma Spp). *Veterinary Parasitology* 65 (1-2), 117-125.

[68] Jacobs, D.E., Hutchinson, M.J., Parker, L. og Gibbons, L.M. (1995) Equine Cyathostome Infection - Suppression of Fecal Egg Output with Moxidectin. *Veterinary Record* 137 (21), 545-545.

[69] Kaminsky, R., Ducray, P., Jung, M., Clover, R., Rufener, L., Bouvier, J., Weber, S.S., Wenger, A., Wieland-Berghausen, S., Goebel, T., Gauvry, N., Pautrat, F., Skripsky, T., Froelich, O., Komoin-Oka, C., Westlund, B., Sluder, A. og Maser, P. (2008) A New Class of Anthelmintics Effective against Drug-Resistant Nematodes. *Nature* 452 (7184), 176-U119.

[70] Kaminsky, R., Gauvry, N., Weber, S.S., Skripsky, T., Bouvier, J., Wenger, A., Schroeder, F., Desaules, Y., Hotz, R., Goebel, T., Hosking, B.C., Pautrat, F., Wieland-Berghausen, S. og Ducray, P. (2008) Identification of the Amino-Acetonitrile Derivative Monepantel (Aad 1566) as a New Anthelmintic Drug Development Candidate. *Parasitology Research* 103 (4), 931-939.

[71] Kaplan, R.M. (2002) Anthelmintic Resistance in Nematodes of Horses. *Veterinary Research* 33 (5), 491-507.

[72] Kaplan, R.M. (2004) Drug Resistance in Nematodes of Veterinary Importance: A Status Report. *Trends in Parasitology* 20 (10), 477-481.

[73] Kaplan, R.M., Klei, T.R., Lyons, E.T., Lester, G., Courtney, C.H., French, D.D., Tolliver, S.C., Vidyashankar, A.N. og Zhao, Y. (2004) Prevalence of Anthelmintic Resistant Cyathostomes on Horse Farms. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 225 (6), 903-910.

[74] Kaplan, R.R., Cr; Slocombe, O; Murray, Mj (2006) Confirmation of Ivermectin Resistance in a Purportedly Resistant Canadian Isolate of Parascaris Equorum in Foals. In: *Proceding at the 51st Annual Meeting American Association of Veterinary Parasitology*. pp 51-59.

[75] Klei, T.R. og Chapman, M.R. (1999) Immunity in Equine Cyathostome Infections. *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 123-133.

[76] Leathwick, D.M., Pomroy, W.E. og Heath, A.C.G. (2001) Anthelmintic Resistance in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 49 (6), 227-235.

[77] Lejambre, L.F. (1993) Ivermectin-Resistant Haemonchus-Contortus in Australia. *Australian Veterinary Journal* 70 (9), 357-357.

[78] Lendal, S., Larsen, M.M., Bjorn, H., Craven, J., Chriel, M. og Olsen, S.N. (1998) A Questionnaire Survey on Nematode Control Practices on Horse Farms in Denmark and the Existence of Risk Factors for the Development of Anthelmintic Resistance. *Veterinary Parasitology* 78 (1), 49-63.

[79] Lichtenfels, J.R., Kharchenko, V.A. og Dvojnos, G.M. (2008) Illustrated Identification Keys to Strongylid Parasites (Strongylidae : Nematoda) of Horses, Zebras and Asses (Equidae). *Veterinary Parasitology* 156 (1-2), 4-161.

[80] Lichtenfels, J.R., Kharchenko, V.A., Krecek, R.C. og Gibbons, L.M. (1998) An Annotated Checklist by Genus and Species of 93 Species Level Names for 51 Recognized Species of Small Strongyles (Nematoda : Strongyloidea : Cyathostominea) of Horses, Asses and Zebras of the World. *Veterinary Parasitology* 79 (1), 65-79.

[81] Lind, E.O., Hoglund, J., Ljungstrom, B.L., Nilsson, O. og Uggla, A. (1999) A Field Survey on the Distribution of Strongyle Infections of Horses in Sweden and Factors Affecting Faecal Egg Counts. *Equine Veterinary Journal* 31 (1), 68-72.

[82] Lind, E.O., Rautalinko, E., Uggla, A., Waller, P.J., Morrison, D.A. og Hoglund, J. (2007) Parasite Control Practices on Swedish Horse Farms. *Acta Veterinaria Scandinavica* 49.

[83] Lindgren, K., Ljungvall, O., Nilsson, O., Ljungstrom, B.L., Lindahl, C. og Hoglund, J. (2008) Parascaris Equorum in Foals and in Their Environment on a Swedish Stud Farm, with Notes on Treatment Failure of Ivermectin. *Veterinary Parasitology* 151 (2-4), 337-343.

[84] Little, D., Flowers, J.R., Hammerberg, B.H. og Gardner, S.Y. (2003) Management of Drug-Resistant Cyathostominosis on a Breeding Farm in Central North Carolina. *Equine Veterinary Journal* 35 (3), 246-251.

[85] Lloyd, S. og Soulsby, L. (1998) Is Anthelmintic Resistance Inevitable: Back to Basics? *Equine Veterinary Journal* 30 (4), 280-283.

[86] Love, S., Mair, T.S. og Hillyer, M.H. (1992) Chronic Diarrhea in Adult Horses - a Review of 51 Referred Cases. *Veterinary Record* 130 (11), 217-219.

[87] Love, S., Murphy, D. og Mellor, D. (1999) Pathogenicity of Cyathostome Infection. *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 113-121.

[88] Lumsden, G.G., Quantaylor, R., Smith, S.M. og Washbrooke, I.M. (1989) Field Efficacy of Ivermectin, Fenbendazole and Pyrantel Embonate Paste Anthelmintics in Horses. *Veterinary Record* 125 (20), 497-499.

[89] Lumsden, G.G.Q.-T., R.; Smith, S.M.; Washbrooke, I.M. (1989) Field Efficacy of Ivermectin, Fenbendazole and Pyrantel Embonate Paste Anthelmintics in Horses. *The Veterinary Record* 125, 497-499.

[90] Lyons, E.T., Drudge, J.H. og Tolliver, S.C. (1980) Anti-Parasitic Activity of Ivermectin in Critical Tests in Equids. *American Journal of Veterinary Research* 41 (12), 2069-2072.

[91] Lyons, E.T., Drudge, J.H. og Tolliver, S.C. (2000) Larval Cyathostomiasis. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice* 16 (3), 501-+.

[92] Lyons, E.T., Tolliver, S.C. og Collins, S.S. (2006) Field Studies on Endoparasites of Thoroughbred Foals on Seven Farms in Central Kentucky in 2004. *Parasitology Research* 98 (5), 496-500.

[93] Lyons, E.T., Tolliver, S.C. og Drudge, J.H. (1999) Historical Perspective of Cyathostomes: Prevalence, Treatment and Control Programs. *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 97-111.

[94] Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M. og Collins, S.S. (2008) Evaluation of Parasiticidal Activity of Fenbendazole, Ivermectin, Oxibendazole, and Pyrantel Pamoate in Horse Foals

with Emphasis on Ascarids (Parascaris Equorum) in Field Studies on Five Farms in Central Kentucky in 2007. *Parasitology Research* 103 (2), 287-291.

[95] Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Ionita, M., Lewellen, A. og Collins, S.S. (2008) Field Studies Indicating Reduced Activity of Ivermectin on Small Strongyles in Horses on a Farm in Central Kentucky. *Parasitology Research* 103 (1), 209-215.

[96] Lyons, E.T.T., S.C.; Collins, S.S. (2009) Probable Reason Why Small Strongyle Epg Counts Are Returning "Early" After Ivermectin Treatment of Horses on a Farm in Central Kentucky. *In press*.

[97] Mair, T.S. (1994) Outbreak of Larval Cyathostomiasis among a Group of Yearling and 2-Year-Old Horses. *Veterinary Record* 135 (25), 598-600.

[98] Martin-Downum, K., Yazwinski, T., Tucker, C., Fincher, M., Ralph, J. og Hamilton, J. (2001) Cyathostome Fecal Egg Count Trends in Horses Treated with Moxidectin, Ivermectin or Fenbendazole. *Veterinary Parasitology* 101 (1), 75-79.

[99] Martin, P.J., Anderson, N. og Jarrett, R.G. (1989) Detecting Benzimidazole Resistance with Fecal Egg Count Reduction Tests and Invitro Assays. *Australian Veterinary Journal* 66 (8), 236-240.

[100] Martin, P.J., Lejambre, L.F. og Claxton, J.H. (1981) The Impact of Refugia on the Development of Thiabendazole Resistance in Haemonchus-Contortus. *International Journal for Parasitology* 11 (1), 35-41.

[101] Mckenna, P.B. (1981) The Diagnostic-Value and Interpretation of Fecal Egg Counts in Sheep. *New Zealand Veterinary Journal* 29 (8), 129-132.

[102] Mercier, P., Chick, B., Alves-Branco, F. og White, C.R. (2001) Comparative Efficacy, Persistent Effect, and Treatment Intervals of Anthelmintic Pastes in Naturally Infected Horses. *Veterinary Parasitology* 99 (1), 29-39.

[103] Mfitilodze, M.W. og Hutchinson, G.W. (1988) Development of Free-Living Stages of Equine Strongyles in Feces on Pasture in a Tropical Environment. *Veterinary Parasitology* 26 (3-4), 285-296.

[104] Michel, J.F. (1985) Strategies for the Use of Anthelmintics in Livestock and Their Implications for the Development of Drug-Resistance. *Parasitology* 90 (APR), 621-628.

[105] Molento, M.B., Antunes, J., Bentes, R.N. og Coles, G.C. (2008) Anthelmintic Resistant Nematodes in Brazilian Horses. *Veterinary Record* 162 (12), 384-385.

[106] Monopoli, A.V., A.N.; Kaplan, R.M (2008) Evaluation of a Larval Migration Inhibition Assay in Equine Cyathistuin Nematodes. In: *Equine Parasite Drug Resistance Workshop*, København. p 22.

[107] Monrad, J., Jarløv, N., Olsen, S.N., Bjørn, H. og Craven, J. (2000) Strongylideinfektion Hos Hest Epidemiologi Og Patogenese Samt Nye Kliniske Og Terapeutiske Aspekter. *Dansk Veterinærtidsskrift* 18 (2000).

[108] Monrad, J.N., P. (1994) *Helmintiologi for Veterinærstuderende*, 2. udgave edn., Samfundslitteratur, KVL bogladen, København.

[109] Murphy, D. og Love, S. (1997) The Pathogenic Effects of Experimental Cyathostome Infections in Ponies. *Veterinary Parasitology* 70 (1-3), 99-110.

[110] Nielsen, M.K., Haaning, N. og Olsen, S.N. (2006) Strongyle Egg Shedding Consistency in Horses on Farms Using Selective Therapy in Denmark. *Veterinary Parasitology* 135 (3-4), 333-335.

[111] Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., Thamsborg, S.M., Monrad, J. og Olsen, S.N. (2007) Climatic Influences on Development and Survival of Free-Living Stages of Equine Strongyles: Implications for Worm Control Strategies and Managing Anthelmintic Resistance. *Veterinary Journal* 174 (1), 23-32.

[112] Nielsen, M.K., Monrad, J. og Olsen, S.N. (2006) Prescription-Only Anthelmintics - a Questionnaire Survey of Strategies for Surveillance and Control of Equine Strongyles in Denmark. *Veterinary Parasitology* 135 (1), 47-55.

[113] Nielsen, M.K. og Petersen, S.L. (2008) Prevalence of Pyrantel Resistant Strongyles and *S. Vulgaris* on Danish Horse Farms Using Selective Therapy. In: *Equine Parasite Drug Re-*

sistance Workshop, Ed: R.M.N. Kaplan, M. K., Samfundslitteratur Grafik, University of Copenhagen. p 23.

[114] Nielsen, M.K., Peterson, D.S., Monrad, J., Tharnsborg, S.M., Olsen, S.N. og Kaplan, R.M. (2008) Detection and Semi-Quantification of Strongylus Vulgaris DNA in Equine Faeces by Real-Time Quantitative Pcr. *International Journal for Parasitology* 38 (3-4), 443-453.

[115] Ogbourne, C.P. (1971) Variations in Fecundity of Strongylid Worms of Horse. *Parasitology* 63 (OCT), 289-&.

[116] Ogbourne, C.P. (1975) Epidemiological-Studies on Horses Infected with Nematodes of Family Trichonematidae (Witenberg, 1925). *International Journal for Parasitology* 5 (6), 667-672.

[117] Ogbourne, C.P. (1976) Prevalence, Relative Abundance and Site Distribution of Nematodes of Subfamily Cyathostominae in Horses Killed in Britain. *Journal of Helminthology* 50 (3), 203-214.

[118] Petersen, S.L. (2008) *Ormestrategi*, [onnline] Equi Lab, Slangerup. Citeret d. 20. august 2008. Tilgængelig online [http://equilab.dk/ormestrategi.html].

[119] Pook, J.F., Power, M.L., Sangster, N.C., Hodgson, J.L. og Hodgson, D.R. (2002) Evaluation of Tests for Anthelmintic Resistance in Cyathostomes. *Veterinary Parasitology* 106 (4), 331-343.

[120] Poynter, D. og Hughes, D.L. (1958) Phenothiazine and Piperazine, an Efficient Anthelmintic Mixture for Horses. *Veterinary Record* 70, 1183-1188.

[121] Prichard, R. (1994) Anthelmintic Resistance. *Veterinary Parasitology* 54 (1-3), 259-268.

[122] Prichard, R.K. (1990) Anthelmintic Resistance in Nematodes - Extent, Recent Understanding and Future-Directions for Control and Research. *International Journal for Parasitology* 20 (4), 515-523.

[123] Prichard, R.K., Hall, C.A., Kelly, J.D., Martin, I.C.A. og Donald, A.D. (1980) The Problem of Anthelmintic Resistance in Nematodes. *Australian Veterinary Journal* 56 (5), 239-251.

[124] Prior, M. (1999) *Parasitologisk Undersøgelse Af Føl Og Ungheste, Samt Embryoneringsforsøg Med Æg Af Parascaris Equorum*. Veterinært Speciale, Den Kongelige Veterinær og Landbohøjskole, Frederiksberg.

[125] Reinemeyer, C.R. (1986) Small Strongyles - Recent Advances. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice* 2 (2), 281-312.

[126] Reinemeyer, C.R., Smith, S.A., Gabel, A.A. og Herd, R.P. (1984) The Prevalence and Intensity of Internal Parasites of Horses in the USA. *Veterinary Parasitology* 15 (1), 75-83.

[127] Repeta, D.L., Birnbaum, N. og Courtney, C.H. (1993) Anthelmintic Resistance on Pleasure Horse Farms in North Central Florida. *Equine Practice* 15 (4), 8-12.

[128] Reuber, K., Beelitz, P. og Gothe, R. (2000) Anthelmintic Resistance of Small Strongyles of Horses in Upper Bavaria. *Tierarztliche Umschau* 55 (4), 216-222.

[129] Roepstorff, A. og Nansen, P. (1998) *Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Swine*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. p 161.

[130] Round, M.C. (1969) The Prepatent Period of Some Horse Nematodes Determined by Experimental Ifection. *Journal of Helminthology* 43, 185-192.

[131] Russell, A.F. (1948) The Development of Helminthiasis in Thoroughbred Foals. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 58 (2), 107-127.

[132] Sangster, N. (1996) Pharmacology of Anthelmintic Resistance. *Parasitology* 113, S201-S216.

[133] Sangster, N. (2003) A Practical Approach to Anthelmintic Resistance. *Equine Veterinary Journal* 35 (3), 218-219.

[134] Sangster, N.C. (1999) Anthelmintic Resistance: Past, Present and Future. *International Journal for Parasitology* 29 (1), 115-124.

[135] Sangster, N.C. (1999) Pharmacology of Anthelmintic Resistance in Cyathostomes: Will It Occur with the Avermectin/Milbemycins? *Veterinary Parasitology* 85 (2-3), 189-201.

[136] Sangster, N.C. og Gill, J. (1999) Pharmacology of Anthelmintic Resistance. *Parasitology Today* 15 (4), 141-146.

[137] Sangster, N.C., Whitlock, H.V., Russ, I.G., Gunawan, M., Griffin, D.L. og Kelly, J.D. (1979) Trichostrongylus-Colubriformis and Ostertagia-Circumcincta Resistant to Levamisole, Morantel Tartrate and Thiabendazole - Occurrence of Field Strains. *Research in Veterinary Science* 27 (1), 106-110.

[138] Schad, G.A. og Anderson, R.M. (1985) Predisposition to Hookworm Infection in Humans. *Science* 228 (4707), 1537-1540.

[139] Schatzmann, U., Pfister, K. og Schmitt, K. (1986) Erhfarungen Mit Ivermectin in Enem Grösseren Pferdebestand. *Der praktische Tierarzt* 8, 649-652.

[140] Schougaard, H. og Nielsen, M.K. (2007) Apparent Ivermectin Resistance If Parascaris Equorum in Foals in Denmark. *Veterinary Record* 160 (13), 439-440.

[141] Slocombe, J.O.D., De Gannes, R.V.G. og Lake, M.C. (2007) Macrocyclic Lactone-Resistant Parascaris Equorum on Stud Farms in Canada and Effectiveness of Fenbendazole and Pyrantel Pamoate. *Veterinary Parasitology* 145 (3-4), 371-376.

[142] Stoneham, S. og Coles, G. (2006) Ivermectin Resistance in Parascaris Equorum. *Veterinary Record* 158 (16), 572-572.

[143] Tarigo-Martinie, J.L., Wyatt, A.R. og Kaplan, R.M. (2001) Prevalence and Clinical Implications of Anthelmintic Resistance in Cyathostomes of Horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218 (12), 1957-1960.

[144] Taylor, M.A. og Hunt, K.R. (1989) Anthelmintic Drug-Resistance in the Uk. *Veterinary Record* 125 (7), 143-147.

[145] Taylor, M.A., Hunt, K.R. og Goodyear, K.L. (2002) Anthelmintic Resistance Detection Methods. *Veterinary Parasitology* 103 (3), 183-194.

[146] Torgerson, P.R., Schnyder, M. og Hertzberg, H. (2005) Detection of Anthelmintic Resistance: A Comparison of Mathematical Techniques. *Veterinary Parasitology* 128 (3-4), 291-298.

[147] Traversa, D., Klei, T.R., Iorio, R., Paoletti, B., Lia, R.P., Otranto, D., Sparagano, O.A.E. og Giangaspero, A. (2007) Occurrence of Anthelmintic Resistant Equine Cyathostome Populations in Central and Southern Italy. *Preventive Veterinary Medicine* 82 (3-4), 314-320.

[148] Uhlinger, C. (1990) Effects of 3 Anthelmintic Schedules on the Incidence of Colic in Horses. *Equine Veterinary Journal* 22 (4), 251-254.

[149] Uhlinger, C.A. (1991) Equine Small Strongyles - Epidemiology, Pathology, and Control. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian* 13 (5), 863-869.

[150] Uhlinger, C.A. (1993) Uses of Fecal Egg Count Data in Equine Practice. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian* 15 (5), 742-749.

[151] Van Wyk, J.A. (2001) Refugia - Overlooked as Perhaps the Most Potent Factor Concerning the Development of Anthelmintic Resistance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 68 (1), 55-67.

[152] Von Samson-Himmelstjerna, G., Fritzen, B., Demeler, J., Schuermann, S., Rohn, K., Schnieder, T. og Epe, C. (2007) Cases of Reduced Cyathostomin Egg-Reappearance Period and Failure of Parascaris Equorum Egg Count Reduction Following Ivermectin Treatment as Well as Survey on Pyrantel Efficacy on German Horse Farms. *Veterinary Parasitology* 144 (1-2), 74-80.

[153] Waller, P.J. (1999) International Approaches to the Concept of Integrated Control of Nematode Parasites of Livestock. *International Journal for Parasitology* 29, 155-164.

APPENDIKSLISTE

Appendiks 1 III

Ormestrategi anbefalet af Equi Lab. Tilgængelig online på [http://equilab.dk/ormestrategi.htm]

Appendiks 2 XI

Definitioner på relevante resistensbegreber.

Appendiks 3 XV

Brev til deltagende besætninger i ERP-undersøgelsen med information om projektet.

Appendiks 4 XXIII

Uddybende oplysninger om de deltagende besætninger, management og indsamling af prøver til ERP-undersøgelsen.

Appendiks 5 XXXI

Data til artikeludkast 1 om ivermectinresistens

Appendiks 6 XXXV

Data til artikeludkast 2 om ERP

Appendiks 7 XLI

Data til artikeludkast 2 vedrørende kontrolheste

Appendiks 8 XLV

Udskrift fra SAS med analyseresultater fra ERP-undersøgelsen

APPENDIKS 1

Ormestrategi

Der findes forskellige strategier til at bekæmpe ormeinfektioner hos vores heste. Den strategi vi anbefaler bygger på 4 principper. Målet for den ormestrategi er, at kontrollere ormebelastningen, så ingen heste får skader eller bliver syge, samt at undgå resistens over for ormemidlerne.

De 4 principper er

1. Smitteforebyggende foranstaltninger:

- Græs nok, lav belægningsgrad på folden
- Foldmanagement
- Fjerne gødning fra folden

2. Overvågning:

- Gødningsundersøgelse af alle heste i flokken i april/maj og august/november

3. Behandling:

- Kun heste, der har brug for det bliver behandlet
- Alle heste, der har store blodorm skal behandles
- Alle heste med bændelorm behandles
- Bremselarver skal ikke behandles

4. Undgå resistens

Dette er de overordnede principper i strategien, men da der er forskel på heste og hestebesætninger, skal strategien tilpasses den enkelte hest og besætning.

Tidspunkt for undersøgelse

Forår: april/maj - før udbinding.
Efterår: august/ november – ved afslutning af græsningssæsonen.

Fra december-marts er gødningsprøverne for upålidelige.

Bændelorm en gang om året er tilstrækkeligt, hvis der er under 25-30 procent af hestene i flokken, der har bændelorm. Hvis der er over 50 procent, der har bændelorm bør man få lavet 2 undersøgelser om året.
Hvis hesten har 20 bændelorm eller derover er der 90 % sandsynlighed for at vi finder dem. Hvis hesten har 120 eller flere bændelorm (det er så mange der skal til for at hesten bliver syg) finder vi dem med 99 % sandsynlighed. En gødnings-prøve er derfor meget pålidelig. Infektionen med bændelorm foregår langsommere end infektionen med "almindelige orm" For at hesten skal "nå" at opbygge en infektion med bændelorm tager det som en tommelfingerregel 12-15 måneder. En gødningsprøve om året er derfor i de fleste besætninger tilstrækkeligt. Dog er det sådan. at i besætninger, der har over 50 % heste med bændelorm er infektionstrykket i besætningen stort. Risikoen for den enkelte hest er derfor større og sygdomsfremkaldende infektioner opbygges hurtigere end de 12-15 måneder.

Udtagning af prøven

- Gødningsprøven skal være helt frisk afsat gødning fra boks eller fold (toppen af bunken) uden strøelse
- Der skal udtages mindst 40g gødning pr. hest.
- Gødningsprøven skal opbevares i plastikpose
- Posen skal trykket tom for luft
- Posen skal opbevares køligt
- Prøven skal undersøges så hurtigt som muligt, (inden for 24 timer – den kan holde sig i 36-48 timer)

- Posen skal mærkes med; Navn – Alder (på hest) – Køn – Ejer
- Send prøven

Hvad gør vi?
Vi analyser prøverne samme dag eller senest 2 dagen efter, hvis det er weekend! Hverdagen efter sender vi resultaterne. Hvis der er sand i prøven medsender vi et forslag til behandling/ forebyggelse af sandkolik. Du kan vælge mellem at få sendt ormekurene direkte fra apoteket eller få sendt en recept. Det er hurtigst at få sendt ormekurene direkte fra apoteket. Det er nemlig de færreste apoteker, der har ormekure til hest liggende. Derfor går der oftest 2-3 dage får man får medicinen. Yderligere er der kun en beskeden besparelse ved selv at hente medicinen. Ca. 14 dage efter undersøger vi alle heste, der ikke er blevet behandlet, for store blodorm (det kan ikke gøres hurtigere). Vi sender/ eller ringer om resultatet dagen efter, og får sendt ormekur eller recept til de heste, der skal behandles. Sammen med resultatet af undersøgelsen for blodorm medsender vi evt. forslag til ændringer af management og evt. fremtidig behandlingsplan. Vi undersøger samtidig for sand i gødningen.

Resistensundersøgelse
Hvilke heste skal have lavet en resistensundersøgelse? Vi anbefaler at alle heste, der har 750 æg pr gram gødning eller derover, samt heste med spolorm, får lavet en resistensundersøgelse.

Den store blodorm er den mest sygdomsfremkaldende orm. Den findes i ca. hver 4 besætning. I princippet kan en hest med EPG* på 50 (og derfor ikke bliver behandlet) have blodorm, og man har dermed en hest, der dels udskiller blodorm og dels har stærkt forøget risiko for at blive alvorligt syg. Derfor undersøger vi alle gødningsprøver for blodorm.

*Æg pr gram gødning.

Spolorm udgør en betydelig fare for føl og plager. Hvis der bliver konstateret spolorm, anbefaler vi at der udtages gødningsprøver oftere end to gange om året.

Hvilke hestes skal behandles:
Hestene skal behandles, når de har brug for det. Strategien for behandlingen går ud på at holde antallet af orm så lavt, at hestens eget immunforsvar kan holde hesten fri for sygdom, og samtidig undgå resistens overfor ormemidlerne.

Derfor bør man kun behandle ud fra følgende retningslinier:

- Heste med 200 æg pr. gram gødning, eller derover, behandles
- Massivt inficerede heste (> 2000 æg pr. gram) behandles og bør kontrolleres med ny prøve ca. 10-14 dage efter behandling
- Føl behandles efter samme retningslinier. Det er dog vigtigt at følge føllene med gødningsprøver oftere, hver 4-6 måned, til de er 2-3 år
- Drægtige hopper med over 200 i EPG, skal behandles ca. 14 dage før foling
- Alle heste, der har store blodorm skal behandles
- Alle heste med spolorm skal behandles, og bør kontrolleres med ny prøve ca. 10-14 dage efter behandling
- Alle heste med bændelorm skal behandles

Det er mest fornuftigt at udtage gødningsprøver af alle heste i besætningen, og kun behandle dem, der udskiller mange æg i deres gødning. Har hesten mange orm og typen er bestemt, behandler vi med det mest velegnede præparat. Det er normalt ca. 50 % af hestene, der skal behandles.

14 dage efter behandlingen laver vi en resistens undersøgelse af en del af besætningen.

Ved behandling får man kun bugt med ca. 10 % af ormebyrden, resten – i form af æg og larver - er i hestens miljø – og i de heste, der ikke bliver behandlet. De smitte forebyggende foranstaltninger er derfor de vigtigste. Det er specielt vigtigt at opsamle gødning.

Hvis det viser sig, at der er heste i besætningen, der har store blodorm, eller der er mere end 50 % af hestene, der skal behandles (jf. retningslinjerne ovenfor) anbefaler vi, at der lægges en plan for sæsonen - eller næste sæsons afgræsning.

Planen skal indeholde:

- Et kort over afgræsningsfoldene
- Datoer for foldskifte
- Et kort over de nye afgræsningsfolde
- Hvilke heste, der skal skifte og hvornår
- Datoer for opsamling af gødning på foldene

Forebyggelse af orm:
Smitten kan nedsættes på forskellige måder, man kan:

- Nedsæt antallet af heste på folden
- Fjern gødning på foldene - en gang pr uge (det vigtigste)
- Foldskifte omkring midsommer (en fold er ikke ren før efter 1½ år uden heste)
- Samgræsning med andre dyrearter
- Omlægning af folde hvert 2.-3. år
- Fodring på folden når det bliver småt med græs

Hestens beskyttelse mod orm:

Orm holdes som mange andre sygdomme nede af hestens immunsystem. De kan derfor blusse op i forbindelse med situationer, som nedsætter hestes immunforsvar. Stress nedsætter immun-forsvaret, eksempelvis kan flytning, foling, sygdomme og hård belastning ved stævner virke stressende. Der ses oftest et øgede antal æg i gødningen i disse situationer.

Praktisk ormestrategi

Det kan være svært at få overblik over, hvad der er fornuftigt eller forkert i forhold til forebyggelse og behandling af orm i hesteholdet. EquiLab har derfor udviklet en metode, så hesteejeren kan få et overblik over sin egen besætning. Ved at bruge metoden kan hesteejeren træffe beslutninger og eventuelle foretage ændringer på baggrund af faglige fornuftige metoder, der er tilpasset de faktiske forhold. Metoden bygger på den ormestrategi som EquiLab anbefaler, og på de fund vi gør i forbindelse med analyse af gødningsprøverne.

Der er 3 overordnede faktorer, der har indflydelse på hvor mange orm, der er i hesteholdet: Belægningsgrad, aldersfordeling i flokken og den samlede ormebyrde.
Disse 3 faktorer sammenholdt med om der er blodorm i besætningen kan bruges til at give retningslinier for, hvilke tiltag man bør iværksætte for at fastholde eller nedbringe ormebyrden.
Belægningsgraden måles ved at dividere antallet af heste med antal hektarer. Det ideelle antal er 2-3 heste pr hektar.
Aldersfordelingen måles i procent. De aldersgrupper, der er interessante er dem under 3 år og dem over 20 år. Det er de aldersgrupper, hvor man kan forvente de største ormebyrder.
Den samlede ormebyrde måles på, hvor stor en procentdel af flokken, der skal behandles. Heste med 200 æg pr gram gødning (EPG) eller der over skal behandles. Ideelt er det under 50 procent, der skal behandles.

Man kan få overblik over sit hestehold ved at udfylde skemaet nedenfor. Opgørelser om belægningsgrad og aldersfordeling flokken laver man selv, og oplysningerne om den samlede ormebyrde og blodorm får man med resultatet fra de analyserede gødningsprøver.
Skemaet bruges ved, at man ud for de enkelte faktorer finder procentsats eller antal, der passer med oplysningerne fra besætningen. Nedenfor den valgte rubrik findes en pointværdi, og den samlede sum af point danner grundlag for den handlingsplan man bør bruge.

Et eksempel kunne være:

1. Besætning med 20 heste. 9 af hestene, altså under 50 %, havde en EPG på 200 eller derover. Dette ses markeret med rødt i skemaet.
2. Besætningen her har 6 hektarer udlagt til folde, dvs. 3-4 heste pr hektar. Dette ses markeret med blåt i skemaet.
3. Der er ikke fundet store blodorm ved gødningsanalysen, dette ses markeret med gult i skemaet.
4. I besætningen er der 3 føl og en hoppe på 21 år. Dvs. 20 % af hestene er enten under 3 eller over 20 år gamle. Dette ses markeret med grønt i skemaet.
5. Antal point noteres i kolonnen yderst til højre, og den samlede score noteres. nederst, som ses markeret med lilla i skemaet

Ex:

Antal heste med EPG ≥ 200	< 25 %		< 50 %	> 50 %		> 75 %	
Point	0		3	5		7	3
Belægningsgrad/ areal	2-3 heste pr ha		3-4 heste pr ha	4-5 heste pr ha		> 5 heste pr ha	
Point	0		2	4		6	2
Blodorm	NEJ					JA	
Point	0					13	0
Antal heste < 3 år > 20 år	10 %	20 %	30 %	40 %	50 %	> 50 %	
Point	0	1	2	3	4	5	1
						Antal point ialt	6

Den samlede pointværdi placerer hesteholdet i en af 4 grupper. For hver gruppe er der en række anbefalinger som man bør følge, hvis man ønsker at fastholde eller nedbringe ormebyrden. Hesteflokken i vores eksempel havner i gruppe 2. De enkelte anbefalinger og deres effekt er uddybet yderligere på side 3.

Udfyld selv skemaet med de data, der gælder for din besætning:

Antal heste med EPG ≥ 200	< 25 %		< 50 %	> 50 %		> 75 %	
Point	0		3	5		7	
Belægningsgrad / areal	2-3 heste pr ha		3-4 heste pr ha	4-5 heste pr ha		> 5 heste pr ha	
Point	0		2	4		6	
Blodorm	NEJ					JA	
Point	0					13	
Antal heste < 3 år > 20 år	10 %	20 %	30 %	40 %	50 %	> 50 %	
Point	0	1	2	3	4	5	
						Antal point ialt	

GRUPPE 1: 0 - 2
GRUPPE 2: 3 - 7
GRUPPE 3: 8 - 12
GRUPPE 4: ≥ 13

GRUPPE 1:
• Fasthold nuværende management
• Gødningsprøve en gang om året (forår) og behandling af heste med EPG ≥ 300
• Gødningsprøve fra alle nye heste og behandling hvis EPG er 200 eller over.

GRUPPE 2:
• Gødningsprøver forår og efterår, behandling af heste med EPG ≥ 200
• Gødningsprøve fra alle nye heste og behandling hvis EPG er 200 eller over
• Foldskifte ved midsommer
• Foldrensning når græssæsonen slutter
• Pudsning af foldene når græssæsonen slutter.

GRUPPE 3:
• Gødningsprøver forår og efterår, behandling af heste med EPG ≥ 200
• Gødningsprøve fra alle nye heste og behandling, hvis EPG er 200 eller over
• Foldskifte ved midsommer
• Gødningsprøve ved midsommer, behandling af heste med EPG ≥ 200
• Foldrensning 2-4 gange i løbet af sæsonen
• Pudsning af foldene når sæsonen slutter
• Overvej at nedsætte belægningsgraden
• Overvej om der er folde, som skal genomlægges.

GRUPPE 4:
• Gødningsprøver forår og efterår, behandling af heste med EPG ≥ 200
• Gødningsprøve fra alle nye heste og behandling hvis EPG 200 eller over Foldskifte ved midsommer
• Gødningsprøve ved midsommer, behandling af heste med EPG ≥ 200
(med mindre den høje pointværdi skyldes blodorm)
• Foldrensning mindst hver 14. dag hele sæsonen
• Pudsning af foldene når sæsonen slutter
• Overvej at nedsætte belægningsgraden
• Overvej om der er folde, som skal genomlægges.

Gødningsprøver forår og efterår
"Alle heste har orm" Dette er til dels rigtigt, men det som er vigtigt at vide er, hvilket niveau de har orm på. I de fleste hestehold, hvor der er en fornuftig belægningsgrad og jævn aldersfordeling er det som regel 50 procent at hestene, som har behandlingskrævende ormebyrder. Yderligere er det sådan, at ca. 20 procent af hestene har 80 procent af ormene. Det er netop disse heste, der skal findes og behandles. Ved at foretage gødningsprøver kan man dels finde de heste, der er behandlingskrævende og man kan dels identificere præcist hvilke slags orm de enkelte heste har. Ud fra det kan man beslutte hvilket ormemiddel, der er bedst.

Foldrensning
Ved foldrensning og opsamling af gødning brydes ormenes livscyklus og dette er faktisk mere effektivt end at behandle med ormemidler. Rensning af folde er specielt nødvendigt hvis man har begrænset foldareal til rådighed. Foldrensning kan tilrettelægges på forskellig vis og det er vigtigt, at man finder en metode der passer ind i besætningens rutiner. Man kan selv lave et foldrensningsskema, der angiver hvor meget gødning der fjernes, hvor ofte og af hvem. I besætninger med flere ejere kan man lade foldrensningen gå på skift, så hver fjerner et aftalt antal kilo eller antal trillebør fulde hver dag/uge. Det er vigtigt at indgå faste aftaler om foldrensningen, hvis den skal være effektiv.

Pudsning
Pudsning af marker når hestene kommer på stald i efteråret, er en rigtig god ide. Ved denne metode kan mængden af orm nedbringes betydeligt i besætningen.

Pudsning og slåning af folden midt i sæsonen er en dårlig ide, man spreder smitten og hestens mulighed for at græsse uden om gødningen er ringe.

Nedsæt belægningsgraden

Hvis ormebyrden bliver så stor, at der er en eller flere heste der bliver syge af ormene, kan det være nødvendigt at nedsætte antallet af heste, eller udvide arealerne, for at nedbringe antallet af orm.

Genomlægning af græsmarken

Genomlægning, pløjning, harvning og såning af nyt græs er en god ide både for at nedsætte smittepresset, men også for at sikre en rigt udbud af græsser og urter rent næringsmæssigt.

Myter og dårlig strategi

Der er stadigvæk en række myter omkring orm og der bliver stadigvæk brugt dårlige og ind i mellem forkerte strategier. En dårlig strategi øger risikoen for resistens, ødelægger og nedsætter hestens egen modstandskraft og rent økonomisk er det dyre i det lange løb.

Man kan og bør ikke:

- Basere sin strategi på stikprøver
- Bruge rotationsgræsning mellem urene folde
- Have overbelægning og derved dødbidt græs
- Lade gødningen blive liggende på folden, eller være - spreder den ud
- Give ormekur til alle heste ved foldskifte
- Behandle mod bremselarver med ormekur
- Ormebehandle om vinteren, hvor effekten er lille, eller endnu være sygdomsfremkaldende.

APPENDIKS 2

Appendiks 2

Definitioner på relevante resistensbegreber

Resistens optræder, når parasitter i en population udvikler evnen til at overleve behandlinger, som generelt er effektivt mod de samme arter og stadie af infektionen [5, 6].

Sideresistens er det fænomen, at parasitter, der er resistente overfor et stof, også vil udvise resistens overfor andre stoffer i samme gruppe og med samme virkningsmekanisme[3]. Denne mekanisme er set for alle tre bredspektrede klasser af anthelmintika [4].

Krydsresitens er, når resistens mod et middel er resultatet af selektion med et middel med en anderledes virkningsmåde eller fra en ikke relateret kemiske gruppe. [3, 4] Krydsresistens er set mellem imidothiazoler og organophosphater, der begge virker ved at påvirke acetylcholin receptorerne [4, 6].

Multiresistens er når et individ er resistenst mod to eller flere forskellige stofgrupper, enten som følge af resistens mod de to stoffer individuelt eller som resultat af krydsresistens [3].

Reversion er fald i frekvensen af resistente individer i en population som følge af ophør af behandling med stoffet. [3] Reversion er en teoretisk mulighed, men ses kun sjældent og kortvarrigt i praksis [2, 3].

Klinisk resistens er som beskrevet manglende evne for den anbefalede dosering til at fjerne parasitterne. Manglende effekt af behandling (treatment failure) kan skyldes klinisk resistens, men det kan også skyldes fejl dosering, forkert stof eller antagelse af, at symptomerne skyldes orm, selv om årsagen var en anden, tilstedeværelse af encysterede larver, hurtig reinfektion [1, 3]

[1] Dargatz, D.A., Traub-Dargatz, J.L. og Sangster, N.C. (2000) Antimicrobic and Anthelmintic Resistance. *Veterinary Clinics of North America-Equine Practice* 16, 515-+.

[2] Kaplan, R.M. (2004) Drug Resistance in Nematodes of Veterinary Importance: A Status Report. *Trends in Parasitology* 20, 477-481.

[3] Prichard, R.K., Hall, C.A., Kelly, J.D., Martin, I.C.A. og Donald, A.D. (1980) The Problem of Anthelmintic Resistance in Nematodes. *Australian Veterinary Journal* 56, 239-251.

[4] Sangster, N.C. (1999) Anthelmintic Resistance: Past, Present and Future. *International Journal for Parasitology* 29, 115-124.

[5] Sangster, N.C. (1999) Pharmacology of Anthelmintic Resistance in Cyathostomes: Will It Occur with the Avermectin/Milbemycins? *Veterinary Parasitology* 85, 189-201.

[6] Sangster, N.C. og Gill, J. (1999) Pharmacology of Anthelmintic Resistance. *Parasitology Today* 15, 141-146.

APPENDIKS 3

Du og din hest kan hjælpe dyrlægerne med at blive klogere på effekten af ormekur.

I forbindelse med mit sidste semester på dyrlægestudiet skriver jeg speciale om ivermectinresistens i Danmark. Ivermectin er det aktive stof i flere af de almindelige ormekure på det danske marked fx Noromectin, Equimax og Equalan Duo. Ivermectin er det bedste middel pt. mod Strongylider, som er de almindeligste orm hos danske heste.

Mit projekt skal undersøge effekten af dette middel mod forskellige typer af orm. Der er i flere lande fundet tegn på, at ormene bliver mere modstandsdygtige, og effekten af ormekuren bliver dårligere og varer i kortere tid.
Vi håber, at den danske politik på området; regelmæssig test af alle heste og behandling efter behov, virker, så der stadig er fuld effekt af ivermectin i Danmark. Mit projekt skal afdække, om dette er tilfældet, eller om vi også begynder at se tegn på resistens i Danmark. Undersøgelserne foretages i samarbejde med EquiLab, hvorfra jeg får resultater af de rutinemæssige resistensundersøgelser der bliver lavet.

Et af de første tegn på resistens er, at ormekuren virker i kortere tid. For at undersøge, hvor længe ormekuren har effekt, undersøger vi nogle grupper af heste yderligere. Det er her vi har brug for hestene i jeres stald! Hestene, der deltager i denne del af undersøgelsen vil få lavet fornyet prøve for orm en gang om ugen, hhv. 2, 3, 4, 5 og 6 uger efter at de har fået ormekur. Prøverne analyseres gratis, du har altså ingen ekstra udgifter som hesteejer, men får ekstra information om din hests aktuelle ormestatus.
Deltagelse i denne del af undersøgelsen betyder at alle behandlede heste i stalden skal undersøges i alt 5 gange efter at de har fået ormekur. Det er vigtigt for sikkerheden af mine data, at der deltager mindst 10 behandlede heste fra samme stald og at der udtages prøver fra alle disse heste hver gang.

I kan enten få tilsendt 5 frankerede svarkuverter, og selv udtage og indsende prøverne til os, eller jeg kan tilbyde at komme ud og udtage prøverne til denne del af undersøgelsen, hvis I har behov for dette.
Prøverne skal udtages på samme ugedag som hestene har fået ormekur. Hvis hesten fx er behandlet tirsdag i uge 38 skal der udtages nye prøver tirsdage i uge 40, 41, 42, 43 og 44.

Jeg håber I og jeres heste har lyst til at deltage i undersøgelsen og gøre dyrlægerne klogere på effekten af ormekuren.

Med Venlig Hilsen
Mette Lindstrøm Larsen,
Dyrlægestuderende
mella@dsr.life.ku.dk
Tlf. 21 81 26 97

Projektet udføres under Institut for Produktionsdyr og Heste / Faggruppe Medicin og Kirurgi,
Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet (tidligere Landbohøjskolen)

Speciale-vejleder: Adjunkt Martin Krarup Nielsen, mkn@life.ku.dk, Tlf. 353 32842
Undersøgelserne udføres i samarbejde med Stig Langeskov Petersen, EquiLab, Tlf 28148917

APPENDIKS 4

Appendiks 4

Uddybende oplysninger om de deltagende besætninger, management og indsamling af prøver til ERP-undersøgelsen.

BESÆTNING 1

Hestene 101-110, i alt 10 heste.

Stalden rummer ca. 30 heste, der alle går i løsdrift. Stedet fungerer som hestepension og huser primært islændere, men også andre ponyracer og enkelte heste. Der er primært tale om heste, der bliver redet, de fleste er over 5 år.

Hestene går opdelt i 3 hold, de to af holdene har deltaget i ERP undersøgelsen; en hoppe- og en vallakflok, som går på folde lige ved siden af hinanden, men dog opdelt.

Hestene går på græsfolde juni-marts og har således været på græs under hele undersøgelsen. Nærmest læskur og foderplads er græsdækket yderst sparsomt, dette areal udgør den jordfold hestene går på om foråret. På jordfolden samles gødningsklatter dagligt. På græsfoldene samles ikke gødning.

Hestene er inden denne undersøgelse sidst undersøgt og behandlet for orm i foråret 2008

Besætningen er undersøgt af Equilab d. 22. september 2008. De deltagende heste blev behandlet 30. september 2008.

Indsamlingen er foregået om eftermiddagen og de fleste prøver er udtaget rektalt, øvrige prøver er fra frisk afsat gødning. Alle prøver er undersøgt den følgende formiddag og har været opbevaret på køl om natten.

Der er af logistiske årsager ikke medtaget kontrolheste fra denne besætning, da indsamlingen i forvejen har været ret omfattende gr. opstaldningsformen.

BESÆTNING 2

Hestene 201-202 og 204-208, i alt 7 heste

Stalden rummer 12 heste og har desuden en tilknyttet løsdrift med to ponyer. Stedet drives som hestepension med rideheste- og ponyer af forskellig type og alder opstaldet. Hestene går opdelt i flokke, men roteres om sommeren på de samme græsfolde og har derved rig lejlighed for at krydskontaminere hinanden. Det er en stald med ret hyppig udskiftning (ind/udførsel) af heste.

Nogle heste går udelukkende på jordfold. Dette gælder for 204-206, der var nye i stalden ved undersøgelsens start og kun har været på jordfold på dette sted. Andre (207 og 208) har gået på gårdens græsfolde i sommerperioden, men har været på jordfold siden uge 4 i undersøgelsen. Hestene 201 og 202 samt flere af kontrolhestene har gået på græsfold under hele undersøgelsen.

Der samles ikke gødning på jordfoldene. På græsfoldene samles i sommerperioden ca. hver 3. uge inden hestene skifter fold.

Besætningen er inden denne undersøgelse sidst undersøgt og behandlet for orm 20. april 2008

Besætningen er undersøgt af mig selv d. 24. september 2008 og behandlet den følgende dag. Alle heste uanset vægt er doseret med en hel sprøjte (700 kg hest) på nær shetlandsponyerne (bl.a. 204) der er doseret med ½ sprøjte (350 kg hest).

Indsamlingen er foregået sidst på eftermiddagen, de fleste prøver er udtaget rektalt, øvrige har været fra frisk afsat (varm) gødning. Fra hest nr. 204 er der gr. hestens størrelse kun undersøgt frisk afsat gødning. Alle prøver er opbevaret på køl om natten og undersøgt den følgende formiddag.

Fra besætningen deltager desuden 6 kontrolheste

BESÆTNING 3

Hestene 301-310, i alt 10 heste

Besætningen består af stutteri og hestepension og udgøres udelukkende af islandske heste. Stedet har plads til ca. 40 heste. Hestene går i løsdrift opdelt i to flokke af hhv. hopper og vallakker. Om sommeren går hestene på græs i nogle timer dagligt, om vinteren går de kun på jordfolde. Hestene var på græs indtil prøven 4. uge efter behandling blev indsamlet. Jordfoldene har enkelte støbte gangarealer, der ryddes for gødning maskinelt med jævne mellemrum, men ellers foretages der ikke rensning af foldene.

Besætningen var inden denne undersøgelse sidst undersøgt og behandlet for orm d. 18. april 2008

Besætningen er undersøgt at Equilab d. 29. september 2008 og behandlet d. 5. oktober. Alle heste er doseret efter vægt estimeret visuelt af besætningen selv.

Indsamlingen er foregået i løbet af eftermiddagen, for de fleste hestes vedkommende er der opsamlet frisk afsat gødning, men enkelte er udtaget rektalt. Alle prøver er opbevaret på køl natten over og analyseret den følgende morgen.

Fra besætningen deltager desuden 4 kontrolheste efter uge 4 og 5 andre efter uge 6

BESÆTNING 4

Der er tale om en stor privat hestepension. Hestene er opdelt i to stalde, der går på separate folde, men deler ridefaciliteter, sygefolde mv. Desuden er på hestepensionen også en mindre løsdrift for plage.

Til den ene stald hører hestene 402-413 i alt 12 heste, til den anden stald hestene 414-419 og 421-425, i alt 11 heste. Fra løsdriften indgår hesten 429 i undersøgelsen. I alt deltager 24 heste fra denne besætning i undersøgelsen. Besætningen består af i alt 36 heste.

Hestene i begge staldafsnit er primært rideheste, men der er begge steder også enkelte ponyer. I løsdriften står udelukkende plage, primært ridehesteracer.

Hestene går på fold opdelt i hold med hopper og vallakker hver for sig for de to staldafsnit. Om sommeren går de på græsfolde, om vinteren på højtliggende jordfolde med sparsom græsmængde. Hestene kom på jordfold lige omkring undersøgelsens start.

Besætningen er inden denne undersøgelse sidst undersøgt og behandlet meido maj 2008

Besætningen er undersøgt at Equilab d. 29. september 2008 og behandlet d. 5. oktober. Alle heste er doseret med en fuld sprøjte Noromectin svarende til 700 kg hest.

Indsamlingen er foregået sidst på eftermiddagen. Der er fra alle heste opsamlet friskest mulig (varm) gødning i boksen ca. halvanden time efter indlukning fra fold. Alle prøver er opbevaret på køl natten over og analyseret den følgende dag

Fra besætningen er der desuden løbende undersøgt kontrolheste. I alt indgår 7 ubehandlede heste fra denne besætning som kontrolheste.

BESÆTNING 5

Hestene 501-503 og 505-510, i alt 9 heste

Stalden er en privat hestepension med primært rideheste og -ponyer samt enkelte yngre heste. Stalden er opdelt i flere mindre staldafsnit, der har fælles sommer-græsfold og opdelte vinter-jordfolde i mindre hold.

Besætningen er inden denne undersøgelse sidst testet og behandlet for orm medio maj 2008

Besætningen blev undersøgt af Equilab d. 26. september 2008 og behandlet 1. oktober. Hestene er doseret efter vægt estimeret af ejer ved øjemål.

Indsamlingen er foregået sidst på eftermiddagen eller først på aftenen, på nær den sidste prøve (uge 6), der er indsamlet om morgenen af praktiske hensyn. Fra de fleste heste er der indsamlet frisk afsat (varm) gødning, men fra enkelte er der enkelte gange udtaget prøver rektalt.

Alle prøver er opbevaret på køl natten over og analyseret næste formiddag. Den sidste prøve, der blev udtaget om morgenen er analyseret umiddelbart herefter.

Fra besætningen er der desuden undersøgt kontrolheste 4 og 6 uger efter behandlingen. Der indgår 8 ubehandlede heste som kontrolheste fra denne besætning.

BESÆTNING 6

Hestene 601-604,606-607 og 610-613, i alt 10 heste

Stalden består af et stutteri med avl og opdræt af sportsponyer og en mindre hestepension med forskellige typer rideheste og -ponyer. De fleste avls- og opdrætsponyer samt en række hingsteplage går i løsdrift og er af praktiske årsager ikke medtaget i ERPundersøgelsen. I undersøgelsen indgår hestene fra hestepensionen, herunder enkelte af stutteriets egne heste, der er i ridning. Alle disse heste står opstaldet i bokse og går på fold i mindre hold. Hestene roterer på foldene efter behov. På alle foldene var der moderat græsdække. Der bliver ikke indsamlet gødning fra foldene.

Besætningen er inden denne undersøgelse senest kontrolleret og behandlet for orm i maj 2008.

Besætningen er undersøgt af Equilab d. 1. oktober 2008 og behandlet 11. oktober.

Indsamlingen er i alle tilfælde foregået om morgenen inden hestene er lukket på fold. Der er opsamlet frisk afsat (varm) gødning fra boksen. Af praktiske årsager foregik indsamlingen uge 2 og uge 4 med en dags forsinkelse dvs. på dag 15 og dag 29. Prøven fra uge 2 blev opbevaret på køl natten over og analyseret den følgende dag. Øvrige prøver er analyseret umiddelbart efter indsamlingen.

Fra besætningen er løbende indsamlet prøver fra ikke behandlingskrævende kontrolheste. I alt indgår 7 kontrolheste fra denne besætning. Heraf stammer 3 prøver fra heste opstaldet i løsdrift, disse prøver er af praktiske årsager kun opsamlet ved indsamling i uge 2. 4 heste indgår som kontrol ved alle 5 målinger.

Én hest steg så meget i EPG, at behandling blev iværksat ved kontrol i uge 5. Hesten udgik herefter som kontrolhest

BESÆTNING 7

Hestene 701-707 og 709-711, i alt 10 heste

Hestene står opstaldet på en hestepension med forskellige typer rideheste og -ponyer i alle aldersgrupper. Hestene står i forskellige staldafsnit, men går på fælles sommer-græsfold ca. juni-september. Den øvrige del af året går de opdelt i mindre grupper på jordfolde, hvor der fodres med halm.

Besætningen er før denne undersøgelse sidst undersøgt og behandlet for orm medio maj 2008.

Besætningen blev undersøgt af Equilab d. 1. oktober 2008 og behandlet 6. oktober.

Indsamlingen af prøver fra denne besætning er efter besætningens eget ønske og af praktiske årsager forestået af staldmesteren i stalden. Prøverne er indsamlet om morgenen, hvor der er opsamlet frisk, varm gødning i boksene. Poserne er blevet tømt for luft, lukket med knude og sendt med posten til mig, hvor de er blevet analyseret straks efter ankomst. Ved prøverne fra 4., 5. og 6. uge var postleverancen forsinket og disse prøver blev derfor først analyseret 1,5-2 døgn efter indsamlingen.

Fra besætningen deltager desuden 14 ikke behandlede heste, der er kontrolleret sammen med 6 ugers prøverne fra de andre heste.

BESÆTNING 8

Hestene 801-804 og 806-811, i alt 10 heste.

Der er tale om en mindre hestepension med flere mindre staldafsnit. Hestene er rideheste og -ponyer af forskellige racer i varierende alder. Om vinteren, og under hele undersøgelsen, går hestene på jordfolde i mindre hold. Om sommeren samgræsses de med naboens heste på en stor fælles græsfold.

Besætningen er før denne undersøgelse sidst undersøgt og behandlet for orm d. 9. maj 2008

Besætningen blev undersøgt af Equilab d. 1. oktober 2008 og behandlet d. 3. oktober.

Indsamlingen af prøver i denne stald er foregået om morgenen efter morgenfodringen. Der er fra alle heste opsamlet friskest mulig (varm) gødning fra boksen. Hesten 806 defakerer øjensynligt kun én gang hver nat og pæren har ikke hver gang været varm. Alle prøverne er analyseret samme dag og har været opbevaret på køl inden analysen.

Fra besætningen er der desuden undersøgt 5 kontrolheste efter 4. uge og yderligere 2 altså i alt 7 kontrolheste efter 6 uger.

BESÆTNING 9

Hestene 901-906, i alt 6 heste

Besætningen består af et stutteri med avl, opdræt og ridning af islandske heste.

Hestene går opdelt i hopper, vallakker og avlshopper med føl og åringer. Flokkene holdes så vidt muligt adskilt og græsser også på separate flokke. Flokkene bytter ikke fold. Primo juli flyttes føl og følhopper til ren græsfold. I sommersæsonen foretages der sporadisk gødningsopsamling på den græsfold føl og følhopper benytter.

Besætningen er før denne undersøgelse seneste undersøgt og behandlet for orm primo maj 2008. Åringerne er desuden rutinemæssigt behandlet ca. 1. juli 2008.

Besætningen blev undersøgt af mig d. 24. september 2008 og behandlet samme dag.

Alle prøver fra denne besætning er indsamlet rektalt sidst på dagen, opbevaret på køl natten over og analyseret den følgende formiddag, dog undtaget prøverne fra uge 4 og 5, der først blev analyseret aftenen efter udtagelsen. Af praktiske årsager er prøverne fra besætningen ikke udtaget på samme ugedag som behandlingen fandt sted og dermed er prøverne fra denne besætning indsamlet på dag 12, 19, 26, 33 og 40 efter behandlingen.

Fra denne besætning er der desuden undersøgt 5 ubehandlede kontrolheste 6 uger efter behandlingen.

APPENDIKS 5

Orm	Stald	Hest	Age	Kon	for	efter	Effekt
P	1	1	0,5	1	50	0	1,00000
P	2	2	0,5	1	100	0	1,00000
P	3	3	1	1	200	0	1,00000
P	3	4	2	3	50	0	1,00000
P	3	5		3	400	0	1,00000
P	4	6		3	600	0	1,00000
P	5	7	2	3	750	50	0,93333
P	6	8	2	3	50	0	1,00000
P	6	9	3	3	100	0	1,00000
P	6	10	3		50	0	1,00000
P	6	11	0,5	1	50	0	1,00000
P	6	12	2	1	50	0	1,00000
P	6	13	1	3	50	0	1,00000
P	6	14	0,5	3	200	0	1,00000
P	7	15	1	1	800	0	1,00000
P	8	16	3	3	400	0	1,00000
P	9	17	3	1	300	100	0,66667
P	10	18	2	1	100	0	1,00000
P	11	19	2	1	50	0	1,00000
P	12	20	1	3	50	0	1,00000
P	13	21	1	1	750	0	1,00000
P	13	22	3		700	0	1,00000
P	13	23	3	3	600	0	1,00000
P	14	24	3		600	0	1,00000
P	15	25	3	1	150	0	1,00000
P	16	26	2	1	150	0	1,00000
P	18	28	2	3	650	0	1,00000
P	18	29	1		500	100	0,80000
P	18	30	1	1	400	100	0,75000
P	18	31		1	50	0	1,00000
P	18	32			650	300	0,53846
P	18	33	3		600	0	1,00000
P	18	34	4		350	0	1,00000
P	19	35	4	1	200	0	1,00000
P	20	36	2	1	250	0	1,00000
P	21	37			50	0	1,00000
P	22	38	2	3	50	0	1,00000
P	22	39	0,5		150	0	1,00000
P	23	40	0,5	1	200	0	1,00000
P	24	41	1		900	0	1,00000
P	24	42	2	2	500	0	1,00000
P	24	43	3	1	550	0	1,00000
P	24	44			200	0	1,00000
P	25	45	3	1	450	0	1,00000
P	26	46	3		300	0	1,00000
P	27	47	2		800	0	1,00000
P	28	48	5		600	0	1,00000
P	29	49	1	2	50	0	1,00000
P	32	52	1	2	100	0	1,00000
P	32	53	1	3	200	0	1,00000
P	33	54	15	3	400	0	1,00000
P	33	55	2	3	400	500	0,00000
P	33	56	2	1	350	100	0,71429
P	34	57	5	1	350	50	0,85714
P	34	58	5		500	200	0,60000
P	34	59	6	1	600	0	1,00000
P	34	60	1		200	0	1,00000
P	34	61	1		300	0	1,00000
P	35	62	2	2	350	0	1,00000
P	36	63	2	1	200	0	1,00000
P	37	64	0,5		50	0	1,00000
P	38	65			50	0	1,00000
P	39	66	2		900	0	1,00000
P	40	67	2	1	800	0	1,00000
P	41	68	1		700	0	1,00000
P	41	69	1	1	300	0	1,00000
P	41	70	0,5	1	400	0	1,00000
P	41	71	0,5		500	0	1,00000
P	41	72	0,5		50	0	1,00000
P	41	73	0,5		50	0	1,00000
P	41	74	0,5		100	0	1,00000
P	41	75	1	2	100	0	1,00000
P	41	76	1	2	200	0	1,00000
P	41	77	2		50	0	1,00000
P	41	78	2		50	0	1,00000
P	41	79	2		50	0	1,00000
P	41	80	4		150	50	0,66667
P	42	81	0,5	2	1400	0	1,00000
S	A	101	8	0	600	0	1,00000
S	A	102	10	0	400	0	1,00000
S	A	103	13	0	1150	0	1,00000
S	A	104	6	0	350	0	1,00000
S	A	105	11	0	950	0	1,00000
S	A	106	12	0	350	0	1,00000
S	A	107	5	0	1000	0	1,00000
S	A	108	6	0	900	0	1,00000
S	A	109	5	0	800	0	1,00000
S	A	110	5	0	400	0	1,00000
S	B	201	3	0	2700	0	1,00000
S	B	202	6	0	1000	0	1,00000
S	B	204	4	0	1250	0	1,00000
S	B	205	17	0	550	0	1,00000
S	B	206	7	0	1750	0	1,00000
S	B	207	9	0	2150	0	1,00000
S	B	208	12	0	400	0	1,00000
S	B	10201	0	3	100	0	1,00000
S	C	301	6	0	350	0	1,00000
S	C	304	18	0	300	0	1,00000
S	C	305	5	0	250	0	1,00000
S	C	306	11	0	300	0	1,00000
S	C	307	5	0	400	0	1,00000
S	C	308	17	0	400	0	1,00000
S	C	309	5	0	200	0	1,00000
S	C	310		0	350	0	1,00000
S	C	10301	21	1	400	0	1,00000
S	C	10302		1	1100	0	1,00000
S	D	402	4	0	200	0	1,00000
S	D	403	5	0	300	0	1,00000
S	D	404	4	0	400		1,00000
S	D	405	5	0	400	0	1,00000
S	D	406		0	250	0	1,00000
S	D	407	11	0	200	0	1,00000
S	D	408	7	0	300	0	1,00000
S	D	409		0	500	0	1,00000
S	D	410		0	200	0	1,00000
S	D	411	7	0	600	0	1,00000
S	D	412	10	0	450	0	1,00000
S	D	413	7	0	300	0	1,00000
S	D	414	9	0	700	0	1,00000
S	D	415	11	0	400	0	1,00000
S	D	416		0	600	0	1,00000
S	D	417		0	300	0	1,00000
S	D	418		0	450	0	1,00000
S	D	419	5	0	500	0	1,00000
S	D	421	3	0	300	0	1,00000
S	D	422	5	0	250	0	1,00000
S	D	423		0	500	0	1,00000
S	D	424	9	0	350	0	1,00000
S	D	425	9	0	200	0	1,00000
S	D	429	2	0	750		1,00000
S	D	10401		1	200	0	1,00000
S	D	10402		3	300	0	1,00000
S	E	501	4	0	200	0	1,00000
S	E	502	12	0	900	0	1,00000
S	E	503	15	0	700	0	1,00000
S	E	505	18	0	200	0	1,00000
S	E	506	6	0	600	0	1,00000
S	E	507	15	0	900	0	1,00000
S	E	508	21	0	400	0	1,00000
S	E	509	18	0	350	0	1,00000
S	E	510	3	0	1000	0	1,00000
S	E	10501	4	1	900	0	1,00000
S	F	601	9	0	450	0	1,00000
S	F	602	6	0	250	0	1,00000
S	F	603	9	0	250	0	1,00000
S	F	604	4	0	350	0	1,00000
S	F	610	17	0	250		1,00000
S	F	611	2	0	200	0	1,00000
S	F	612	4	0	635	0	1,00000
S	F	613	12	0	200	0	1,00000
S	F	10601			200	0	1,00000
S	F	10602	3	1	400	0	1,00000
S	F	10603			300	0	1,00000
S	F	10604			200	0	1,00000
S	F	10605	0,5		350	0	1,00000
S	F	10606			400	0	1,00000
S	F	10607			600	0	1,00000
S	F	10608	8	3	500	0	1,00000
S	F	10609			350	0	1,00000
S	F	10610			400	0	1,00000
S	F	10611			370	0	1,00000
S	F	10612	1,5	3	200	0	1,00000
S	f	10613	2,5	3	1150	0	1,00000
S	G	701	7	0	1150	0	1,00000
S	G	702	6	0	200	0	1,00000
S	G	703	18	0	350	0	1,00000
S	G	704	12	0	300	0	1,00000
S	G	705	28	0	350	0	1,00000
S	G	706	22	0	200	0	1,00000
S	G	707	20	0	200	0	1,00000
S	G	709	3	0	600	0	1,00000
S	G	710	5	0	400	0	1,00000
S	G	711	16	0	750	0	1,00000
S	H	801	6	0	250	0	1,00000
S	H	802		0	450	0	1,00000
S	H	803	5	0	200	0	1,00000
S	H	804	14	0	200	0	1,00000
S	H	806	22	0	250	0	1,00000
S	H	807	15	0	300	0	1,00000
S	H	808	12	0	400	0	1,00000
S	H	809	8	0	350	0	1,00000
S	H	810	6	0	300	0	1,00000
S	H	811	7	0	250	0	1,00000
S	H	10801		3	350	0	1,00000
S	I	901	5	0	1050	0	1,00000
S	I	902	1	0	200	0	1,00000
S	I	903	4	0	1000	0	1,00000
S	I	904	1	0	250	0	1,00000
S	I	905	1	0	400	0	1,00000
S	I	906	4	0	250	0	1,00000
S	J	11001		3	470	0	1,00000
S	J	11002		3	830	0	1,00000
S	J	11003		3	300	0	1,00000

APPENDIKS 6

Besætn	Numm	Køn		Alder	Race	Vægt målt	Estimere	Doserin	Under/(	Dato testet	EPG start str	Dato behandle	EPG 2 uger	EPG 3 uger
1	101	vallak	3	8	Islænder	387	400	13	0	22-09-2008	600	30-09-2008	0	0
1	102	vallak	3	10	Islænder	441	400	-41	-1	22-09-2008	400	30-09-2008	0	0
1	103	vallak	3	13	Pony	374	400	26	1	22-09-2008	1150	30-09-2008	0	0
1	104	vallak	3	6	Islænder	420	400	-20	0	22-09-2008	350	30-09-2008	0	0
1	105	vallak	3	11	Islænder	380	400	20	0	22-09-2008	950	30-09-2008	0	0
1	106	vallak	3	12	Shetlænder	283	300	17	0	22-09-2008	350	30-09-2008	0	0
1	107	hoppe	1	5	Islænder	455	450	-5	0	22-09-2008	1000	30-09-2008	0	0
1	108	hoppe	1	6	Islænder	499	450	-49	-1	22-09-2008	900	30-09-2008	0	0
1	109	hoppe	1	5	Islænder	387	400	13	0	22-09-2008	800	30-09-2008	0	0
1	110	hoppe	1	5	Islænder	393	400	7	0	22-09-2008	400	30-09-2008	0	0
2	201	vallak	3	3	Dansk Varmblod	507	700	193	1	24-09-2008	2700	25-09-2008	0	0
2	202	vallak	3	6	Frederiksborger	561	700	139	1	24-09-2008	1000	25-09-2008	0	0
2	204	vallak	3	4	Shetlænder	135	350	215	1	24-09-2008	1250	25-09-2008	0	0
2	205	hoppe	1	17	New Forest	427	700	273	1	24-09-2008	550	25-09-2008	0	0
2	206	hoppe	1	7	Pony	400	700	300	1	24-09-2008	1750	25-09-2008	0	0
2	207	vallak	3	9	Fuldblod	448	700	252	1	24-09-2008	2150	25-09-2008	0	0
2	208	vallak	3	12	Blanding	545	700	155	1	24-09-2008	400	25-09-2008	0	0
3	301	hoppe	1	6	Islænder	400	380	-20	0	29-09-2008	350	05-10-2008	0	0
3	302	vallak	3	13	Islænder	415	380	-35	-1	29-09-2008	200	05-10-2008	0	0
3	303	vallak	3	17	Islænder		375			29-09-2008	250	05-10-2008	0	0
3	304	vallak	3	18	Islænder	414	375	-39	-1	29-09-2008	300	05-10-2008	0	0
3	305	vallak	3	5	Islænder	380	375	-5	0	29-09-2008	250	05-10-2008	0	0
3	306	vallak	3	11	Islænder	375	350	-25	0	29-09-2008	300	05-10-2008	0	0
3	307	vallak	3	5	Islænder	400	400	0	0	29-09-2008	400	05-10-2008	0	0
3	308	vallak	3	17	Islænder	335	350	15	0	29-09-2008	400	05-10-2008	0	0
3	309	vallak	3	5	Islænder	385	400	15	0	29-09-2008	200	05-10-2008	0	0
3	310	vallak	3		Islænder	350	350	0	0	29-09-2008	350	05-10-2008	0	0
4	402	hoppe	1	4	Dansk Varmblod	601	700	99	1	29-09-2008	200	05-10-2008	0	0
4	403	hoppe	1	5	Dansk Varmblod	561	700	139	1	29-09-2008	300	05-10-2008	0	0
4	404	hoppe	1	4	Dansk Varmblod	514	700	186	1	29-09-2008	400	05-10-2008		0
4	405	hoppe	1	5	Quarter	488	700	212	1	29-09-2008	400	05-10-2008	0	0
4	406	hoppe	1		Dansk Varmblod	601	700	99	1	29-09-2008	250	05-10-2008	0	0
4	407	vallak	3	11	Fjordhest	507	700	193	1	29-09-2008	200	05-10-2008	0	0
4	408	hoppe	1	7	Oldenborger	514	700	186	1	29-09-2008	300	05-10-2008	0	0
4	409	vallak	3		Frederiksborger	577	700	123	1	29-09-2008	500	05-10-2008	0	0
4	410	vallak	3		Traver	522	700	178	1	29-09-2008	200	05-10-2008	0	0
4	411	vallak	3	7	Oldenborger	695	700	5	0	29-09-2008	600	05-10-2008	0	0
4	412	vallak	3	10	Dansk Varmblod	545	700	155	1	29-09-2008	450	05-10-2008	0	0
4	413	vallak	3	7	Oldenborger	601	700	99	1	29-09-2008	300	05-10-2008	0	0
4	414	hoppe	1	9	Pony	427	700	273	1	29-09-2008	700	05-10-2008	0	0
4	415	hoppe	1	11	Frederiksborger	601	700	99	1	29-09-2008	400	05-10-2008	0	0
4	416	vallak	3		Araber	507	700	193	1	29-09-2008	600	05-10-2008	0	0
4	417	vallak	3		Dansk Varmblod	514	700	186	1	29-09-2008	300	05-10-2008	0	0
4	418	hoppe	1		Dansk Varmblod	635	700	65	1	29-09-2008	450	05-10-2008	0	0
4	419	vallak	3	5	Trakhener	507	700	193	1	29-09-2008	500	05-10-2008	0	0
4	421	vallak	3	3	Dansk Varmblod	618	700	82	1	29-09-2008	300	05-10-2008	0	0
4	422	hoppe	1	5	Frederiksborger	652	700	48	1	29-09-2008	250	05-10-2008	0	0
4	423	hoppe	1		Oldenborger	545	700	155	1	29-09-2008	500	05-10-2008	0	0
4	424	hoppe	1	9	Dansk Varmblod	577	700	123	1	29-09-2008	350	05-10-2008	0	0
4	425	vallak	3	9	Dansk Varmblod	618	700	82	1	29-09-2008	200	05-10-2008	0	0
4	429	hoppe	1	2			700			29-09-2008	750	05-10-2008		
5	501	vallak	3	4	Pony	460	400	-60	-1	26-09-2008	200	01-10-2008	0	0
5	502	hoppe	1	12	Pony	325	350	25	0	26-09-2008	900	01-10-2008	0	0
5	503	vallak	3	15	Dansk Varmblod	650	600	-50	-1	26-09-2008	700	01-10-2008	0	0
5	505	vallak	3	18	Dansk Varmblod	590	600	10	0	26-09-2008	200	01-10-2008	0	0
5	506	hoppe	1	6	Dansk Varmblod	545	500	-45	-1	26-09-2008	600	01-10-2008	0	0
5	507	vallak	3	15	Dansk Varmblod	652	650	-2	0	26-09-2008	900	01-10-2008	0	0
5	508	hoppe	1	21	Welch Cob	504	450	-54	-1	26-09-2008	400	01-10-2008	0	0
5	509	hoppe	1	18	Haflinger	427	450	23	0	26-09-2008	350	01-10-2008	0	0
5	510	hoppe	1	3	Araber	492	500	8	0	26-09-2008	1000	01-10-2008	0	0
6	601	hoppe	1	9	Araber	445	445	0	0	01-10-2008	450	11-10-2008	0	0
6	602	vallak	3	6	Dansk Varmblod	470	470	0	0	01-10-2008	250	11-10-2008	0	0
6	603	hoppe	1	9	Fell Pony	480	480	0	0	01-10-2008	250	11-10-2008	0	0
6	604	hoppe	1	4	Dansk Sportspony	540	540	0	0	01-10-2008	350	11-10-2008	0	0
6	606	hoppe	1		Dansk Varmblod	325	325	0	0	01-10-2008	300	11-10-2008	0	0
6	607	vallak	3	9	Haflinger	470	470	0	0	01-10-2008	300	11-10-2008	0	0
6	610	vallak	3	17	Fuldblod	490	490	0	0	01-10-2008	250	11-10-2008		0

6	611	hingst	2	2	Dansk Sportspony	405	405	0		01-10-2008	200	11-10-2008	0		
6	612	vallak	3	4	Dansk Sportspony	460	460	0	0	01-10-2008	635	11-10-2008	0		
6	613	hoppe	1	12	Dansk Sportspony	430	430	0	0	01-10-2008	200	11-10-2008	0		
7	701	vallak	3	7			504			01-10-2008	1150	06-10-2008	0	0	
7	702	vallak	3	6			356			01-10-2008	200	06-10-2008	0	0	
7	703	hoppe	1	18			520			01-10-2008	350	06-10-2008	0	0	
7	704	vallak	3	12						01-10-2008	300	06-10-2008	0	0	
7	705	vallak	3	28						01-10-2008	350	06-10-2008	0	0	
7	706	vallak	3	22						01-10-2008	200	06-10-2008	0	0	
7	707	hoppe	1	20			478			01-10-2008	200	06-10-2008	0	0	
7	709	vallak	3	3						01-10-2008	600	06-10-2008	0	0	
7	710	vallak	3	5						01-10-2008	400	06-10-2008	0	0	
7	711	vallak	3	16			451			01-10-2008	750	06-10-2008	0	0	
8	801	hoppe	1	6	Dansk Varmblod	593	570	-23	0	01-10-2008	250	03-10-2008	0	0	
8	802	hoppe	1		Dansk Varmblod	561	470	-91	-1	01-10-2008	450	03-10-2008	0	0	
8	803	vallak	3	5	Traver	484				01-10-2008	200	03-10-2008	0	0	
8	804	hoppe	1	14	Trakhener	695				01-10-2008	200	03-10-2008	0	0	
8	806	vallak	3	22	Dansk Varmblod	530				01-10-2008	250	03-10-2008	0	0	
8	807	hoppe	1	15	Islænder	342				01-10-2008	300	03-10-2008	0	0	
8	808	hoppe	1	12	Dansk Varmblod	713				01-10-2008	400	03-10-2008	0	0	
8	809	vallak	3	8	Dansk Varmblod	601				01-10-2008	350	03-10-2008	0	0	
8	810	vallak	3	6	Dansk Varmblod	569				01-10-2008	300	03-10-2008	0	0	
8	811	hoppe	1	7	Dansk Varmblod	577				01-10-2008	250	03-10-2008	0	0	
9	901	Hoppe	1	5	Islænder	417	400	-17	0	24-09-2008	1050	24-09-2008	0	0	
9	902	Hoppe	1	1	Islænder	336	300			24-09-2008	200	24-09-2008	0	0	
9	903	Vallak	3	4	Islænder		400			24-09-2008	1000	24-09-2008	0	0	
9	904	Hoppe	1	1	Islænder	348	300			24-09-2008	250	24-09-2008	0		
9	905	Hoppe	1	1	Islænder	336	300			24-09-2008	400	24-09-2008	0	0	
9	906	Hoppe	1	4	Islænder	470	450	-20	0	24-09-2008	250	24-09-2008	0	0	

EPG 4 uger	EPG 5 uger	EPG 6 uger	Effekt uge 2	Effekt uge 3	ffekt uge 4	ffekt uge 5	Effekt uge
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0		0	100,00%	100,00%	100,00%		100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	200	350	100,00%	100,00%	100,00%	63,64%	36,36%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	200	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	90,70%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
	0	0	100,00%	100,00%		100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
200	125	325	100,00%	100,00%	0,00%	37,50%	0,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0		100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%

0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	25	50	100,00%	100,00%	100,00%	87,50%	75,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	25	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	91,67%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	25	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	91,67%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	50	275			100,00%	93,33%	63,33%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%

		0	100,00%				100,00%
		0	100,00%				100,00%
		0	100,00%				100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	25	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	91,67%
0		0	100,00%	100,00%	100,00%		100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	100	0	100,00%	100,00%	100,00%	86,67%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	125	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	37,50%
	0	0	100,00%	100,00%		100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
0	0	0	100,00%		100,00%	100,00%	100,00%
0		75	100,00%	100,00%	100,00%		81,25%
0	0	0	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%

APPENDIKS 7

Besætning	Hest nr	Dato første t	Før Beh.	Uge 2	Uge 3	Uge 4	Uge 5	Uge 6
2	2201	24-09-2008	100				250	750
2	2202	24-09-2008	150				150	
2	2203	ny					1350	1050
2	2204	24-09-2008	50				150	50
2	2205	24-09-2008	100				350	650
2	2206	24-09-2008	0				0	0
3	2301	29-09-2008	100			0		
3	2302	29-09-2008	100			50		
3	2303	ny				1100		
3	2304	29-09-2008				100		
3	2305	29-09-2008	150					0
3	2306	29-09-2008	150					0
3	2307	29-09-2008	100					0
3	2308	29-09-2008	100					0
3	2309	29-09-2008	100					100
4	2402	29-09-2008	150	400	650	1300	1050	600
4	2403	29-09-2008	150	1250	1800	1700	1300	50
4	2404	29-09-2008	150		100	100	350	200
4	2405	29-09-2008	150		850	500	350	450
4	2406	29-09-2008	150		0	0		
4	2407	ny					50	
4	2408	ny						100
4	2409	ny						750
5	2501	26-09-2008	0			850		900
5	2502	ny				950		0
5	2503	26-09-2008	0			750		850
5	2504	26-09-2008	0					0
5	2505	26-09-2008	50					200
5	2506	26-09-2008	0					0
5	2507	26-09-2008	0					350
5	2508	26-09-2008	0					1200
6	2601	01-10-2008	0	1200				
6	2602	01-10-2008	0	500				
6	2603	01-10-2008	0	100				50
6	2604	01-10-2008	100	1100	350	500	600	850
6	2605	01-10-2008	0	1050	1400	1600	1150	
6	2606	01-10-2008	100	50	0	0	0	0
6	2608	01-10-2008	0	100	0	50	250	50
7	2701	01-10-2008	50					0
7	2702	01-10-2008	100					450
7	2703	01-10-2008	150					1100
7	2704	01-10-2008	50					50
7	2705	01-10-2008	150					1250
7	2706	01-10-2008	100					50
7	2707	01-10-2008	50					0
7	2708	01-10-2008	150					400
7	2709	01-10-2008	150					0
7	2710	01-10-2008	100					0
7	2711	01-10-2008	50					0
7	2712	01-10-2008	50					400
7	2713	01-10-2008	400					150
7	2714	ny						600
8	2801	01-10-2008	100			800		600
8	2802	01-10-2008	150			0		0
8	2803	01-10-2008	150			350		400
8	2804	01-10-2008	50			1050		550
8	2805	01-10-2008	100			1600		1850
8	2806	01-10-2008	250	100				850
8	2807	ny						800
8	2808	ny						1200
9	2901	24-09-2008	100					50
9	2902	24-09-2008	50					50
9	2903	24-09-2008	150					-
9	2904	24-09-2008	50					0
9	2905	24-09-2008	100					0
9	2906	24-09-2008	0					0

APPENDIKS 8

```
/* Indlæsning af Excel-ark */
PROC IMPORT OUT= WORK.infektion
DATAFILE= "C:\Users\MeLLa\Documents\KVL\Speciale\Data til specialet\Speciale
data.xls"
DBMS=EXCEL REPLACE;
SHEET="'SAS, uge som variabel$'";
GETNAMES=YES;
MIXED=NO;
SCANTEXT=YES;
USEDATE=YES;
SCANTIME=YES;
RUN;
/* Datasættet hedder "infektion" i SAS */

/* Viser data i SAS ... et check */
proc print data=infektion;
run;
```


Obs	Hest	Stald	Andel_ beh	EPG_bes_ start	Koen	Alder	Dosis	EPG_ start	uge	EPG	Effekt
1	101	1	0.50000	395.455	3	8	0	600	2	0	1
2	101	1	0.50000	395.455	3	8	0	600	3	0	1
3	101	1	0.50000	395.455	3	8	0	600	4	0	1
4	101	1	0.50000	395.455	3	8	0	600	5	0	1
5	101	1	0.50000	395.455	3	8	0	600	6	0	1
6	102	1	0.50000	395.455	3	10	-1	400	2	0	1
7	102	1	0.50000	395.455	3	10	-1	400	3	0	1
8	102	1	0.50000	395.455	3	10	-1	400	4	0	1
9	102	1	0.50000	395.455	3	10	-1	400	5	0	1
10	102	1	0.50000	395.455	3	10	-1	400	6	0	1
11	103	1	0.50000	395.455	3	13	1	1150	2	0	1
12	103	1	0.50000	395.455	3	13	1	1150	3	0	1
13	103	1	0.50000	395.455	3	13	1	1150	4	0	1
14	103	1	0.50000	395.455	3	13	1	1150	5	0	1
15	103	1	0.50000	395.455	3	13	1	1150	6	0	1
16	104	1	0.50000	395.455	3	6	0	350	2	0	1
17	104	1	0.50000	395.455	3	6	0	350	3	0	1
18	104	1	0.50000	395.455	3	6	0	350	4	0	1
19	104	1	0.50000	395.455	3	6	0	350	5	0	1
20	104	1	0.50000	395.455	3	6	0	350	6	0	1
21	105	1	0.50000	395.455	3	11	0	950	2	0	1
22	105	1	0.50000	395.455	3	11	0	950	3	0	1
23	105	1	0.50000	395.455	3	11	0	950	4	0	1
24	105	1	0.50000	395.455	3	11	0	950	5	0	1
25	105	1	0.50000	395.455	3	11	0	950	6	0	1
26	106	1	0.50000	395.455	3	12	0	350	2	0	1
27	106	1	0.50000	395.455	3	12	0	350	3	0	1
28	106	1	0.50000	395.455	3	12	0	350	4	0	1
29	106	1	0.50000	395.455	3	12	0	350	5	0	1
30	106	1	0.50000	395.455	3	12	0	350	6	0	1
31	107	1	0.50000	395.455	1	5	0	1000	2	0	1
32	107	1	0.50000	395.455	1	5	0	1000	3	0	1
33	107	1	0.50000	395.455	1	5	0	1000	4	0	1
34	107	1	0.50000	395.455	1	5	0	1000	5	0	1
35	107	1	0.50000	395.455	1	5	0	1000	6	0	1
36	108	1	0.50000	395.455	1	6	-1	900	2	0	1
37	108	1	0.50000	395.455	1	6	-1	900	3	0	1
38	108	1	0.50000	395.455	1	6	-1	900	4	0	1
39	108	1	0.50000	395.455	1	6	-1	900	5	0	1
40	108	1	0.50000	395.455	1	6	-1	900	6	0	1
41	109	1	0.50000	395.455	1	5	0	800	2	0	1
42	109	1	0.50000	395.455	1	5	0	800	3	0	1
43	109	1	0.50000	395.455	1	5	0	800	4	0	1
44	109	1	0.50000	395.455	1	5	0	800	5	.	.
45	109	1	0.50000	395.455	1	5	0	800	6	0	1
46	110	1	0.50000	395.455	1	5	0	400	2	0	1
47	110	1	0.50000	395.455	1	5	0	400	3	0	1
48	110	1	0.50000	395.455	1	5	0	400	4	0	1
49	110	1	0.50000	395.455	1	5	0	400	5	0	1
50	110	1	0.50000	395.455	1	5	0	400	6	0	1
51	201	2	0.61538	792.308	3	3	1	2700	2	0	1
52	201	2	0.61538	792.308	3	3	1	2700	3	0	1
53	201	2	0.61538	792.308	3	3	1	2700	4	0	1
54	201	2	0.61538	792.308	3	3	1	2700	5	0	1
55	201	2	0.61538	792.308	3	3	1	2700	6	0	1.00000
56	202	2	0.61538	792.308	3	6	1	1000	2	0	1.00000
57	202	2	0.61538	792.308	3	6	1	1000	3	0	1.00000
58	202	2	0.61538	792.308	3	6	1	1000	4	0	1.00000
59	202	2	0.61538	792.308	3	6	1	1000	5	0	1.00000
60	202	2	0.61538	792.308	3	6	1	1000	6	0	1.00000
61	204	2	0.61538	792.308	3	4	1	1250	2	0	1.00000
62	204	2	0.61538	792.308	3	4	1	1250	3	0	1.00000
63	204	2	0.61538	792.308	3	4	1	1250	4	0	1.00000
64	204	2	0.61538	792.308	3	4	1	1250	5	0	1.00000
65	204	2	0.61538	792.308	3	4	1	1250	6	0	1.00000
66	205	2	0.61538	792.308	1	17	1	550	2	0	1.00000
67	205	2	0.61538	792.308	1	17	1	550	3	0	1.00000
68	205	2	0.61538	792.308	1	17	1	550	4	0	1.00000
69	205	2	0.61538	792.308	1	17	1	550	5	200	0.63636
70	205	2	0.61538	792.308	1	17	1	550	6	350	0.36364
71	206	2	0.61538	792.308	1	7	1	1750	2	0	1.00000
72	206	2	0.61538	792.308	1	7	1	1750	3	0	1.00000
73	206	2	0.61538	792.308	1	7	1	1750	4	0	1.00000
74	206	2	0.61538	792.308	1	7	1	1750	5	0	1.00000
75	206	2	0.61538	792.308	1	7	1	1750	6	0	1.00000
76	207	2	0.61538	792.308	3	9	1	2150	2	0	1.00000
77	207	2	0.61538	792.308	3	9	1	2150	3	0	1.00000
78	207	2	0.61538	792.308	3	9	1	2150	4	0	1.00000
79	207	2	0.61538	792.308	3	9	1	2150	5	0	1.00000
80	207	2	0.61538	792.308	3	9	1	2150	6	200	0.90698
81	208	2	0.61538	792.308	3	12	1	400	2	0	1.00000
82	208	2	0.61538	792.308	3	12	1	400	3	0	1.00000
83	208	2	0.61538	792.308	3	12	1	400	4	0	1.00000
84	208	2	0.61538	792.308	3	12	1	400	5	0	1.00000
85	208	2	0.61538	792.308	3	12	1	400	6	0	1.00000
86	301	3	0.62500	223.750	1	6	0	350	2	0	1.00000
87	301	3	0.62500	223.750	1	6	0	350	3	0	1.00000
88	301	3	0.62500	223.750	1	6	0	350	4	0	1.00000
89	301	3	0.62500	223.750	1	6	0	350	5	0	1.00000
90	301	3	0.62500	223.750	1	6	0	350	6	0	1.00000
91	302	3	0.62500	223.750	3	13	-1	200	2	0	1.00000
92	302	3	0.62500	223.750	3	13	-1	200	3	0	1.00000
93	302	3	0.62500	223.750	3	13	-1	200	4	0	1.00000
94	302	3	0.62500	223.750	3	13	-1	200	5	0	1.00000
95	302	3	0.62500	223.750	3	13	-1	200	6	0	1.00000
96	303	3	0.62500	223.750	3	17	1	250	2	0	1.00000
97	303	3	0.62500	223.750	3	17	1	250	3	0	1.00000

Obs	Hest	Stald	Andel_ beh	EPG_bes_ start	Koen	Alder	Dosis	EPG_ start	uge	EPG	Effekt
98	303	3	0.62500	223.750	3	17	1	250	4	0	1.00000
99	303	3	0.62500	223.750	3	17	1	250	5	0	1.00000
100	303	3	0.62500	223.750	3	17	1	250	6	0	1.00000
101	304	3	0.62500	223.750	3	18	-1	300	2	0	1.00000
102	304	3	0.62500	223.750	3	18	-1	300	3	0	1.00000
103	304	3	0.62500	223.750	3	18	-1	300	4	0	1.00000
104	304	3	0.62500	223.750	3	18	-1	300	5	0	1.00000
105	304	3	0.62500	223.750	3	18	-1	300	6	0	1.00000
106	305	3	0.62500	223.750	3	5	0	250	2	0	1.00000
107	305	3	0.62500	223.750	3	5	0	250	3	0	1.00000
108	305	3	0.62500	223.750	3	5	0	250	4	0	1.00000
109	305	3	0.62500	223.750	3	5	0	250	5	0	1.000
110	305	3	0.62500	223.750	3	5	0	250	6	0	1.000
111	306	3	0.62500	223.750	3	11	0	300	2	0	1.000
112	306	3	0.62500	223.750	3	11	0	300	3	0	1.000
113	306	3	0.62500	223.750	3	11	0	300	4	0	1.000
114	306	3	0.62500	223.750	3	11	0	300	5	0	1.000
115	306	3	0.62500	223.750	3	11	0	300	6	0	1.000
116	307	3	0.62500	223.750	3	5	0	400	2	0	1.000
117	307	3	0.62500	223.750	3	5	0	400	3	0	1.000
118	307	3	0.62500	223.750	3	5	0	400	4	.	.
119	307	3	0.62500	223.750	3	5	0	400	5	0	1.000
120	307	3	0.62500	223.750	3	5	0	400	6	0	1.000
121	308	3	0.62500	223.750	3	17	0	400	2	0	1.000
122	308	3	0.62500	223.750	3	17	0	400	3	0	1.000
123	308	3	0.62500	223.750	3	17	0	400	4	0	1.000
124	308	3	0.62500	223.750	3	17	0	400	5	0	1.000
125	308	3	0.62500	223.750	3	17	0	400	6	0	1.000
126	309	3	0.62500	223.750	3	5	0	200	2	0	1.000
127	309	3	0.62500	223.750	3	5	0	200	3	0	1.000
128	309	3	0.62500	223.750	3	5	0	200	4	0	1.000
129	309	3	0.62500	223.750	3	5	0	200	5	0	1.000
130	309	3	0.62500	223.750	3	5	0	200	6	0	1.000
131	310	3	0.62500	223.750	3	.	0	350	2	0	1.000
132	310	3	0.62500	223.750	3	.	0	350	3	0	1.000
133	310	3	0.62500	223.750	3	.	0	350	4	0	1.000
134	310	3	0.62500	223.750	3	.	0	350	5	0	1.000
135	310	3	0.62500	223.750	3	.	0	350	6	0	1.000
136	402	4	0.86111	341.667	1	4	1	200	2	0	1.000
137	402	4	0.86111	341.667	1	4	1	200	3	0	1.000
138	402	4	0.86111	341.667	1	4	1	200	4	200	0.000
139	402	4	0.86111	341.667	1	4	1	200	5	125	0.375
140	402	4	0.86111	341.667	1	4	1	200	6	325	0.000
141	403	4	0.86111	341.667	1	5	1	300	2	0	1.000
142	403	4	0.86111	341.667	1	5	1	300	3	0	1.000
143	403	4	0.86111	341.667	1	5	1	300	4	0	1.000
144	403	4	0.86111	341.667	1	5	1	300	5	0	1.000
145	403	4	0.86111	341.667	1	5	1	300	6	0	1.000
146	404	4	0.86111	341.667	1	4	1	400	2	.	.
147	404	4	0.86111	341.667	1	4	1	400	3	0	1.000
148	404	4	0.86111	341.667	1	4	1	400	4	0	1.000
149	404	4	0.86111	341.667	1	4	1	400	5	0	1.000
150	404	4	0.86111	341.667	1	4	1	400	6	0	1.000
151	405	4	0.86111	341.667	1	5	1	400	2	0	1.000
152	405	4	0.86111	341.667	1	5	1	400	3	0	1.000

Obs	Hest	Stald	Andel_ beh	EPG_bes_ start	Koen	Alder	Dosis	EPG_ start	uge	EPG	Effekt
153	405	4	0.86111	341.667	1	5	1	400	4	0	1.000
154	405	4	0.86111	341.667	1	5	1	400	5	0	1.000
155	405	4	0.86111	341.667	1	5	1	400	6	0	1.000
156	406	4	0.86111	341.667	1	.	1	250	2	0	1.000
157	406	4	0.86111	341.667	1	.	1	250	3	0	1.000
158	406	4	0.86111	341.667	1	.	1	250	4	0	1.000
159	406	4	0.86111	341.667	1	.	1	250	5	0	1.000
160	406	4	0.86111	341.667	1	.	1	250	6	0	1.000
161	407	4	0.86111	341.667	3	11	1	200	2	0	1.000
162	407	4	0.86111	341.667	3	11	1	200	3	0	1.000
163	407	4	0.86111	341.667	3	11	1	200	4	0	1.00000
164	407	4	0.86111	341.667	3	11	1	200	5	0	1.00000
165	407	4	0.86111	341.667	3	11	1	200	6	0	1.00000
166	408	4	0.86111	341.667	1	7	1	300	2	0	1.00000
167	408	4	0.86111	341.667	1	7	1	300	3	0	1.00000
168	408	4	0.86111	341.667	1	7	1	300	4	0	1.00000
169	408	4	0.86111	341.667	1	7	1	300	5	0	1.00000
170	408	4	0.86111	341.667	1	7	1	300	6	0	1.00000
171	409	4	0.86111	341.667	3	.	1	500	2	0	1.00000
172	409	4	0.86111	341.667	3	.	1	500	3	0	1.00000
173	409	4	0.86111	341.667	3	.	1	500	4	0	1.00000
174	409	4	0.86111	341.667	3	.	1	500	5	0	1.00000
175	409	4	0.86111	341.667	3	.	1	500	6	0	1.00000
176	410	4	0.86111	341.667	3	.	1	200	2	0	1.00000
177	410	4	0.86111	341.667	3	.	1	200	3	0	1.00000
178	410	4	0.86111	341.667	3	.	1	200	4	0	1.00000
179	410	4	0.86111	341.667	3	.	1	200	5	25	0.87500
180	410	4	0.86111	341.667	3	.	1	200	6	50	0.75000
181	411	4	0.86111	341.667	3	7	0	600	2	0	1.00000
182	411	4	0.86111	341.667	3	7	0	600	3	0	1.00000
183	411	4	0.86111	341.667	3	7	0	600	4	0	1.00000
184	411	4	0.86111	341.667	3	7	0	600	5	0	1.00000
185	411	4	0.86111	341.667	3	7	0	600	6	0	1.00000
186	412	4	0.86111	341.667	3	10	1	450	2	0	1.00000
187	412	4	0.86111	341.667	3	10	1	450	3	0	1.00000
188	412	4	0.86111	341.667	3	10	1	450	4	0	1.00000
189	412	4	0.86111	341.667	3	10	1	450	5	0	1.00000
190	412	4	0.86111	341.667	3	10	1	450	6	0	1.00000
191	413	4	0.86111	341.667	3	7	1	300	2	0	1.00000
192	413	4	0.86111	341.667	3	7	1	300	3	0	1.00000
193	413	4	0.86111	341.667	3	7	1	300	4	0	1.00000
194	413	4	0.86111	341.667	3	7	1	300	5	0	1.00000
195	413	4	0.86111	341.667	3	7	1	300	6	25	0.91667
196	414	4	0.86111	341.667	1	9	1	700	2	0	1.00000
197	414	4	0.86111	341.667	1	9	1	700	3	0	1.00000
198	414	4	0.86111	341.667	1	9	1	700	4	0	1.00000
199	414	4	0.86111	341.667	1	9	1	700	5	0	1.00000
200	414	4	0.86111	341.667	1	9	1	700	6	0	1.00000
201	415	4	0.86111	341.667	1	11	1	400	2	0	1.00000
202	415	4	0.86111	341.667	1	11	1	400	3	0	1.00000
203	415	4	0.86111	341.667	1	11	1	400	4	0	1.00000
204	415	4	0.86111	341.667	1	11	1	400	5	0	1.00000
205	415	4	0.86111	341.667	1	11	1	400	6	0	1.00000
206	416	4	0.86111	341.667	3	.	1	600	2	0	1.00000
207	416	4	0.86111	341.667	3	.	1	600	3	0	1.00000

Obs	Hest	Stald	Andel_ beh	EPG_bes_ start	Koen	Alder	Dosis	EPG_ start	uge	EPG	Effekt
208	416	4	0.86111	341.667	3	.	1	600	4	0	1.00000
209	416	4	0.86111	341.667	3	.	1	600	5	0	1.00000
210	416	4	0.86111	341.667	3	.	1	600	6	0	1.00000
211	417	4	0.86111	341.667	3	.	1	300	2	0	1.00000
212	417	4	0.86111	341.667	3	.	1	300	3	0	1.00000
213	417	4	0.86111	341.667	3	.	1	300	4	0	1.00000
214	417	4	0.86111	341.667	3	.	1	300	5	0	1.00000
215	417	4	0.86111	341.667	3	.	1	300	6	0	1.00000
216	418	4	0.86111	341.667	1	.	1	450	2	0	1.00000
217	418	4	0.86111	341.667	1	.	1	450	3	0	1.00000
218	418	4	0.86111	341.667	1	.	1	450	4	0	1.00000
219	418	4	0.86111	341.667	1	.	1	450	5	0	1.00000
220	418	4	0.86111	341.667	1	.	1	450	6	0	1.00000
221	419	4	0.86111	341.667	3	5	1	500	2	0	1.00000
222	419	4	0.86111	341.667	3	5	1	500	3	0	1.00000
223	419	4	0.86111	341.667	3	5	1	500	4	0	1.00000
224	419	4	0.86111	341.667	3	5	1	500	5	0	1.00000
225	419	4	0.86111	341.667	3	5	1	500	6	0	1.00000
226	421	4	0.86111	341.667	3	3	1	300	2	0	1.00000
227	421	4	0.86111	341.667	3	3	1	300	3	0	1.00000
228	421	4	0.86111	341.667	3	3	1	300	4	0	1.00000
229	421	4	0.86111	341.667	3	3	1	300	5	0	1.00000
230	421	4	0.86111	341.667	3	3	1	300	6	25	0.91667
231	422	4	0.86111	341.667	1	5	1	250	2	0	1.00000
232	422	4	0.86111	341.667	1	5	1	250	3	0	1.00000
233	422	4	0.86111	341.667	1	5	1	250	4	0	1.00000
234	422	4	0.86111	341.667	1	5	1	250	5	0	1.00000
235	422	4	0.86111	341.667	1	5	1	250	6	0	1.00000
236	423	4	0.86111	341.667	1	.	1	500	2	0	1.00000
237	423	4	0.86111	341.667	1	.	1	500	3	0	1.00000
238	423	4	0.86111	341.667	1	.	1	500	4	0	1.00000
239	423	4	0.86111	341.667	1	.	1	500	5	0	1.00000
240	423	4	0.86111	341.667	1	.	1	500	6	0	1.00000
241	424	4	0.86111	341.667	1	9	1	350	2	0	1.00000
242	424	4	0.86111	341.667	1	9	1	350	3	0	1.00000
243	424	4	0.86111	341.667	1	9	1	350	4	0	1.00000
244	424	4	0.86111	341.667	1	9	1	350	5	0	1.00000
245	424	4	0.86111	341.667	1	9	1	350	6	0	1.00000
246	425	4	0.86111	341.667	3	9	1	200	2	0	1.00000
247	425	4	0.86111	341.667	3	9	1	200	3	0	1.00000
248	425	4	0.86111	341.667	3	9	1	200	4	0	1.00000
249	425	4	0.86111	341.667	3	9	1	200	5	0	1.00000
250	425	4	0.86111	341.667	3	9	1	200	6	0	1.00000
251	429	4	0.86111	341.667	1	2		750	2	.	.
252	429	4	0.86111	341.667	1	2		750	3	.	.
253	429	4	0.86111	341.667	1	2		750	4	0	1.00000
254	429	4	0.86111	341.667	1	2		750	5	50	0.93333
255	429	4	0.86111	341.667	1	2		750	6	275	0.63333
256	501	5	0.47619	330.952	3	4	-1	200	2	0	1.00000
257	501	5	0.47619	330.952	3	4	-1	200	3	0	1.00000
258	501	5	0.47619	330.952	3	4	-1	200	4	0	1.00000
259	501	5	0.47619	330.952	3	4	-1	200	5	0	1.00000
260	501	5	0.47619	330.952	3	4	-1	200	6	0	1.00000
261	502	5	0.47619	330.952	1	12	0	900	2	0	1.00000

Obs	Hest	Stald	Andel_ beh	EPG_bes_ start	Koen	Alder	Dosis	EPG_ start	uge	EPG	Effekt
262	502	5	0.47619	330.952	1	12	0	900	3	0	1.00000
263	502	5	0.47619	330.952	1	12	0	900	4	0	1.00000
264	502	5	0.47619	330.952	1	12	0	900	5	0	1.00000
265	502	5	0.47619	330.952	1	12	0	900	6	0	1.00000
266	503	5	0.47619	330.952	3	15	-1	700	2	0	1.00000
267	503	5	0.47619	330.952	3	15	-1	700	3	0	1.00000
268	503	5	0.47619	330.952	3	15	-1	700	4	0	1.00000
269	503	5	0.47619	330.952	3	15	-1	700	5	0	1.00000
270	503	5	0.47619	330.952	3	15	-1	700	6	0	1.00000
271	505	5	0.47619	330.952	3	18	0	200	2	0	1
272	505	5	0.47619	330.952	3	18	0	200	3	0	1
273	505	5	0.47619	330.952	3	18	0	200	4	0	1
274	505	5	0.47619	330.952	3	18	0	200	5	0	1
275	505	5	0.47619	330.952	3	18	0	200	6	0	1
276	506	5	0.47619	330.952	1	6	-1	600	2	0	1
277	506	5	0.47619	330.952	1	6	-1	600	3	0	1
278	506	5	0.47619	330.952	1	6	-1	600	4	0	1
279	506	5	0.47619	330.952	1	6	-1	600	5	0	1
280	506	5	0.47619	330.952	1	6	-1	600	6	0	1
281	507	5	0.47619	330.952	3	15	0	900	2	0	1
282	507	5	0.47619	330.952	3	15	0	900	3	0	1
283	507	5	0.47619	330.952	3	15	0	900	4	0	1
284	507	5	0.47619	330.952	3	15	0	900	5	0	1
285	507	5	0.47619	330.952	3	15	0	900	6	0	1
286	508	5	0.47619	330.952	1	21	-1	400	2	0	1
287	508	5	0.47619	330.952	1	21	-1	400	3	0	1
288	508	5	0.47619	330.952	1	21	-1	400	4	0	1
289	508	5	0.47619	330.952	1	21	-1	400	5	0	1
290	508	5	0.47619	330.952	1	21	-1	400	6	0	1
291	509	5	0.47619	330.952	1	18	0	350	2	0	1
292	509	5	0.47619	330.952	1	18	0	350	3	0	1
293	509	5	0.47619	330.952	1	18	0	350	4	0	1
294	509	5	0.47619	330.952	1	18	0	350	5	0	1
295	509	5	0.47619	330.952	1	18	0	350	6	0	1
296	510	5	0.47619	330.952	1	3	0	1000	2	0	1
297	510	5	0.47619	330.952	1	3	0	1000	3	0	1
298	510	5	0.47619	330.952	1	3	0	1000	4	0	1
299	510	5	0.47619	330.952	1	3	0	1000	5	0	1
300	510	5	0.47619	330.952	1	3	0	1000	6	0	1
301	601	6	0.74286	235.714	1	9	0	450	2	0	1
302	601	6	0.74286	235.714	1	9	0	450	3	0	1
303	601	6	0.74286	235.714	1	9	0	450	4	0	1
304	601	6	0.74286	235.714	1	9	0	450	5	0	1
305	601	6	0.74286	235.714	1	9	0	450	6	0	1
306	602	6	0.74286	235.714	3	6	0	250	2	0	1
307	602	6	0.74286	235.714	3	6	0	250	3	0	1
308	602	6	0.74286	235.714	3	6	0	250	4	0	1
309	602	6	0.74286	235.714	3	6	0	250	5	0	1
310	602	6	0.74286	235.714	3	6	0	250	6	0	1
311	603	6	0.74286	235.714	1	9	0	250	2	0	1
312	603	6	0.74286	235.714	1	9	0	250	3	0	1
313	603	6	0.74286	235.714	1	9	0	250	4	0	1
314	603	6	0.74286	235.714	1	9	0	250	5	0	1
315	603	6	0.74286	235.714	1	9	0	250	6	0	1
316	604	6	0.74286	235.714	1	4	0	350	2	0	1

Obs	Hest	Stald	Andel_ beh	EPG_bes_ start	Koen	Alder	Dosis	EPG_ start	uge	EPG	Effekt
317	604	6	0.74286	235.714	1	4	0	350	3	0	1
318	604	6	0.74286	235.714	1	4	0	350	4	0	1
319	604	6	0.74286	235.714	1	4	0	350	5	0	1
320	604	6	0.74286	235.714	1	4	0	350	6	0	1
321	606	6	0.74286	235.714	1	.	0	300	2	0	1
322	606	6	0.74286	235.714	1	.	0	300	3	0	1
323	606	6	0.74286	235.714	1	.	0	300	4	0	1
324	606	6	0.74286	235.714	1	.	0	300	5	0	1
325	606	6	0.74286	235.714	1	.	0	300	6	0	1.00000
326	607	6	0.74286	235.714	3	9	0	300	2	0	1.00000
327	607	6	0.74286	235.714	3	9	0	300	3	0	1.00000
328	607	6	0.74286	235.714	3	9	0	300	4	0	1.00000
329	607	6	0.74286	235.714	3	9	0	300	5	0	1.00000
330	607	6	0.74286	235.714	3	9	0	300	6	0	1.00000
331	610	6	0.74286	235.714	3	17	0	250	2	.	1.00000
332	610	6	0.74286	235.714	3	17	0	250	3	0	1.00000
333	610	6	0.74286	235.714	3	17	0	250	4	0	1.00000
334	610	6	0.74286	235.714	3	17	0	250	5	0	1.00000
335	610	6	0.74286	235.714	3	17	0	250	6	0	1.00000
336	611	6	0.74286	235.714	2	2		200	2	0	1.00000
337	611	6	0.74286	235.714	2	2		200	3	.	.
338	611	6	0.74286	235.714	2	2		200	4	.	.
339	611	6	0.74286	235.714	2	2		200	5	.	.
340	611	6	0.74286	235.714	2	2		200	6	0	1.00000
341	612	6	0.74286	235.714	3	4	0	635	2	0	1.00000
342	612	6	0.74286	235.714	3	4	0	635	3	.	.
343	612	6	0.74286	235.714	3	4	0	635	4	.	.
344	612	6	0.74286	235.714	3	4	0	635	5	.	.
345	612	6	0.74286	235.714	3	4	0	635	6	0	1.00000
346	613	6	0.74286	235.714	1	12	0	200	2	0	1.00000
347	613	6	0.74286	235.714	1	12	0	200	3	.	.
348	613	6	0.74286	235.714	1	12	0	200	4	.	.
349	613	6	0.74286	235.714	1	12	0	200	5	.	.
350	613	6	0.74286	235.714	1	12	0	200	6	0	1.00000
351	701	7	0.47826	263.043	3	7		1150	2	0	1.00000
352	701	7	0.47826	263.043	3	7		1150	3	0	1.00000
353	701	7	0.47826	263.043	3	7		1150	4	0	1.00000
354	701	7	0.47826	263.043	3	7		1150	5	0	1.00000
355	701	7	0.47826	263.043	3	7		1150	6	0	1.00000
356	702	7	0.47826	263.043	3	6		200	2	0	1.00000
357	702	7	0.47826	263.043	3	6		200	3	0	1.00000
358	702	7	0.47826	263.043	3	6		200	4	0	1.00000
359	702	7	0.47826	263.043	3	6		200	5	0	1.00000
360	702	7	0.47826	263.043	3	6		200	6	0	1.00000
361	703	7	0.47826	263.043	1	18		350	2	0	1.00000
362	703	7	0.47826	263.043	1	18		350	3	0	1.00000
363	703	7	0.47826	263.043	1	18		350	4	0	1.00000
364	703	7	0.47826	263.043	1	18		350	5	0	1.00000
365	703	7	0.47826	263.043	1	18		350	6	0	1.00000
366	704	7	0.47826	263.043	3	12		300	2	0	1.00000
367	704	7	0.47826	263.043	3	12		300	3	0	1.00000
368	704	7	0.47826	263.043	3	12		300	4	0	1.00000
369	704	7	0.47826	263.043	3	12		300	5	0	1.00000
370	704	7	0.47826	263.043	3	12		300	6	25	0.91667
371	705	7	0.47826	263.043	3	28		350	2	0	1.00000

Obs	Hest	Stald	Andel_ beh	EPG_bes_ start	Koen	Alder	Dosis	EPG_ start	uge	EPG	Effekt
372	705	7	0.47826	263.043	3	28		350	3	0	1.00000
373	705	7	0.47826	263.043	3	28		350	4	0	1.00000
374	705	7	0.47826	263.043	3	28		350	5	.	.
375	705	7	0.47826	263.043	3	28		350	6	0	1.00000
376	706	7	0.47826	263.043	3	22		200	2	0	1.00000
377	706	7	0.47826	263.043	3	22		200	3	0	1.00000
378	706	7	0.47826	263.043	3	22		200	4	0	1.00000
379	706	7	0.47826	263.043	3	22		200	5	0	1.00000
380	706	7	0.47826	263.043	3	22		200	6	0	1.00000
381	707	7	0.47826	263.043	1	20		200	2	0	1.00000
382	707	7	0.47826	263.043	1	20		200	3	0	1.00000
383	707	7	0.47826	263.043	1	20		200	4	0	1.00000
384	707	7	0.47826	263.043	1	20		200	5	0	1.00000
385	707	7	0.47826	263.043	1	20		200	6	0	1.00000
386	709	7	0.47826	263.043	3	3		600	2	0	1.00000
387	709	7	0.47826	263.043	3	3		600	3	0	1.00000
388	709	7	0.47826	263.043	3	3		600	4	0	1.00000
389	709	7	0.47826	263.043	3	3		600	5	0	1.00000
390	709	7	0.47826	263.043	3	3		600	6	0	1.00000
391	710	7	0.47826	263.043	3	5		400	2	0	1.00000
392	710	7	0.47826	263.043	3	5		400	3	0	1.00000
393	710	7	0.47826	263.043	3	5		400	4	0	1.00000
394	710	7	0.47826	263.043	3	5		400	5	0	1.00000
395	710	7	0.47826	263.043	3	5		400	6	0	1.00000
396	711	7	0.47826	263.043	3	16		750	2	0	1.00000
397	711	7	0.47826	263.043	3	16		750	3	0	1.00000
398	711	7	0.47826	263.043	3	16		750	4	0	1.00000
399	711	7	0.47826	263.043	3	16		750	5	100	0.86667
400	711	7	0.47826	263.043	3	16		750	6	0	1.00000
401	801	8	0.70588	247.059	1	6	0	250	2	0	1.00000
402	801	8	0.70588	247.059	1	6	0	250	3	0	1.00000
403	801	8	0.70588	247.059	1	6	0	250	4	0	1.00000
404	801	8	0.70588	247.059	1	6	0	250	5	0	1.00000
405	801	8	0.70588	247.059	1	6	0	250	6	0	1.00000
406	802	8	0.70588	247.059	1	.	-1	450	2	0	1.00000
407	802	8	0.70588	247.059	1	.	-1	450	3	0	1.00000
408	802	8	0.70588	247.059	1	.	-1	450	4	0	1.00000
409	802	8	0.70588	247.059	1	.	-1	450	5	0	1.00000
410	802	8	0.70588	247.059	1	.	-1	450	6	0	1.00000
411	803	8	0.70588	247.059	3	5		200	2	0	1.00000
412	803	8	0.70588	247.059	3	5		200	3	0	1.00000
413	803	8	0.70588	247.059	3	5		200	4	0	1.00000
414	803	8	0.70588	247.059	3	5		200	5	0	1.00000
415	803	8	0.70588	247.059	3	5		200	6	0	1.00000
416	804	8	0.70588	247.059	1	14		200	2	0	1.00000
417	804	8	0.70588	247.059	1	14		200	3	0	1.00000
418	804	8	0.70588	247.059	1	14		200	4	0	1.00000
419	804	8	0.70588	247.059	1	14		200	5	0	1.00000
420	804	8	0.70588	247.059	1	14		200	6	125	0.37500
421	806	8	0.70588	247.059	3	22		250	2	0	1.00000
422	806	8	0.70588	247.059	3	22		250	3	0	1.00000
423	806	8	0.70588	247.059	3	22		250	4	.	.
424	806	8	0.70588	247.059	3	22		250	5	0	1.00000
425	806	8	0.70588	247.059	3	22		250	6	0	1.00000
426	807	8	0.70588	247.059	1	15		300	2	0	1.00000

Obs	Hest	Stald	Andel_ beh	EPG_bes_ start	Koen	Alder	Dosis	EPG_ start	uge	EPG	Effekt
427	807	8	0.70588	247.059	1	15		300	3	0	1.00000
428	807	8	0.70588	247.059	1	15		300	4	0	1.00000
429	807	8	0.70588	247.059	1	15		300	5	0	1.00000
430	807	8	0.70588	247.059	1	15		300	6	0	1.00000
431	808	8	0.70588	247.059	1	12		400	2	0	1.00000
432	808	8	0.70588	247.059	1	12		400	3	0	1.00000
433	808	8	0.70588	247.059	1	12		400	4	0	1.0000
434	808	8	0.70588	247.059	1	12		400	5	0	1.0000
435	808	8	0.70588	247.059	1	12		400	6	0	1.0000
436	809	8	0.70588	247.059	3	8		350	2	0	1.0000
437	809	8	0.70588	247.059	3	8		350	3	0	1.0000
438	809	8	0.70588	247.059	3	8		350	4	0	1.0000
439	809	8	0.70588	247.059	3	8		350	5	0	1.0000
440	809	8	0.70588	247.059	3	8		350	6	0	1.0000
441	810	8	0.70588	247.059	3	6		300	2	0	1.0000
442	810	8	0.70588	247.059	3	6		300	3	0	1.0000
443	810	8	0.70588	247.059	3	6		300	4	0	1.0000
444	810	8	0.70588	247.059	3	6		300	5	0	1.0000
445	810	8	0.70588	247.059	3	6		300	6	0	1.0000
446	811	8	0.70588	247.059	1	7		250	2	0	1.0000
447	811	8	0.70588	247.059	1	7		250	3	0	1.0000
448	811	8	0.70588	247.059	1	7		250	4	0	1.0000
449	811	8	0.70588	247.059	1	7		250	5	0	1.0000
450	811	8	0.70588	247.059	1	7		250	6	0	1.0000
451	901	9	0.28571	171.429	1	5	0	1050	2	0	1.0000
452	901	9	0.28571	171.429	1	5	0	1050	3	0	1.0000
453	901	9	0.28571	171.429	1	5	0	1050	4	0	1.0000
454	901	9	0.28571	171.429	1	5	0	1050	5	0	1.0000
455	901	9	0.28571	171.429	1	5	0	1050	6	0	1.0000
456	902	9	0.28571	171.429	1	1		200	2	0	1.0000
457	902	9	0.28571	171.429	1	1		200	3	0	1.0000
458	902	9	0.28571	171.429	1	1		200	4	0	1.0000
459	902	9	0.28571	171.429	1	1		200	5	0	1.0000
460	902	9	0.28571	171.429	1	1		200	6	0	1.0000
461	903	9	0.28571	171.429	3	4		1000	2	0	1.0000
462	903	9	0.28571	171.429	3	4		1000	3	0	1.0000
463	903	9	0.28571	171.429	3	4		1000	4	0	1.0000
464	903	9	0.28571	171.429	3	4		1000	5	0	1.0000
465	903	9	0.28571	171.429	3	4		1000	6	0	1.0000
466	904	9	0.28571	171.429	1	1		250	2	0	1.0000
467	904	9	0.28571	171.429	1	1		250	3	.	.
468	904	9	0.28571	171.429	1	1		250	4	0	1.0000
469	904	9	0.28571	171.429	1	1		250	5	0	1.0000
470	904	9	0.28571	171.429	1	1		250	6	0	1.0000
471	905	9	0.28571	171.429	1	1		400	2	0	1.0000
472	905	9	0.28571	171.429	1	1		400	3	0	1.0000
473	905	9	0.28571	171.429	1	1		400	4	0	1.0000
474	905	9	0.28571	171.429	1	1		400	5	.	.
475	905	9	0.28571	171.429	1	1		400	6	75	0.8125
476	906	9	0.28571	171.429	1	4	0	250	2	0	1.0000
477	906	9	0.28571	171.429	1	4	0	250	3	0	1.0000
478	906	9	0.28571	171.429	1	4	0	250	4	0	1.0000
479	906	9	0.28571	171.429	1	4	0	250	5	0	1.0000
480	906	9	0.28571	171.429	1	4	0	250	6	0	1.0000

```
/* Test for normalfordeling */
proc univariate  data=infektion;
var epg effekt;
run;
```


The UNIVARIATE Procedure
Variable: EPG (EPG)

Moments

N	461	Sum Weights	461
Mean	4.71800434	Sum Observations	2175
Std Deviation	31.8919146	Variance	1017.09422
Skewness	8.14266466	Kurtosis	71.4337343
Uncorrected SS	478125	Corrected SS	467863.341
Coeff Variation	675.961961	Std Error Mean	1.48535455

Basic Statistical Measures

Location		Variability	
Mean	4.718004	Std Deviation	31.89191
Median	0.000000	Variance	1017
Mode	0.000000	Range	350.00000
		Interquartile Range	0

Tests for Location: Mu0=0

Test	-Statistic-		-----p Value------
Student's t	t 3.176349	Pr > |t|	0.0016
Sign	M 8	Pr >= |M|	<.0001
Signed Rank	S 68	Pr >= |S|	<.0001

Quantiles (Definition 5)

Quantile	Estimate
100% Max	350
99%	200
95%	0
90%	0
75% Q3	0
50% Median	0
25% Q1	0
10%	0
5%	0
1%	0
0% Min	0

Extreme Observations

----Lowest----		----Highest---	
Value	Obs	Value	Obs
0	480	200	80
0	479	200	138

The UNIVARIATE Procedure
Variable: EPG (EPG)

Extreme Observations

----Lowest----		----Highest---	
Value	Obs	Value	Obs
0	478	275	255
0	477	325	140
0	476	350	70

Missing Values

Missing Value	Count	-----Percent Of----- All Obs	Missing Obs
.	19	3.96	100.00

The UNIVARIATE Procedure
Variable: Effekt (Effekt)

Moments

N	462	Sum Weights	462
Mean	0.98761431	Sum Observations	456.27781
Std Deviation	0.08771628	Variance	0.00769415
Skewness	-8.8451183	Kurtosis	85.0203796
Uncorrected SS	454.173495	Corrected SS	3.54700137
Coeff Variation	8.88163339	Std Error Mean	0.00408093

Basic Statistical Measures

Location		Variability	
Mean	0.987614	Std Deviation	0.08772
Median	1.000000	Variance	0.00769
Mode	1.000000	Range	1.00000
		Interquartile Range	0

Tests for Location: Mu0=0

Test	-Statistic-		-----p Value------
Student's t	t 242.0071	Pr > |t|	<.0001
Sign	M 230	Pr >= |M|	<.0001
Signed Rank	S 53015	Pr >= |S|	<.0001

Quantiles (Definition 5)

Quantile	Estimate
100% Max	1.000
99%	1.000
95%	1.000
90%	1.000
75% Q3	1.000
50% Median	1.000
25% Q1	1.000
10%	1.000
5%	1.000
1%	0.375
0% Min	0.000

Extreme Observations

------Lowest------		----Highest---	
Value	Obs	Value	Obs
0.000000	140	1	476
0.000000	138	1	477

The UNIVARIATE Procedure
Variable: Effekt (Effekt)

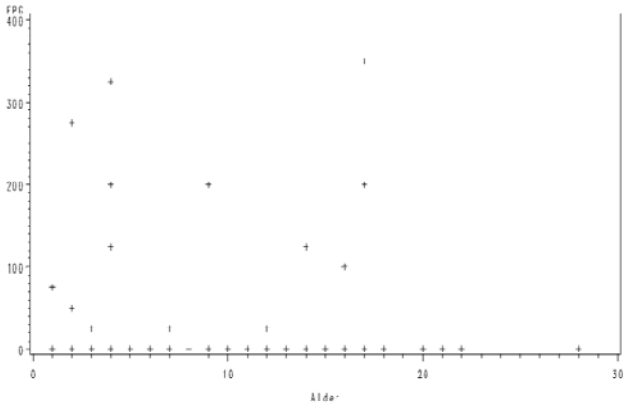
Extreme Observations

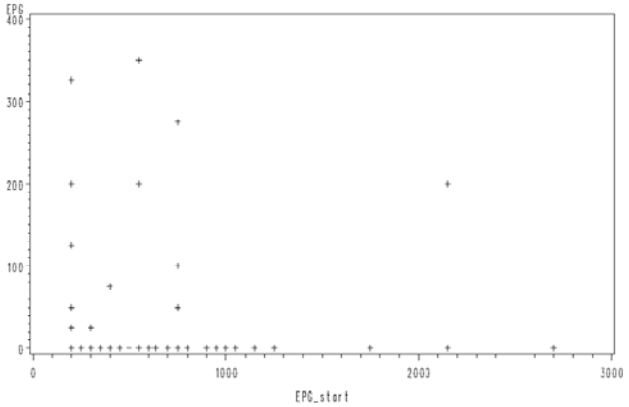
------Lowest------		----Highest---	
Value	Obs	Value	Obs
0.363636	70	1	478
0.375000	420	1	479
0.375000	139	1	480

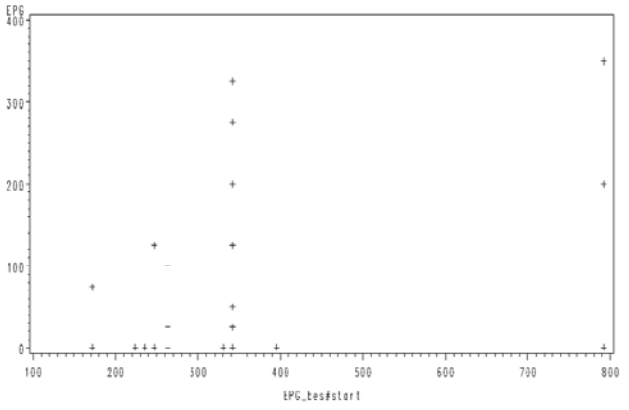
Missing Values

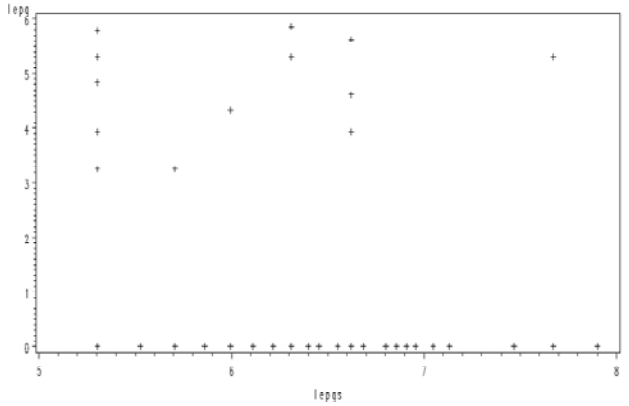
Missing Value	Count	-----Percent Of----- All Obs	Missing Obs
.	18	3.75	100.00

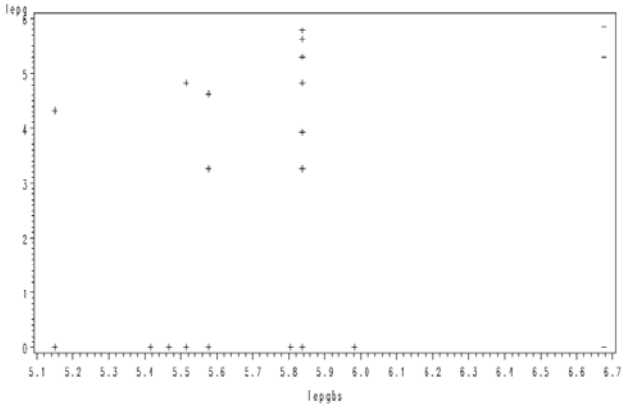
```
/* Tilføjer logaritme-transformerede målinger */
data infektion;
set infektion;
lepg=log(epg+1);
lepgs=log(epg_start+1);
lepgbs=log(epg_bes_start+1);
run;

/* Kigger på sammenhængen mellem EPG og alder */
proc gplot data=infektion;
plot epg*alder epg*epg_start epg*epg_bes_start lepg*lepgs lepg*lepgbs; /* epg på y-
aksen */
run;
quit;
/* Ikke rigtig nogen sammenhæng */
```












```
/* Modelkontrol */
proc glm data=infektion;
class dosis hest koen stald uge; /* kategoriske variable */
model lepg = epg_start epg_bes_start alder dosis|uge|koen hest stald;
output out=infektioncheck predict=pred student=stdres;
run;
quit;
```


The GLM Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Dosis	3	-1 0 1
Hest	62	101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 201 202 204 205 206 207 208 301 302 303 304 305 306 307 308 309 402 403 404 405 407 408 411 412 413 414 415 419 421 422 424 425 501 502 503 505 506 507 508 509 510 601 602 603 604 607 610 612 613 801 901 906
Koen	2	1 3
Stald	8	1 2 3 4 5 6 8 9
uge	5	2 3 4 5 6

```
Number of Observations Read         480
Number of Observations Used         300
Dependent Variable: lepg
```

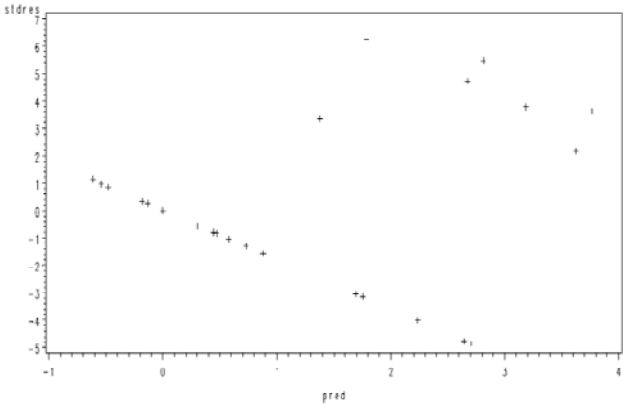
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	85	100.3061288	1.1800721	2.76	<.0001
Error	214	91.4793593	0.4274736		
Corrected Total	299	191.7854881			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	lepg Mean
0.523012	504.0967	0.653815	0.129700

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
EPG_start	1	0.00845337	0.00845337	0.02	0.8883
EPG_bes_start	1	8.49652575	8.49652575	19.88	<.0001
Alder	1	0.09308598	0.09308598	0.22	0.6412
Dosis	2	2.32666108	1.16333054	2.72	0.0681
uge	4	6.13365731	1.53341433	3.59	0.0074
Dosis*uge	8	9.57692305	1.19711538	2.80	0.0057
Koen	1	1.70259165	1.70259165	3.98	0.0472
Dosis*Koen	2	1.40260875	0.70130438	1.64	0.1963
Koen*uge	4	1.54696154	0.38674038	0.90	0.4620
Dosis*Koen*uge	8	2.15405006	0.26925626	0.63	0.7522
Hest	53	66.86461024	1.26159642	2.95	<.0001
Stald	0	0.00000000	.	.	.

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
EPG_start	0	0.00000000	.	.	.
EPG_bes_start	0	0.00000000	.	.	.
Alder	0	0.00000000	.	.	.
Dosis	0	0.00000000	.	.	.
uge	4	3.29112325	0.82278081	1.92	0.1074
Dosis*uge	8	9.90851900	1.23856488	2.90	0.0044
Koen	0	0.00000000	.	.	.
Dosis*Koen	0	0.00000000	.	.	.
Koen*uge	4	0.77757450	0.19439363	0.45	0.7689
Dosis*Koen*uge	8	2.31279432	0.28909929	0.68	0.7122
Hest	47	66.36237864	1.41196550	3.30	<.0001
Stald	0	0.00000000	.	.	.

```
proc gplot data=infektioncheck;
plot stdres*pred;
run;
quit;
/* Striben skyldes de mange 0'er ... lidt underligt plot */
```




```
/* Hierarkisk model med hest- og stald-niveauer */
/* Kaldes ofte også en mixed model fordi flere */
/* systematiske (fixed), det vi kan måle, og tilfældige (random), */
/* som vi ikke observerer direkte, faktorer */
proc mixed data=infektion;
class dosis hest koen stald uge; /* kategoriske variable */
model epg = epg_start epg_bes_start alder dosis|uge|koen; /* systematiske led */
random hest stald; /* tilfældige faktorer */
run;
```

The SAS System 19:02 Wednesday, February 18, 2009 70

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.INFEKTION
Dependent Variable	EPG
Covariance Structure	Variance Components
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	Profile
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Containment

Class Level Information

Class	Levels	Values
Dosis	3	-1 0 1
Hest	62	101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 201 202 204 205 206 207 208 301 302 303 304 305 306 307 308 309 402 403 404 405 407 408 411 412 413 414 415 419 421 422 424 425 501 502 503 505 506 507 508 509 510 601 602 603 604 607 610 612 613 801 901 906
Koen	2	1 3
Stald	8	1 2 3 4 5 6 8 9
uge	5	2 3 4 5 6

Dimensions

Covariance Parameters	3
Columns in X	75
Columns in Z	70
Subjects	1
Max Obs Per Subject	480

Number of Observations

Number of Observations Read	480
Number of Observations Used	300
Number of Observations Not Used	180

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	2734.43896824	
1	3	2709.96861229	0.00001330
2	1	2709.95340891	0.00000003
3	1	2709.95337706	0.00000000

Convergence criteria met.

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Estimate
Hest	279.15
Stald	0
Residual	831.89

Fit Statistics

-2 Res Log Likelihood	2710.0
AIC (smaller is better)	2714.0
AICC (smaller is better)	2714.0
BIC (smaller is better)	2718.2

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
EPG_start	1	214	1.33	0.2509
EPG_bes_start	1	214	4.29	0.0396
Alder	1	214	0.38	0.5403
Dosis	2	214	0.43	0.6519
uge	4	214	1.61	0.1719
Dosis*uge	8	214	2.43	0.0158
Koen	1	214	1.31	0.2534
Dosis*Koen	2	214	1.13	0.3241
Koen*uge	4	214	0.51	0.7284
Dosis*Koen*uge	8	214	0.77	0.6336

```
/* Slutmodeller */

/* Sammenligning af stalde for at finde forskelle individuelt*/
proc mixed data=infektion;
class  hest stald uge;
model epg = uge stald stald*uge;
random hest ;
lsmeans stald*uge stald/pdiff;
run;
```

The SAS System 19:02 Wednesday, February 18, 2009 72

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.INFEKTION
Dependent Variable	EPG
Covariance Structure	Variance Components
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	Profile
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Containment

Class Level Information

Class	Levels	Values
Hest	96	101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 201 202 204 205 206 207 208 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 421 422 423 424 425 429 501 502 503 505 506 507 508 509 510 601 602 603 604 606 607 610 611 612 613 701 702 703 704 705 706 707 709 710 711 801 802 803 804 806 807 808 809 810 811 901 902 903 904 905 906
Stald	9	1 2 3 4 5 6 7 8 9
uge	5	2 3 4 5 6

Dimensions

Covariance Parameters	2
Columns in X	60
Columns in Z	96
Subjects	1
Max Obs Per Subject	480

Number of Observations

Number of Observations Read	480
Number of Observations Used	461
Number of Observations Not Used	19

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	4140.74522140	

The SAS System 19:02 Wednesday, February 18, 2009 73

The Mixed Procedure

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
1	2	4103.80603979	0.00000073
2	1	4103.80482071	0.00000000

Convergence criteria met.

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Estimate
Hest	251.49
Residual	720.34

Fit Statistics

-2 Res Log Likelihood	4103.8
AIC (smaller is better)	4107.8
AICC (smaller is better)	4107.8
BIC (smaller is better)	4112.9

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
uge	4	329	4.64	0.0012
Stald	8	329	1.12	0.3482
Stald*uge	32	329	1.41	0.0747

Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	1	2	-355E-17	9.8581	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	-107E-16	9.8581	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	-711E-17	9.8581	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	5.33E-15	10.3128	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	0	9.8581	329	0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	-107E-16	11.7827	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	-124E-16	11.7827	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	-391E-16	11.7827	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	5	28.5714	11.7827	329	2.42	0.0159
Stald*uge	2	6	78.5714	11.7827	329	6.67	<.0001
Stald*uge	3	2	1.78E-15	9.8581	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	1.78E-15	9.8581	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	3.55E-15	10.3128	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	3.55E-15	9.8581	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	1.78E-14	9.8581	329	0.00	1.0000
Stald*uge	4	2	1.8466	6.6069	329	0.28	0.7800
Stald*uge	4	3	2.0697	6.4823	329	0.32	0.7497
Stald*uge	4	4	8.3333	6.3634	329	1.31	0.1913
Stald*uge	4	5	8.3333	6.3634	329	1.31	0.1913
Stald*uge	4	6	29.1667	6.3634	329	4.58	<.0001
Stald*uge	5	2	1.24E-14	10.3914	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	-178E-17	10.3914	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	7.11E-15	10.3914	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	1.42E-14	10.3914	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	1.07E-14	10.3914	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	3.55E-15	10.3147	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	-533E-17	11.5963	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	1.78E-15	11.5963	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	7.11E-15	11.5963	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	1.24E-14	9.8581	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	2	-178E-17	9.8581	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	3	-178E-17	9.8581	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	4	-178E-17	9.8581	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	5	11.0706	10.3128	329	1.07	0.2838
Stald*uge	7	6	2.5000	9.8581	329	0.25	0.8000
Stald*uge	8	2	6.43E-15	9.8581	329	0.00	1.0000
Stald*uge	8	3	-346E-17	9.8581	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	8	4	-0.2023	10.3128	329	-0.02	0.9844
Stald*uge	8	5	1.08E-14	9.8581	329	0.00	1.0000
Stald*uge	8	6	12.5000	9.8581	329	1.27	0.2057
Stald*uge	9	2	-533E-16	12.7268	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	9	3	-0.4176	13.7661	329	-0.03	0.9758
Stald*uge	9	4	1.78E-14	12.7268	329	0.00	1.0000
Stald*uge	9	5	1.8332	13.7661	329	0.13	0.8941
Stald*uge	9	6	12.5000	12.7268	329	0.98	0.3267
Stald	1		-32E-16	6.3184	329	-0.00	1.0000
Stald	2		21.4286	7.5172	329	2.85	0.0046
Stald	3		5.68E-15	6.3184	329	0.00	1.0000
Stald	4		9.9499	4.0849	329	2.44	0.0154
Stald	5		8.53E-15	6.6295	329	0.00	1.0000
Stald	6		3.91E-15	6.7635	329	0.00	1.0000
Stald	7		2.7141	6.3184	329	0.43	0.6678
Stald	8		2.4595	6.3184	329	0.39	0.6973
Stald	9		2.7831	8.2501	329	0.34	0.7361

The SAS System 19:02 Wednesday, February 18, 2009 75

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	1	2	1	3	7.11E-15	12.0029	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	1	4	3.55E-15	12.0029	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	1	5	-888E-17	12.3790	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	1	6	-355E-17	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	2	2	7.11E-15	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	2	3	8.88E-15	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	2	4	3.55E-14	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	2	5	-28.5714	15.3628	329	-1.86	0.0638
Stald*uge	1	2	2	6	-78.5714	15.3628	329	-5.11	<.0001
Stald*uge	1	2	3	2	-533E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	3	3	-533E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	3	4	-711E-17	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	3	5	-711E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	3	6	-213E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	4	2	-1.8466	11.8674	329	-0.16	0.8764
Stald*uge	1	2	4	3	-2.0697	11.7985	329	-0.18	0.8609
Stald*uge	1	2	4	4	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	1	2	4	5	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	1	2	4	6	-29.1667	11.7335	329	-2.49	0.0134
Stald*uge	1	2	5	2	-16E-15	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	5	3	-178E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	5	4	-107E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	5	5	-178E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	5	6	-142E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	6	2	-711E-17	14.2680	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	6	3	1.78E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	6	4	-533E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	6	5	-107E-16	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	6	6	-16E-15	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	7	2	-178E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	7	3	-178E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	7	4	-178E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	1	2	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578
Stald*uge	1	2	8	2	-998E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	8	3	-945E-19	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	1	2	8	5	-144E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	1	2	9	2	4.97E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	1	2	9	4	-213E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	2	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	1	2	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	1	3	1	4	-355E-17	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	1	5	-16E-15	12.3790	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	1	6	-107E-16	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	2	2	0	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	2	3	1.78E-15	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	2	4	2.84E-14	15.3628	329	0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	1	3	2	5	-28.5714	15.3628	329	-1.86	0.0638
Stald*uge	1	3	2	6	-78.5714	15.3628	329	-5.11	<.0001
Stald*uge	1	3	3	2	-124E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	3	3	-124E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	3	4	-142E-16	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	3	5	-142E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	3	6	-284E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	4	2	-1.8466	11.8674	329	-0.16	0.8764
Stald*uge	1	3	4	3	-2.0697	11.7985	329	-0.18	0.8609
Stald*uge	1	3	4	4	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	1	3	4	5	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	1	3	4	6	-29.1667	11.7335	329	-2.49	0.0134
Stald*uge	1	3	5	2	-231E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	5	3	-888E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	5	4	-178E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	5	5	-249E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	5	6	-213E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	6	2	-142E-16	14.2680	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	6	3	-533E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	6	4	-124E-16	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	6	5	-178E-16	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	6	6	-231E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	7	2	-888E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	7	3	-888E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	7	4	-888E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	1	3	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578
Stald*uge	1	3	8	2	-171E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	8	3	-72E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	1	3	8	5	-215E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	1	3	9	2	4.26E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	1	3	9	4	-284E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	3	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	1	3	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	1	4	1	5	-124E-16	12.3790	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	1	6	-711E-17	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	2	2	3.55E-15	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	2	3	5.33E-15	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	2	4	3.2E-14	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	2	5	-28.5714	15.3628	329	-1.86	0.0638
Stald*uge	1	4	2	6	-78.5714	15.3628	329	-5.11	<.0001
Stald*uge	1	4	3	2	-888E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	3	3	-888E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	3	4	-107E-16	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	3	5	-107E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	3	6	-249E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	4	2	-1.8466	11.8674	329	-0.16	0.8764

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	1	4	4	3	-2.0697	11.7985	329	-0.18	0.8609
Stald*uge	1	4	4	4	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	1	4	4	5	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	1	4	4	6	-29.1667	11.7335	329	-2.49	0.0134
Stald*uge	1	4	5	2	-195E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	5	3	-533E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	5	4	-142E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	5	5	-213E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	5	6	-178E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	6	2	-107E-16	14.2680	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	6	3	-178E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	6	4	-888E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	6	5	-142E-16	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	6	6	-195E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	7	2	-533E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	7	3	-533E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	7	4	-533E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	1	4	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578
Stald*uge	1	4	8	2	-135E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	8	3	-365E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	1	4	8	5	-179E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	1	4	9	2	4.62E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	1	4	9	4	-249E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	4	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	1	4	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	1	5	1	6	5.33E-15	12.3790	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	2	2	1.6E-14	15.6584	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	2	3	1.78E-14	15.6584	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	2	4	4.44E-14	15.6584	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	2	5	-28.5714	15.6584	329	-1.82	0.0690
Stald*uge	1	5	2	6	-78.5714	15.6584	329	-5.02	<.0001
Stald*uge	1	5	3	2	3.55E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	3	3	3.55E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	3	4	1.78E-15	14.5844	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	3	5	1.78E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	3	6	-124E-16	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	4	2	-1.8466	12.2476	329	-0.15	0.8802
Stald*uge	1	5	4	3	-2.0697	12.1809	329	-0.17	0.8652
Stald*uge	1	5	4	4	-8.3333	12.1180	329	-0.69	0.4921
Stald*uge	1	5	4	5	-8.3333	12.1180	329	-0.69	0.4921
Stald*uge	1	5	4	6	-29.1667	12.1180	329	-2.41	0.0166
Stald*uge	1	5	5	2	-711E-17	14.6402	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	5	3	7.11E-15	14.6402	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	5	4	-178E-17	14.6402	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	5	5	-888E-17	14.6402	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	5	6	-533E-17	14.6402	329	-0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	1	5	6	2	1.78E-15	14.5858	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	6	3	1.07E-14	15.5186	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	6	4	3.55E-15	15.5186	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	6	5	-178E-17	15.5186	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	6	6	-711E-17	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	7	2	7.11E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	7	3	7.11E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	7	4	7.11E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	7	5	-11.0706	14.5844	329	-0.76	0.4484
Stald*uge	1	5	7	6	-2.5000	14.2666	329	-0.18	0.8610
Stald*uge	1	5	8	2	-11E-16	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	8	3	8.79E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	8	4	0.2023	14.5844	329	0.01	0.9889
Stald*uge	1	5	8	5	-548E-17	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	8	6	-12.5000	14.2666	329	-0.88	0.3816
Stald*uge	1	5	9	2	5.86E-14	16.3806	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	9	3	0.4176	17.2005	329	0.02	0.9806
Stald*uge	1	5	9	4	-124E-16	16.3806	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	5	9	5	-1.8332	17.2005	329	-0.11	0.9152
Stald*uge	1	5	9	6	-12.5000	16.3806	329	-0.76	0.4460
Stald*uge	1	6	2	2	1.07E-14	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	2	3	1.24E-14	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	2	4	3.91E-14	15.3628	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	2	5	-28.5714	15.3628	329	-1.86	0.0638
Stald*uge	1	6	2	6	-78.5714	15.3628	329	-5.11	<.0001
Stald*uge	1	6	3	2	-178E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	3	3	-178E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	3	4	-355E-17	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	3	5	-355E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	3	6	-178E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	4	2	-1.8466	11.8674	329	-0.16	0.8764
Stald*uge	1	6	4	3	-2.0697	11.7985	329	-0.18	0.8609
Stald*uge	1	6	4	4	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	1	6	4	5	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	1	6	4	6	-29.1667	11.7335	329	-2.49	0.0134
Stald*uge	1	6	5	2	-124E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	5	3	1.78E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	5	4	-711E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	5	5	-142E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	5	6	-107E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	6	2	-355E-17	14.2680	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	6	3	5.33E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	6	4	-178E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	6	5	-711E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	6	6	-124E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	7	2	1.78E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	7	3	1.78E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	7	4	1.78E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	1	6	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	1	6	8	2	-643E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	8	3	3.46E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	1	6	8	5	-108E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	1	6	9	2	5.33E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	1	6	9	4	-178E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	1	6	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	1	6	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	2	2	2	3	1.78E-15	14.3462	329	0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	2	4	2.84E-14	14.3462	329	0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	2	5	-28.5714	14.3462	329	-1.99	0.0472
Stald*uge	2	2	2	6	-78.5714	14.3462	329	-5.48	<.0001
Stald*uge	2	2	3	2	-124E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	3	3	-124E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	3	4	-142E-16	15.6584	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	3	5	-142E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	3	6	-284E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	4	2	-1.8466	13.5087	329	-0.14	0.8914
Stald*uge	2	2	4	3	-2.0697	13.4482	329	-0.15	0.8778
Stald*uge	2	2	4	4	-8.3333	13.3913	329	-0.62	0.5342
Stald*uge	2	2	4	5	-8.3333	13.3913	329	-0.62	0.5342
Stald*uge	2	2	4	6	-29.1667	13.3913	329	-2.18	0.0301
Stald*uge	2	2	5	2	-231E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	5	3	-888E-17	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	5	4	-178E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	5	5	-249E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	5	6	-213E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	6	2	-142E-16	15.6597	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	6	3	-533E-17	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	6	4	-124E-16	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	6	5	-178E-16	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	6	6	-231E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	7	2	-888E-17	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	7	3	-888E-17	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	7	4	-888E-17	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	7	5	-11.0706	15.6584	329	-0.71	0.4801
Stald*uge	2	2	7	6	-2.5000	15.3628	329	-0.16	0.8708
Stald*uge	2	2	8	2	-171E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	8	3	-72E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	8	4	0.2023	15.6584	329	0.01	0.9897
Stald*uge	2	2	8	5	-215E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	8	6	-12.5000	15.3628	329	-0.81	0.4164
Stald*uge	2	2	9	2	4.26E-14	17.3437	329	0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	9	3	0.4176	18.1201	329	0.02	0.9816
Stald*uge	2	2	9	4	-284E-16	17.3437	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	2	9	5	-1.8332	18.1201	329	-0.10	0.9195
Stald*uge	2	2	9	6	-12.5000	17.3437	329	-0.72	0.4716
Stald*uge	2	3	2	4	2.66E-14	14.3462	329	0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	2	3	2	5	-28.5714	14.3462	329	-1.99	0.0472
Stald*uge	2	3	2	6	-78.5714	14.3462	329	-5.48	<.0001
Stald*uge	2	3	3	2	-142E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	3	3	-142E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	3	4	-16E-15	15.6584	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	3	5	-16E-15	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	3	6	-302E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	4	2	-1.8466	13.5087	329	-0.14	0.8914
Stald*uge	2	3	4	3	-2.0697	13.4482	329	-0.15	0.8778
Stald*uge	2	3	4	4	-8.3333	13.3913	329	-0.62	0.5342
Stald*uge	2	3	4	5	-8.3333	13.3913	329	-0.62	0.5342
Stald*uge	2	3	4	6	-29.1667	13.3913	329	-2.18	0.0301
Stald*uge	2	3	5	2	-249E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	5	3	-107E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	5	4	-195E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	5	5	-266E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	5	6	-231E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	6	2	-16E-15	15.6597	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	6	3	-711E-17	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	6	4	-142E-16	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	6	5	-195E-16	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	6	6	-249E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	7	2	-107E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	7	3	-107E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	7	4	-107E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	7	5	-11.0706	15.6584	329	-0.71	0.4801
Stald*uge	2	3	7	6	-2.5000	15.3628	329	-0.16	0.8708
Stald*uge	2	3	8	2	-189E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	8	3	-898E-17	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	8	4	0.2023	15.6584	329	0.01	0.9897
Stald*uge	2	3	8	5	-232E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	8	6	-12.5000	15.3628	329	-0.81	0.4164
Stald*uge	2	3	9	2	4.09E-14	17.3437	329	0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	9	3	0.4176	18.1201	329	0.02	0.9816
Stald*uge	2	3	9	4	-302E-16	17.3437	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	3	9	5	-1.8332	18.1201	329	-0.10	0.9195
Stald*uge	2	3	9	6	-12.5000	17.3437	329	-0.72	0.4716
Stald*uge	2	4	2	5	-28.5714	14.3462	329	-1.99	0.0472
Stald*uge	2	4	2	6	-78.5714	14.3462	329	-5.48	<.0001
Stald*uge	2	4	3	2	-409E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	3	3	-409E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	3	4	-426E-16	15.6584	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	3	5	-426E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	3	6	-568E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	4	2	-1.8466	13.5087	329	-0.14	0.8914
Stald*uge	2	4	4	3	-2.0697	13.4482	329	-0.15	0.8778
Stald*uge	2	4	4	4	-8.3333	13.3913	329	-0.62	0.5342
Stald*uge	2	4	4	5	-8.3333	13.3913	329	-0.62	0.5342
Stald*uge	2	4	4	6	-29.1667	13.3913	329	-2.18	0.0301
Stald*uge	2	4	5	2	-515E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	2	4	5	3	-373E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	5	4	-462E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	5	5	-533E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	5	6	-497E-16	15.7103	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	6	2	-426E-16	15.6597	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	6	3	-338E-16	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	6	4	-409E-16	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	6	5	-462E-16	16.5320	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	6	6	-515E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	7	2	-373E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	7	3	-373E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	7	4	-373E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	7	5	-11.0706	15.6584	329	-0.71	0.4801
Stald*uge	2	4	7	6	-2.5000	15.3628	329	-0.16	0.8708
Stald*uge	2	4	8	2	-455E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	8	3	-356E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	8	4	0.2023	15.6584	329	0.01	0.9897
Stald*uge	2	4	8	5	-499E-16	15.3628	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	8	6	-12.5000	15.3628	329	-0.81	0.4164
Stald*uge	2	4	9	2	1.42E-14	17.3437	329	0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	9	3	0.4176	18.1201	329	0.02	0.9816
Stald*uge	2	4	9	4	-568E-16	17.3437	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	2	4	9	5	-1.8332	18.1201	329	-0.10	0.9195
Stald*uge	2	4	9	6	-12.5000	17.3437	329	-0.72	0.4716
Stald*uge	2	5	2	6	-50.0000	14.3462	329	-3.49	0.0006
Stald*uge	2	5	3	2	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	3	3	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	3	4	28.5714	15.6584	329	1.82	0.0690
Stald*uge	2	5	3	5	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	3	6	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	4	2	26.7248	13.5087	329	1.98	0.0487
Stald*uge	2	5	4	3	26.5017	13.4482	329	1.97	0.0496
Stald*uge	2	5	4	4	20.2381	13.3913	329	1.51	0.1317
Stald*uge	2	5	4	5	20.2381	13.3913	329	1.51	0.1317
Stald*uge	2	5	4	6	-0.5952	13.3913	329	-0.04	0.9646
Stald*uge	2	5	5	2	28.5714	15.7103	329	1.82	0.0699
Stald*uge	2	5	5	3	28.5714	15.7103	329	1.82	0.0699
Stald*uge	2	5	5	4	28.5714	15.7103	329	1.82	0.0699
Stald*uge	2	5	5	5	28.5714	15.7103	329	1.82	0.0699
Stald*uge	2	5	5	6	28.5714	15.7103	329	1.82	0.0699
Stald*uge	2	5	6	2	28.5714	15.6597	329	1.82	0.0690
Stald*uge	2	5	6	3	28.5714	16.5320	329	1.73	0.0849
Stald*uge	2	5	6	4	28.5714	16.5320	329	1.73	0.0849
Stald*uge	2	5	6	5	28.5714	16.5320	329	1.73	0.0849
Stald*uge	2	5	6	6	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	7	2	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	7	3	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	7	4	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	7	5	17.5008	15.6584	329	1.12	0.2645
Stald*uge	2	5	7	6	26.0714	15.3628	329	1.70	0.0906

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	2	5	8	2	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	8	3	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	8	4	28.7738	15.6584	329	1.84	0.0670
Stald*uge	2	5	8	5	28.5714	15.3628	329	1.86	0.0638
Stald*uge	2	5	8	6	16.0714	15.3628	329	1.05	0.2963
Stald*uge	2	5	9	2	28.5714	17.3437	329	1.65	0.1004
Stald*uge	2	5	9	3	28.9890	18.1201	329	1.60	0.1106
Stald*uge	2	5	9	4	28.5714	17.3437	329	1.65	0.1004
Stald*uge	2	5	9	5	26.7383	18.1201	329	1.48	0.1410
Stald*uge	2	5	9	6	16.0714	17.3437	329	0.93	0.3548
Stald*uge	2	6	3	2	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	3	3	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	3	4	78.5714	15.6584	329	5.02	<.0001
Stald*uge	2	6	3	5	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	3	6	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	4	2	76.7248	13.5087	329	5.68	<.0001
Stald*uge	2	6	4	3	76.5017	13.4482	329	5.69	<.0001
Stald*uge	2	6	4	4	70.2381	13.3913	329	5.25	<.0001
Stald*uge	2	6	4	5	70.2381	13.3913	329	5.25	<.0001
Stald*uge	2	6	4	6	49.4048	13.3913	329	3.69	0.0003
Stald*uge	2	6	5	2	78.5714	15.7103	329	5.00	<.0001
Stald*uge	2	6	5	3	78.5714	15.7103	329	5.00	<.0001
Stald*uge	2	6	5	4	78.5714	15.7103	329	5.00	<.0001
Stald*uge	2	6	5	5	78.5714	15.7103	329	5.00	<.0001
Stald*uge	2	6	5	6	78.5714	15.7103	329	5.00	<.0001
Stald*uge	2	6	6	2	78.5714	15.6597	329	5.02	<.0001
Stald*uge	2	6	6	3	78.5714	16.5320	329	4.75	<.0001
Stald*uge	2	6	6	4	78.5714	16.5320	329	4.75	<.0001
Stald*uge	2	6	6	5	78.5714	16.5320	329	4.75	<.0001
Stald*uge	2	6	6	6	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	7	2	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	7	3	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	7	4	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	7	5	67.5008	15.6584	329	4.31	<.0001
Stald*uge	2	6	7	6	76.0714	15.3628	329	4.95	<.0001
Stald*uge	2	6	8	2	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	8	3	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	8	4	78.7738	15.6584	329	5.03	<.0001
Stald*uge	2	6	8	5	78.5714	15.3628	329	5.11	<.0001
Stald*uge	2	6	8	6	66.0714	15.3628	329	4.30	<.0001
Stald*uge	2	6	9	2	78.5714	17.3437	329	4.53	<.0001
Stald*uge	2	6	9	3	78.9890	18.1201	329	4.36	<.0001
Stald*uge	2	6	9	4	78.5714	17.3437	329	4.53	<.0001
Stald*uge	2	6	9	5	76.7383	18.1201	329	4.23	<.0001
Stald*uge	2	6	9	6	66.0714	17.3437	329	3.81	0.0002
Stald*uge	3	2	3	3	0	12.0029	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	3	4	-178E-17	12.3790	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	3	5	-178E-17	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	3	6	-16E-15	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	4	2	-1.8466	11.8674	329	-0.16	0.8764

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	3	2	4	3	-2.0697	11.7985	329	-0.18	0.8609
Stald*uge	3	2	4	4	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	3	2	4	5	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	3	2	4	6	-29.1667	11.7335	329	-2.49	0.0134
Stald*uge	3	2	5	2	-107E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	5	3	3.55E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	5	4	-533E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	5	5	-124E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	5	6	-888E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	6	2	-178E-17	14.2680	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	6	3	7.11E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	6	4	0	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	6	5	-533E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	6	6	-107E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	7	2	3.55E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	7	3	3.55E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	7	4	3.55E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	3	2	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578
Stald*uge	3	2	8	2	-466E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	8	3	5.23E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	3	2	8	5	-903E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	3	2	9	2	5.51E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	3	2	9	4	-16E-15	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	2	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	3	2	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	3	3	3	4	-178E-17	12.3790	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	3	5	-178E-17	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	3	6	-16E-15	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	4	2	-1.8466	11.8674	329	-0.16	0.8764
Stald*uge	3	3	4	3	-2.0697	11.7985	329	-0.18	0.8609
Stald*uge	3	3	4	4	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	3	3	4	5	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	3	3	4	6	-29.1667	11.7335	329	-2.49	0.0134
Stald*uge	3	3	5	2	-107E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	5	3	3.55E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	5	4	-533E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	5	5	-124E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	5	6	-888E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	6	2	-178E-17	14.2680	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	6	3	7.11E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	6	4	0	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	6	5	-533E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	6	6	-107E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	7	2	3.55E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	7	3	3.55E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	7	4	3.55E-15	13.9415	329	0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	3	3	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	3	3	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578
Stald*uge	3	3	8	2	-466E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	8	3	5.23E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	3	3	8	5	-903E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	3	3	9	2	5.51E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	3	3	9	4	-16E-15	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	3	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	3	3	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	3	4	3	5	0	12.3790	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	3	6	-142E-16	12.3790	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	4	2	-1.8466	12.2476	329	-0.15	0.8802
Stald*uge	3	4	4	3	-2.0697	12.1809	329	-0.17	0.8652
Stald*uge	3	4	4	4	-8.3333	12.1180	329	-0.69	0.4921
Stald*uge	3	4	4	5	-8.3333	12.1180	329	-0.69	0.4921
Stald*uge	3	4	4	6	-29.1667	12.1180	329	-2.41	0.0166
Stald*uge	3	4	5	2	-888E-17	14.6402	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	5	3	5.33E-15	14.6402	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	5	4	-355E-17	14.6402	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	5	5	-107E-16	14.6402	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	5	6	-711E-17	14.6402	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	6	2	0	14.5858	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	6	3	8.88E-15	15.5186	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	6	4	1.78E-15	15.5186	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	6	5	-355E-17	15.5186	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	6	6	-888E-17	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	7	2	5.33E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	7	3	5.33E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	7	4	5.33E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	7	5	-11.0706	14.5844	329	-0.76	0.4484
Stald*uge	3	4	7	6	-2.5000	14.2666	329	-0.18	0.8610
Stald*uge	3	4	8	2	-288E-17	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	8	3	7.01E-15	14.2666	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	8	4	0.2023	14.5844	329	0.01	0.9889
Stald*uge	3	4	8	5	-726E-17	14.2666	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	8	6	-12.5000	14.2666	329	-0.88	0.3816
Stald*uge	3	4	9	2	5.68E-14	16.3806	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	9	3	0.4176	17.2005	329	0.02	0.9806
Stald*uge	3	4	9	4	-142E-16	16.3806	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	4	9	5	-1.8332	17.2005	329	-0.11	0.9152
Stald*uge	3	4	9	6	-12.5000	16.3806	329	-0.76	0.4460
Stald*uge	3	5	3	6	-142E-16	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	4	2	-1.8466	11.8674	329	-0.16	0.8764
Stald*uge	3	5	4	3	-2.0697	11.7985	329	-0.18	0.8609
Stald*uge	3	5	4	4	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	3	5	4	5	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	3	5	4	6	-29.1667	11.7335	329	-2.49	0.0134

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	3	5	5	2	-888E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	5	3	5.33E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	5	4	-355E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	5	5	-107E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	5	6	-711E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	6	2	0	14.2680	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	6	3	8.88E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	6	4	1.78E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	6	5	-355E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	6	6	-888E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	7	2	5.33E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	7	3	5.33E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	7	4	5.33E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	3	5	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578
Stald*uge	3	5	8	2	-288E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	8	3	7.01E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	3	5	8	5	-726E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	3	5	9	2	5.68E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	3	5	9	4	-142E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	3	5	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	3	5	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	3	6	4	2	-1.8466	11.8674	329	-0.16	0.8764
Stald*uge	3	6	4	3	-2.0697	11.7985	329	-0.18	0.8609
Stald*uge	3	6	4	4	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	3	6	4	5	-8.3333	11.7335	329	-0.71	0.4781
Stald*uge	3	6	4	6	-29.1667	11.7335	329	-2.49	0.0134
Stald*uge	3	6	5	2	5.33E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	5	3	1.95E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	5	4	1.07E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	5	5	3.55E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	5	6	7.11E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	6	2	1.42E-14	14.2680	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	6	3	2.31E-14	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	6	4	1.6E-14	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	6	5	1.07E-14	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	6	6	5.33E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	7	2	1.95E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	7	3	1.95E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	7	4	1.95E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	3	6	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578
Stald*uge	3	6	8	2	1.13E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	8	3	2.12E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	3	6	8	5	6.96E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	3	6	9	2	7.11E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	3	6	9	4	0	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	3	6	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	3	6	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	4	2	4	3	-0.2231	8.0168	329	-0.03	0.9778
Stald*uge	4	2	4	4	-6.4867	7.9490	329	-0.82	0.4151
Stald*uge	4	2	4	5	-6.4867	7.9490	329	-0.82	0.4151
Stald*uge	4	2	4	6	-27.3201	7.9490	329	-3.44	0.0007
Stald*uge	4	2	5	2	1.8466	12.3139	329	0.15	0.8809
Stald*uge	4	2	5	3	1.8466	12.3139	329	0.15	0.8809
Stald*uge	4	2	5	4	1.8466	12.3139	329	0.15	0.8809
Stald*uge	4	2	5	5	1.8466	12.3139	329	0.15	0.8809
Stald*uge	4	2	5	6	1.8466	12.3139	329	0.15	0.8809
Stald*uge	4	2	6	2	1.8466	12.2492	329	0.15	0.8803
Stald*uge	4	2	6	3	1.8466	13.3463	329	0.14	0.8900
Stald*uge	4	2	6	4	1.8466	13.3463	329	0.14	0.8900
Stald*uge	4	2	6	5	1.8466	13.3463	329	0.14	0.8900
Stald*uge	4	2	6	6	1.8466	11.8674	329	0.16	0.8764
Stald*uge	4	2	7	2	1.8466	11.8674	329	0.16	0.8764
Stald*uge	4	2	7	3	1.8466	11.8674	329	0.16	0.8764
Stald*uge	4	2	7	4	1.8466	11.8674	329	0.16	0.8764
Stald*uge	4	2	7	5	-9.2240	12.2476	329	-0.75	0.4519
Stald*uge	4	2	7	6	-0.6534	11.8674	329	-0.06	0.9561
Stald*uge	4	2	8	2	1.8466	11.8674	329	0.16	0.8764
Stald*uge	4	2	8	3	1.8466	11.8674	329	0.16	0.8764
Stald*uge	4	2	8	4	2.0489	12.2476	329	0.17	0.8672
Stald*uge	4	2	8	5	1.8466	11.8674	329	0.16	0.8764
Stald*uge	4	2	8	6	-10.6534	11.8674	329	-0.90	0.3700
Stald*uge	4	2	9	2	1.8466	14.3396	329	0.13	0.8976
Stald*uge	4	2	9	3	2.2642	15.2695	329	0.15	0.8822
Stald*uge	4	2	9	4	1.8466	14.3396	329	0.13	0.8976
Stald*uge	4	2	9	5	0.01344	15.2695	329	0.00	0.9993
Stald*uge	4	2	9	6	-10.6534	14.3396	329	-0.74	0.4581
Stald*uge	4	3	4	4	-6.2636	7.8458	329	-0.80	0.4252
Stald*uge	4	3	4	5	-6.2636	7.8458	329	-0.80	0.4252
Stald*uge	4	3	4	6	-27.0969	7.8458	329	-3.45	0.0006
Stald*uge	4	3	5	2	2.0697	12.2475	329	0.17	0.8659
Stald*uge	4	3	5	3	2.0697	12.2475	329	0.17	0.8659
Stald*uge	4	3	5	4	2.0697	12.2475	329	0.17	0.8659
Stald*uge	4	3	5	5	2.0697	12.2475	329	0.17	0.8659
Stald*uge	4	3	5	6	2.0697	12.2475	329	0.17	0.8659
Stald*uge	4	3	6	2	2.0697	12.1825	329	0.17	0.8652
Stald*uge	4	3	6	3	2.0697	13.2851	329	0.16	0.8763
Stald*uge	4	3	6	4	2.0697	13.2851	329	0.16	0.8763
Stald*uge	4	3	6	5	2.0697	13.2851	329	0.16	0.8763
Stald*uge	4	3	6	6	2.0697	11.7985	329	0.18	0.8609
Stald*uge	4	3	7	2	2.0697	11.7985	329	0.18	0.8609
Stald*uge	4	3	7	3	2.0697	11.7985	329	0.18	0.8609
Stald*uge	4	3	7	4	2.0697	11.7985	329	0.18	0.8609

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	4	3	7	5	-9.0009	12.1809	329	-0.74	0.4605
Stald*uge	4	3	7	6	-0.4303	11.7985	329	-0.04	0.9709
Stald*uge	4	3	8	2	2.0697	11.7985	329	0.18	0.8609
Stald*uge	4	3	8	3	2.0697	11.7985	329	0.18	0.8609
Stald*uge	4	3	8	4	2.2721	12.1809	329	0.19	0.8521
Stald*uge	4	3	8	5	2.0697	11.7985	329	0.18	0.8609
Stald*uge	4	3	8	6	-10.4303	11.7985	329	-0.88	0.3773
Stald*uge	4	3	9	2	2.0697	14.2826	329	0.14	0.8849
Stald*uge	4	3	9	3	2.4874	15.2159	329	0.16	0.8702
Stald*uge	4	3	9	4	2.0697	14.2826	329	0.14	0.8849
Stald*uge	4	3	9	5	0.2366	15.2159	329	0.02	0.9876
Stald*uge	4	3	9	6	-10.4303	14.2826	329	-0.73	0.4657
Stald*uge	4	4	4	5	-711E-17	7.7478	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	4	4	4	6	-20.8333	7.7478	329	-2.69	0.0075
Stald*uge	4	4	5	2	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	4	5	3	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	4	5	4	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	4	5	5	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	4	5	6	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	4	6	2	8.3333	12.1196	329	0.69	0.4922
Stald*uge	4	4	6	3	8.3333	13.2275	329	0.63	0.5291
Stald*uge	4	4	6	4	8.3333	13.2275	329	0.63	0.5291
Stald*uge	4	4	6	5	8.3333	13.2275	329	0.63	0.5291
Stald*uge	4	4	6	6	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	4	7	2	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	4	7	3	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	4	7	4	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	4	7	5	-2.7373	12.1180	329	-0.23	0.8214
Stald*uge	4	4	7	6	5.8333	11.7335	329	0.50	0.6194
Stald*uge	4	4	8	2	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	4	8	3	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	4	8	4	8.5357	12.1180	329	0.70	0.4817
Stald*uge	4	4	8	5	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	4	8	6	-4.1667	11.7335	329	-0.36	0.7227
Stald*uge	4	4	9	2	8.3333	14.2290	329	0.59	0.5585
Stald*uge	4	4	9	3	8.7509	15.1657	329	0.58	0.5643
Stald*uge	4	4	9	4	8.3333	14.2290	329	0.59	0.5585
Stald*uge	4	4	9	5	6.5002	15.1657	329	0.43	0.6685
Stald*uge	4	4	9	6	-4.1667	14.2290	329	-0.29	0.7698
Stald*uge	4	5	4	6	-20.8333	7.7478	329	-2.69	0.0075
Stald*uge	4	5	5	2	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	5	5	3	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	5	5	4	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	5	5	5	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	5	5	6	8.3333	12.1850	329	0.68	0.4945
Stald*uge	4	5	6	2	8.3333	12.1196	329	0.69	0.4922
Stald*uge	4	5	6	3	8.3333	13.2275	329	0.63	0.5291
Stald*uge	4	5	6	4	8.3333	13.2275	329	0.63	0.5291
Stald*uge	4	5	6	5	8.3333	13.2275	329	0.63	0.5291
Stald*uge	4	5	6	6	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	4	5	7	2	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	5	7	3	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	5	7	4	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	5	7	5	-2.7373	12.1180	329	-0.23	0.8214
Stald*uge	4	5	7	6	5.8333	11.7335	329	0.50	0.6194
Stald*uge	4	5	8	2	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	5	8	3	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	5	8	4	8.5357	12.1180	329	0.70	0.4817
Stald*uge	4	5	8	5	8.3333	11.7335	329	0.71	0.4781
Stald*uge	4	5	8	6	-4.1667	11.7335	329	-0.36	0.7227
Stald*uge	4	5	9	2	8.3333	14.2290	329	0.59	0.5585
Stald*uge	4	5	9	3	8.7509	15.1657	329	0.58	0.5643
Stald*uge	4	5	9	4	8.3333	14.2290	329	0.59	0.5585
Stald*uge	4	5	9	5	6.5002	15.1657	329	0.43	0.6685
Stald*uge	4	5	9	6	-4.1667	14.2290	329	-0.29	0.7698
Stald*uge	4	6	5	2	29.1667	12.1850	329	2.39	0.0172
Stald*uge	4	6	5	3	29.1667	12.1850	329	2.39	0.0172
Stald*uge	4	6	5	4	29.1667	12.1850	329	2.39	0.0172
Stald*uge	4	6	5	5	29.1667	12.1850	329	2.39	0.0172
Stald*uge	4	6	5	6	29.1667	12.1850	329	2.39	0.0172
Stald*uge	4	6	6	2	29.1667	12.1196	329	2.41	0.0167
Stald*uge	4	6	6	3	29.1667	13.2275	329	2.21	0.0281
Stald*uge	4	6	6	4	29.1667	13.2275	329	2.21	0.0281
Stald*uge	4	6	6	5	29.1667	13.2275	329	2.21	0.0281
Stald*uge	4	6	6	6	29.1667	11.7335	329	2.49	0.0134
Stald*uge	4	6	7	2	29.1667	11.7335	329	2.49	0.0134
Stald*uge	4	6	7	3	29.1667	11.7335	329	2.49	0.0134
Stald*uge	4	6	7	4	29.1667	11.7335	329	2.49	0.0134
Stald*uge	4	6	7	5	18.0960	12.1180	329	1.49	0.1363
Stald*uge	4	6	7	6	26.6667	11.7335	329	2.27	0.0237
Stald*uge	4	6	8	2	29.1667	11.7335	329	2.49	0.0134
Stald*uge	4	6	8	3	29.1667	11.7335	329	2.49	0.0134
Stald*uge	4	6	8	4	29.3690	12.1180	329	2.42	0.0159
Stald*uge	4	6	8	5	29.1667	11.7335	329	2.49	0.0134
Stald*uge	4	6	8	6	16.6667	11.7335	329	1.42	0.1564
Stald*uge	4	6	9	2	29.1667	14.2290	329	2.05	0.0412
Stald*uge	4	6	9	3	29.5843	15.1657	329	1.95	0.0519
Stald*uge	4	6	9	4	29.1667	14.2290	329	2.05	0.0412
Stald*uge	4	6	9	5	27.3335	15.1657	329	1.80	0.0724
Stald*uge	4	6	9	6	16.6667	14.2290	329	1.17	0.2423
Stald*uge	5	2	5	3	1.42E-14	12.6521	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	5	4	5.33E-15	12.6521	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	5	5	-178E-17	12.6521	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	5	6	1.78E-15	12.6521	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	6	2	8.88E-15	14.6415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	6	3	1.78E-14	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	6	4	1.07E-14	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	6	5	5.33E-15	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	6	6	0	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	7	2	1.42E-14	14.3236	329	0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	5	2	7	3	1.42E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	7	4	1.42E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	7	5	-11.0706	14.6402	329	-0.76	0.4501
Stald*uge	5	2	7	6	-2.5000	14.3236	329	-0.17	0.8616
Stald*uge	5	2	8	2	6E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	8	3	1.59E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	8	4	0.2023	14.6402	329	0.01	0.9890
Stald*uge	5	2	8	5	1.63E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	8	6	-12.5000	14.3236	329	-0.87	0.3835
Stald*uge	5	2	9	2	6.57E-14	16.4302	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	9	3	0.4176	17.2478	329	0.02	0.9807
Stald*uge	5	2	9	4	-533E-17	16.4302	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	2	9	5	-1.8332	17.2478	329	-0.11	0.9154
Stald*uge	5	2	9	6	-12.5000	16.4302	329	-0.76	0.4473
Stald*uge	5	3	5	4	-888E-17	12.6521	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	5	5	-16E-15	12.6521	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	5	6	-124E-16	12.6521	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	6	2	-533E-17	14.6415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	6	3	3.55E-15	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	6	4	-355E-17	15.5709	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	6	5	-888E-17	15.5709	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	6	6	-142E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	7	2	0	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	7	3	0	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	7	4	0	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	7	5	-11.0706	14.6402	329	-0.76	0.4501
Stald*uge	5	3	7	6	-2.5000	14.3236	329	-0.17	0.8616
Stald*uge	5	3	8	2	-821E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	8	3	1.68E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	8	4	0.2023	14.6402	329	0.01	0.9890
Stald*uge	5	3	8	5	-126E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	8	6	-12.5000	14.3236	329	-0.87	0.3835
Stald*uge	5	3	9	2	5.15E-14	16.4302	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	9	3	0.4176	17.2478	329	0.02	0.9807
Stald*uge	5	3	9	4	-195E-16	16.4302	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	3	9	5	-1.8332	17.2478	329	-0.11	0.9154
Stald*uge	5	3	9	6	-12.5000	16.4302	329	-0.76	0.4473
Stald*uge	5	4	5	5	-711E-17	12.6521	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	5	6	-355E-17	12.6521	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	6	2	3.55E-15	14.6415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	6	3	1.24E-14	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	6	4	5.33E-15	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	6	5	0	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	6	6	-533E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	7	2	8.88E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	7	3	8.88E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	7	4	8.88E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	7	5	-11.0706	14.6402	329	-0.76	0.4501
Stald*uge	5	4	7	6	-2.5000	14.3236	329	-0.17	0.8616
Stald*uge	5	4	8	2	6.74E-16	14.3236	329	0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	5	4	8	3	1.06E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	8	4	0.2023	14.6402	329	0.01	0.9890
Stald*uge	5	4	8	5	-37E-16	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	8	6	-12.5000	14.3236	329	-0.87	0.3835
Stald*uge	5	4	9	2	6.04E-14	16.4302	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	9	3	0.4176	17.2478	329	0.02	0.9807
Stald*uge	5	4	9	4	-107E-16	16.4302	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	4	9	5	-1.8332	17.2478	329	-0.11	0.9154
Stald*uge	5	4	9	6	-12.5000	16.4302	329	-0.76	0.4473
Stald*uge	5	5	5	6	3.55E-15	12.6521	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	6	2	1.07E-14	14.6415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	6	3	1.95E-14	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	6	4	1.24E-14	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	6	5	7.11E-15	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	6	6	1.78E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	7	2	1.6E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	7	3	1.6E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	7	4	1.6E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	7	5	-11.0706	14.6402	329	-0.76	0.4501
Stald*uge	5	5	7	6	-2.5000	14.3236	329	-0.17	0.8616
Stald*uge	5	5	8	2	7.78E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	8	3	1.77E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	8	4	0.2023	14.6402	329	0.01	0.9890
Stald*uge	5	5	8	5	3.4E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	8	6	-12.5000	14.3236	329	-0.87	0.3835
Stald*uge	5	5	9	2	6.75E-14	16.4302	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	9	3	0.4176	17.2478	329	0.02	0.9807
Stald*uge	5	5	9	4	-355E-17	16.4302	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	5	9	5	-1.8332	17.2478	329	-0.11	0.9154
Stald*uge	5	5	9	6	-12.5000	16.4302	329	-0.76	0.4473
Stald*uge	5	6	6	2	7.11E-15	14.6415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	6	3	1.6E-14	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	6	4	8.88E-15	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	6	5	3.55E-15	15.5709	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	6	6	-178E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	7	2	1.24E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	7	3	1.24E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	7	4	1.24E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	7	5	-11.0706	14.6402	329	-0.76	0.4501
Stald*uge	5	6	7	6	-2.5000	14.3236	329	-0.17	0.8616
Stald*uge	5	6	8	2	4.23E-15	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	8	3	1.41E-14	14.3236	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	8	4	0.2023	14.6402	329	0.01	0.9890
Stald*uge	5	6	8	5	-15E-17	14.3236	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	8	6	-12.5000	14.3236	329	-0.87	0.3835
Stald*uge	5	6	9	2	6.39E-14	16.4302	329	0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	9	3	0.4176	17.2478	329	0.02	0.9807
Stald*uge	5	6	9	4	-711E-17	16.4302	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	5	6	9	5	-1.8332	17.2478	329	-0.11	0.9154
Stald*uge	5	6	9	6	-12.5000	16.4302	329	-0.76	0.4473

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	6	2	6	3	8.88E-15	13.8633	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	6	4	1.78E-15	13.8633	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	6	5	-355E-17	13.8633	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	6	6	-888E-17	12.3806	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	7	2	5.33E-15	14.2680	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	7	3	5.33E-15	14.2680	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	7	4	5.33E-15	14.2680	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	7	5	-11.0706	14.5858	329	-0.76	0.4484
Stald*uge	6	2	7	6	-2.5000	14.2680	329	-0.18	0.8610
Stald*uge	6	2	8	2	-288E-17	14.2680	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	8	3	7.01E-15	14.2680	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	8	4	0.2023	14.5858	329	0.01	0.9889
Stald*uge	6	2	8	5	-726E-17	14.2680	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	8	6	-12.5000	14.2680	329	-0.88	0.3816
Stald*uge	6	2	9	2	5.68E-14	16.3818	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	9	3	0.4176	17.2017	329	0.02	0.9806
Stald*uge	6	2	9	4	-142E-16	16.3818	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	2	9	5	-1.8332	17.2017	329	-0.11	0.9152
Stald*uge	6	2	9	6	-12.5000	16.3818	329	-0.76	0.4460
Stald*uge	6	3	6	4	-711E-17	14.3462	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	6	5	-124E-16	14.3462	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	6	6	-178E-16	13.4670	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	7	2	-355E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	7	3	-355E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	7	4	-355E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	7	5	-11.0706	15.5186	329	-0.71	0.4761
Stald*uge	6	3	7	6	-2.5000	15.2203	329	-0.16	0.8696
Stald*uge	6	3	8	2	-118E-16	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	8	3	-187E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	8	4	0.2023	15.5186	329	0.01	0.9896
Stald*uge	6	3	8	5	-161E-16	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	8	6	-12.5000	15.2203	329	-0.82	0.4121
Stald*uge	6	3	9	2	4.8E-14	17.2176	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	9	3	0.4176	17.9994	329	0.02	0.9815
Stald*uge	6	3	9	4	-231E-16	17.2176	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	3	9	5	-1.8332	17.9994	329	-0.10	0.9189
Stald*uge	6	3	9	6	-12.5000	17.2176	329	-0.73	0.4684
Stald*uge	6	4	6	5	-533E-17	14.3462	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	6	6	-107E-16	13.4670	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	7	2	3.55E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	7	3	3.55E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	7	4	3.55E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	7	5	-11.0706	15.5186	329	-0.71	0.4761
Stald*uge	6	4	7	6	-2.5000	15.2203	329	-0.16	0.8696
Stald*uge	6	4	8	2	-466E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	8	3	5.23E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	8	4	0.2023	15.5186	329	0.01	0.9896
Stald*uge	6	4	8	5	-903E-17	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	8	6	-12.5000	15.2203	329	-0.82	0.4121
Stald*uge	6	4	9	2	5.51E-14	17.2176	329	0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	6	4	9	3	0.4176	17.9994	329	0.02	0.9815
Stald*uge	6	4	9	4	-16E-15	17.2176	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	4	9	5	-1.8332	17.9994	329	-0.10	0.9189
Stald*uge	6	4	9	6	-12.5000	17.2176	329	-0.73	0.4684
Stald*uge	6	5	6	6	-533E-17	13.4670	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	7	2	8.88E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	7	3	8.88E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	7	4	8.88E-15	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	7	5	-11.0706	15.5186	329	-0.71	0.4761
Stald*uge	6	5	7	6	-2.5000	15.2203	329	-0.16	0.8696
Stald*uge	6	5	8	2	6.74E-16	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	8	3	1.06E-14	15.2203	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	8	4	0.2023	15.5186	329	0.01	0.9896
Stald*uge	6	5	8	5	-37E-16	15.2203	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	8	6	-12.5000	15.2203	329	-0.82	0.4121
Stald*uge	6	5	9	2	6.04E-14	17.2176	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	9	3	0.4176	17.9994	329	0.02	0.9815
Stald*uge	6	5	9	4	-107E-16	17.2176	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	5	9	5	-1.8332	17.9994	329	-0.10	0.9189
Stald*uge	6	5	9	6	-12.5000	17.2176	329	-0.73	0.4684
Stald*uge	6	6	7	2	1.42E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	7	3	1.42E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	7	4	1.42E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	7	5	-11.0706	14.2666	329	-0.78	0.4383
Stald*uge	6	6	7	6	-2.5000	13.9415	329	-0.18	0.8578
Stald*uge	6	6	8	2	6E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	8	3	1.59E-14	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	6	6	8	5	1.63E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	6	6	9	2	6.57E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	6	6	9	4	-533E-17	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	6	6	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	6	6	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	7	2	7	3	0	12.0029	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	2	7	4	0	12.0029	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	2	7	5	-11.0706	12.3790	329	-0.89	0.3718
Stald*uge	7	2	7	6	-2.5000	12.0029	329	-0.21	0.8351
Stald*uge	7	2	8	2	-821E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	2	8	3	1.68E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	2	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	7	2	8	5	-126E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	2	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	7	2	9	2	5.15E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	2	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	7	2	9	4	-195E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	2	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	7	2	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	7	3	7	4	0	12.0029	329	0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	7	3	7	5	-11.0706	12.3790	329	-0.89	0.3718
Stald*uge	7	3	7	6	-2.5000	12.0029	329	-0.21	0.8351
Stald*uge	7	3	8	2	-821E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	3	8	3	1.68E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	3	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	7	3	8	5	-126E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	3	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	7	3	9	2	5.15E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	3	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	7	3	9	4	-195E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	3	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	7	3	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	7	4	7	5	-11.0706	12.3790	329	-0.89	0.3718
Stald*uge	7	4	7	6	-2.5000	12.0029	329	-0.21	0.8351
Stald*uge	7	4	8	2	-821E-17	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	4	8	3	1.68E-15	13.9415	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	4	8	4	0.2023	14.2666	329	0.01	0.9887
Stald*uge	7	4	8	5	-126E-16	13.9415	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	4	8	6	-12.5000	13.9415	329	-0.90	0.3706
Stald*uge	7	4	9	2	5.15E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	7	4	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	7	4	9	4	-195E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	7	4	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	7	4	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	7	5	7	6	8.5706	12.3790	329	0.69	0.4892
Stald*uge	7	5	8	2	11.0706	14.2666	329	0.78	0.4383
Stald*uge	7	5	8	3	11.0706	14.2666	329	0.78	0.4383
Stald*uge	7	5	8	4	11.2730	14.5844	329	0.77	0.4401
Stald*uge	7	5	8	5	11.0706	14.2666	329	0.78	0.4383
Stald*uge	7	5	8	6	-1.4294	14.2666	329	-0.10	0.9203
Stald*uge	7	5	9	2	11.0706	16.3806	329	0.68	0.4996
Stald*uge	7	5	9	3	11.4883	17.2005	329	0.67	0.5047
Stald*uge	7	5	9	4	11.0706	16.3806	329	0.68	0.4996
Stald*uge	7	5	9	5	9.2375	17.2005	329	0.54	0.5916
Stald*uge	7	5	9	6	-1.4294	16.3806	329	-0.09	0.9305
Stald*uge	7	6	8	2	2.5000	13.9415	329	0.18	0.8578
Stald*uge	7	6	8	3	2.5000	13.9415	329	0.18	0.8578
Stald*uge	7	6	8	4	2.7023	14.2666	329	0.19	0.8499
Stald*uge	7	6	8	5	2.5000	13.9415	329	0.18	0.8578
Stald*uge	7	6	8	6	-10.0000	13.9415	329	-0.72	0.4737
Stald*uge	7	6	9	2	2.5000	16.0983	329	0.16	0.8767
Stald*uge	7	6	9	3	2.9176	16.9319	329	0.17	0.8633
Stald*uge	7	6	9	4	2.5000	16.0983	329	0.16	0.8767
Stald*uge	7	6	9	5	0.6668	16.9319	329	0.04	0.9686
Stald*uge	7	6	9	6	-10.0000	16.0983	329	-0.62	0.5349
Stald*uge	8	2	8	3	9.89E-15	12.0029	329	0.00	1.0000
Stald*uge	8	2	8	4	0.2023	12.3790	329	0.02	0.9870
Stald*uge	8	2	8	5	-438E-17	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	8	2	8	6	-12.5000	12.0029	329	-1.04	0.2984
Stald*uge	8	2	9	2	5.97E-14	16.0983	329	0.00	1.0000

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald*uge	8	2	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	8	2	9	4	-113E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	8	2	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	8	2	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	8	3	8	4	0.2023	12.3790	329	0.02	0.9870
Stald*uge	8	3	8	5	-143E-16	12.0029	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	8	3	8	6	-12.5000	12.0029	329	-1.04	0.2984
Stald*uge	8	3	9	2	4.98E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	8	3	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	8	3	9	4	-212E-16	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	8	3	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	8	3	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	8	4	8	5	-0.2023	12.3790	329	-0.02	0.9870
Stald*uge	8	4	8	6	-12.7023	12.3790	329	-1.03	0.3056
Stald*uge	8	4	9	2	-0.2023	16.3806	329	-0.01	0.9902
Stald*uge	8	4	9	3	0.2153	17.2005	329	0.01	0.9900
Stald*uge	8	4	9	4	-0.2023	16.3806	329	-0.01	0.9902
Stald*uge	8	4	9	5	-2.0355	17.2005	329	-0.12	0.9059
Stald*uge	8	4	9	6	-12.7023	16.3806	329	-0.78	0.4386
Stald*uge	8	5	8	6	-12.5000	12.0029	329	-1.04	0.2984
Stald*uge	8	5	9	2	6.41E-14	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	8	5	9	3	0.4176	16.9319	329	0.02	0.9803
Stald*uge	8	5	9	4	-696E-17	16.0983	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	8	5	9	5	-1.8332	16.9319	329	-0.11	0.9138
Stald*uge	8	5	9	6	-12.5000	16.0983	329	-0.78	0.4380
Stald*uge	8	6	9	2	12.5000	16.0983	329	0.78	0.4380
Stald*uge	8	6	9	3	12.9176	16.9319	329	0.76	0.4461
Stald*uge	8	6	9	4	12.5000	16.0983	329	0.78	0.4380
Stald*uge	8	6	9	5	10.6668	16.9319	329	0.63	0.5291
Stald*uge	8	6	9	6	1.9E-13	16.0983	329	0.00	1.0000
Stald*uge	9	2	9	3	0.4176	16.3599	329	0.03	0.9797
Stald*uge	9	2	9	4	-711E-16	15.4956	329	-0.00	1.0000
Stald*uge	9	2	9	5	-1.8332	16.3599	329	-0.11	0.9109
Stald*uge	9	2	9	6	-12.5000	15.4956	329	-0.81	0.4204
Stald*uge	9	3	9	4	-0.4176	16.3599	329	-0.03	0.9797
Stald*uge	9	3	9	5	-2.2508	17.2274	329	-0.13	0.8961
Stald*uge	9	3	9	6	-12.9176	16.3599	329	-0.79	0.4303
Stald*uge	9	4	9	5	-1.8332	16.3599	329	-0.11	0.9109
Stald*uge	9	4	9	6	-12.5000	15.4956	329	-0.81	0.4204
Stald*uge	9	5	9	6	-10.6668	16.3599	329	-0.65	0.5149
Stald	1		2		-21.4286	9.8199	329	-2.18	0.0298
Stald	1		3		-888E-17	8.9356	329	-0.00	1.0000
Stald	1		4		-9.9499	7.5239	329	-1.32	0.1869
Stald	1		5		-117E-16	9.1582	329	-0.00	1.0000
Stald	1		6		-711E-17	9.2556	329	-0.00	1.0000
Stald	1		7		-2.7141	8.9356	329	-0.30	0.7615
Stald	1		8		-2.4595	8.9356	329	-0.28	0.7833
Stald	1		9		-2.7831	10.3917	329	-0.27	0.7890
Stald	2		3		21.4286	9.8199	329	2.18	0.0298
Stald	2		4		11.4786	8.5554	329	1.34	0.1806

The Mixed Procedure

Differences of Least Squares Means

Effect	Stald	uge	Stald	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Stald	2		5		21.4286	10.0229	329	2.14	0.0333
Stald	2		6		21.4286	10.1120	329	2.12	0.0348
Stald	2		7		18.7144	9.8199	329	1.91	0.0576
Stald	2		8		18.9690	9.8199	329	1.93	0.0543
Stald	2		9		18.6455	11.1612	329	1.67	0.0958
Stald	3		4		-9.9499	7.5239	329	-1.32	0.1869
Stald	3		5		-284E-17	9.1582	329	-0.00	1.0000
Stald	3		6		1.78E-15	9.2556	329	0.00	1.0000
Stald	3		7		-2.7141	8.9356	329	-0.30	0.7615
Stald	3		8		-2.4595	8.9356	329	-0.28	0.7833
Stald	3		9		-2.7831	10.3917	329	-0.27	0.7890
Stald	4		5		9.9499	7.7870	329	1.28	0.2022
Stald	4		6		9.9499	7.9013	329	1.26	0.2088
Stald	4		7		7.2358	7.5239	329	0.96	0.3369
Stald	4		8		7.4904	7.5239	329	1.00	0.3202
Stald	4		9		7.1668	9.2060	329	0.78	0.4368
Stald	5		6		4.62E-15	9.4707	329	0.00	1.0000
Stald	5		7		-2.7141	9.1582	329	-0.30	0.7671
Stald	5		8		-2.4595	9.1582	329	-0.27	0.7884
Stald	5		9		-2.7831	10.5837	329	-0.26	0.7927
Stald	6		7		-2.7141	9.2556	329	-0.29	0.7695
Stald	6		8		-2.4595	9.2556	329	-0.27	0.7906
Stald	6		9		-2.7831	10.6681	329	-0.26	0.7943
Stald	7		8		0.2546	8.9356	329	0.03	0.9773
Stald	7		9		-0.06898	10.3917	329	-0.01	0.9947
Stald	8		9		-0.3236	10.3917	329	-0.03	0.9752

```
/* Analyse for dosis effekt */
proc mixed data=infektion;
class dosis hest uge;
model epg = dosis uge dosis*uge;
random hest;
lsmeans dosis*uge;
run;
```

The SAS System 19:02 Wednesday, February 18, 2009 96

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.INFEKTION
Dependent Variable	EPG
Covariance Structure	Variance Components
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	Profile
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Containment

Class Level Information

Class	Levels	Values
Dosis	3	-1 0 1
Hest	72	101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 201 202 204 205 206 207 208 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 421 422 423 424 425 501 502 503 505 506 507 508 509 510 601 602 603 604 606 607 610 612 613 801 802 901 906
uge	5	2 3 4 5 6

Dimensions

Covariance Parameters	2
Columns in X	24
Columns in Z	72
Subjects	1
Max Obs Per Subject	480

Number of Observations

Number of Observations Read	480
Number of Observations Used	350
Number of Observations Not Used	130

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	3307.15174083	
1	2	3271.31270923	0.00000013
2	1	3271.31254211	0.00000000

Convergence criteria met.

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Estimate
Hest	266.10
Residual	721.84

Fit Statistics

-2 Res Log Likelihood	3271.3
AIC (smaller is better)	3275.3
AICC (smaller is better)	3275.3
BIC (smaller is better)	3279.9

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Dosis	2	266	2.04	0.1325
uge	4	266	1.34	0.2551
Dosis*uge	8	266	2.06	0.0404

Least Squares Means

Effect	Dosis	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Dosis*uge	-1	2	-107E-16	10.4772	266	-0.00	1.0000
Dosis*uge	-1	3	3.55E-15	10.4772	266	0.00	1.0000
Dosis*uge	-1	4	3.55E-15	10.4772	266	0.00	1.0000
Dosis*uge	-1	5	7.11E-15	10.4772	266	0.00	1.0000
Dosis*uge	-1	6	1.42E-14	10.4772	266	0.00	1.0000
Dosis*uge	0	2	0	5.6311	266	0.00	1.0000
Dosis*uge	0	3	3.55E-15	5.7181	266	0.00	1.0000
Dosis*uge	0	4	-355E-17	5.8008	266	-0.00	1.0000
Dosis*uge	0	5	0	5.8008	266	0.00	1.0000
Dosis*uge	0	6	-711E-17	5.5564	266	-0.00	1.0000
Dosis*uge	1	2	-0.2443	5.7237	266	-0.04	0.9660
Dosis*uge	1	3	-355E-17	5.6453	266	-0.00	1.0000
Dosis*uge	1	4	6.4516	5.6453	266	1.14	0.2541
Dosis*uge	1	5	11.2903	5.6453	266	2.00	0.0465
Dosis*uge	1	6	31.4516	5.6453	266	5.57	<.0001

```
/* Analyse for effekt af infektionspres på epg*/
proc mixed data=infektion;
class hest stald uge; /* kategoriske variable */
model epg = andel_beh epg_bes_start uge /solution; /* systematiske led */
random hest stald; /* tilfældige faktorer */
run;
```

The SAS System 19:02 Wednesday, February 18, 2009 98

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.INFEKTION
Dependent Variable	EPG
Covariance Structure	Variance Components
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	Profile
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Containment

Class Level Information

Class	Levels	Values
Hest	96	101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 201 202 204 205 206 207 208 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 421 422 423 424 425 429 501 502 503 505 506 507 508 509 510 601 602 603 604 606 607 610 611 612 613 701 702 703 704 705 706 707 709 710 711 801 802 803 804 806 807 808 809 810 811 901 902 903 904 905 906
Stald	9	1 2 3 4 5 6 7 8 9
uge	5	2 3 4 5 6

Dimensions

Covariance Parameters	3
Columns in X	8
Columns in Z	105
Subjects	1
Max Obs Per Subject	480

Number of Observations

Number of Observations Read	480
Number of Observations Used	461
Number of Observations Not Used	19

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	4450.95383004	

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
1	2	4417.35179702	0.00000003
2	1	4417.35174717	0.00000000

Convergence criteria met.

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Estimate
Hest	231.60
Stald	0
Residual	746.13

Fit Statistics

-2 Res Log Likelihood	4417.4
AIC (smaller is better)	4421.4
AICC (smaller is better)	4421.4
BIC (smaller is better)	4426.5

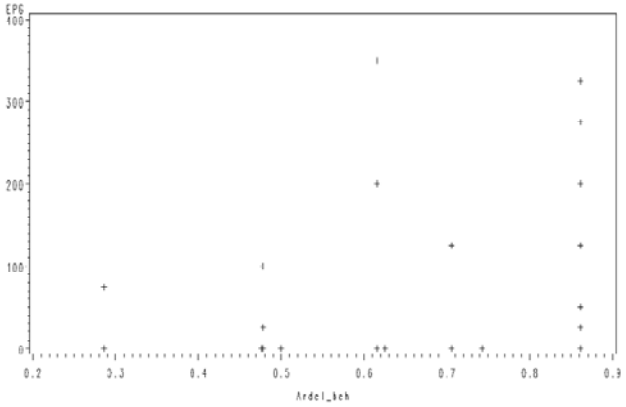
Solution for Fixed Effects

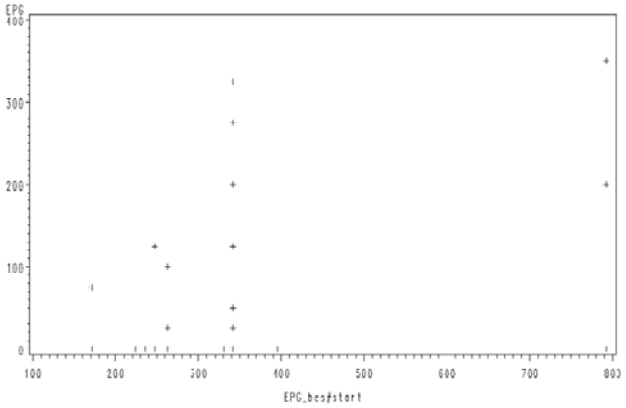
Effect	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Intercept		-3.1674	9.0898	0	-0.35	.
Andel_beh		12.3364	11.8619	360	1.04	0.2990
EPG_bes_start		0.03249	0.01388	360	2.34	0.0198
uge	2	-14.8859	3.9790	360	-3.74	0.0002
uge	3	-15.0288	4.0059	360	-3.75	0.0002
uge	4	-13.3934	4.0058	360	-3.34	0.0009
uge	5	-9.9783	4.0186	360	-2.48	0.0135
uge	6	0	.	.	.	.

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Andel_beh	1	360	1.08	0.2990
EPG_bes_start	1	360	5.48	0.0198
uge	4	360	5.02	0.0006

```
/* Plots for at tjekke fortegn på estimerede hældninger */
proc gplot data=infektion;
plot epg*andel beh epg*epg bes start;
run;
quit;
```






```
/* Analyse for effekt af infektionspres på effekt */
proc mixed data=infektion;
class hest stald uge; /* kategoriske variable */
model effekt = andel_beh epg_bes_start uge /solution; /* systematiske led */
random hest stald; /* tilfældige faktorer */
run;
```

The SAS System 19:02 Wednesday, February 18, 2009 100

The Mixed Procedure

Model Information

Data Set	WORK.INFEKTION
Dependent Variable	Effekt
Covariance Structure	Variance Components
Estimation Method	REML
Residual Variance Method	Profile
Fixed Effects SE Method	Model-Based
Degrees of Freedom Method	Containment

Class Level Information

Class	Levels	Values
Hest	96	101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 201 202 204 205 206 207 208 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 421 422 423 424 425 429 501 502 503 505 506 507 508 509 510 601 602 603 604 606 607 610 611 612 613 701 702 703 704 705 706 707 709 710 711 801 802 803 804 806 807 808 809 810 811 901 902 903 904 905 906
Stald	9	1 2 3 4 5 6 7 8 9
uge	5	2 3 4 5 6

Dimensions

Covariance Parameters	3
Columns in X	8
Columns in Z	105
Subjects	1
Max Obs Per Subject	480

Number of Observations

Number of Observations Read	480
Number of Observations Used	462
Number of Observations Not Used	18

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
0	1	-893.65639598	

Iteration History

Iteration	Evaluations	-2 Res Log Like	Criterion
1	3	-969.87507830	0.00000719
2	1	-969.88166795	0.00000000

Convergence criteria met.

Covariance Parameter Estimates

Cov Parm	Estimate
Hest	0.002616
Stald	0
Residual	0.004897

Fit Statistics

-2 Res Log Likelihood	-969.9
AIC (smaller is better)	-965.9
AICC (smaller is better)	-965.9
BIC (smaller is better)	-960.8

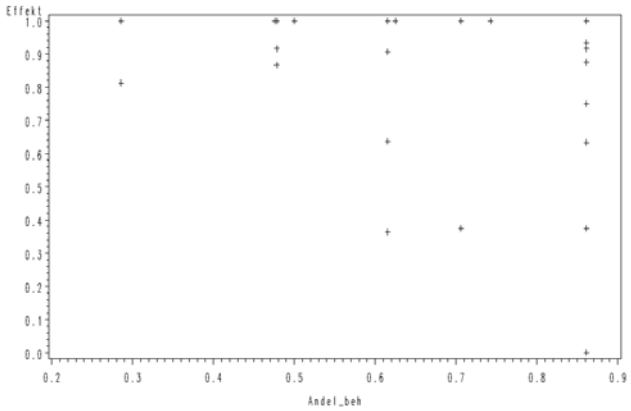
Solution for Fixed Effects

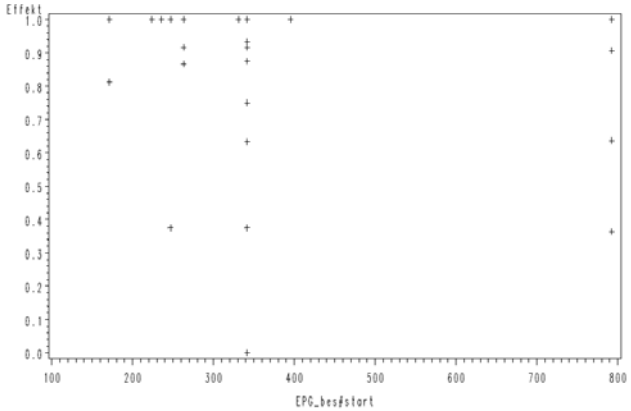
Effect	uge	Estimate	Standard Error	DF	t Value	Pr > |t|
Intercept		1.0101	0.02755	0	36.66	.
Andel_beh		-0.04982	0.03634	361	-1.37	0.1712
EPG_bes_start		-0.00004	0.000043	361	-0.98	0.3282
uge	2	0.03471	0.01016	361	3.42	0.0007
uge	3	0.03510	0.01027	361	3.42	0.0007
uge	4	0.02501	0.01027	361	2.44	0.0153
uge	5	0.02125	0.01030	361	2.06	0.0398
uge	6	0	.	.	.	.

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
Andel_beh	1	361	1.88	0.1712
EPG_bes_start	1	361	0.96	0.3282
uge	4	361	3.95	0.0038

```
/* Plots for at tjekke fortegn på estimerede hældninger */
proc gplot data=infektion;
plot effekt*andel beh effekt*epg bes start;
run;
quit;
```





RETTELISTE

Rettelser til specialet “Ivermectins effekt mod hestens nematoder under danske forhold – studier af fækal ægreduktion og egg reappearance period” af Mette Lindstrøm Larsen, V9347.

Side 2: Figur 1.2-1. Fejl i nummereringen, figuren hedder Figur 1.1-2. Henvisningerne i teksten refererer til det korrekte figurnummer.

Side 65: Tabel 3.4-2. Fejl i sidste kolonne, der angiver antallet af kontrolheste: Fra besætning nr. 4 deltog 8 heste, ikke 7, som fejlagtigt er angivet i tabellen. Fra besætning nr. 8 deltog ligeledes 8 heste. I alt 65 kontrolheste.

Side 67: Afsnit 3.4.6.5 Effekt af stald. Sidste afsnit, 5. linie. Stald er ikke anført som tilfældig variabel i denne analyse. Sætningen skal derfor være: Som tilfældig variabel anførtes hest.

Side 67: Afsnit 3.4.6.6 Effekt af infektionspresset i besætningen. Sidste afsnit, 3-4. linie mangler hest som kategorisk variabel. Sætningen skal være: som forklarende kategoriske variable opstilledes staldens tildelte nummer, hest og tid (uge 2,3,4,5 og 6 efter behandling),.

Side 68: Afsnit 3.4.6.8 Effekt af dosering. Andet afsnit, 5. linie. Start EPG er ikke medtaget i analysen og sætningen ”Som non-kategoriske variable anførtes EPG før behandlingen.” skal derfor slettes.

Der er fejl i nummereringen af siderne i Appendiks. Sidetallene på Appendikslisten og de farvede forsider med appendiksnummer er i overensstemmelse ligesom alle appendiks indeholder de korrekte sider. Teksten på siderne er placeret korrekt uanset fejlen i sidenummereringen. Fra side I til XVIII og efter side XLVII er nummereringen korrekt

Ved en printerfejl mangler der resultaterne nederst i hvert udskriftsfelt i Appendiks 5. (Påtrykt sidetallet XXVII, der retteligt burde være XXIX og placeret efter side XXXII). En fuld version med alle tal synlige er vedlagt denne retteliste.

Orm	Stald	Hest	Age	Kon	for	efter	Effekt
P	1	1	0,5	1	50	0	1,00000
P	2	2	0,5	1	100	0	1,00000
P	3	3	1	1	200	0	1,00000
P	3	4	2	3	50	0	1,00000
P	3	5		3	400	0	1,00000
P	4	6		3	600	0	1,00000
P	5	7	2	3	750	50	0,93333
P	6	8	2	3	50	0	1,00000
P	6	9	3	3	100	0	1,00000
P	6	10	3		50	0	1,00000
P	6	11	0,5	1	50	0	1,00000
P	6	12	2	1	50	0	1,00000
P	6	13	1	3	50	0	1,00000
P	6	14	0,5	3	200	0	1,00000
P	7	15	1	1	800	0	1,00000
P	8	16	3	3	400	0	1,00000
P	9	17	3	1	300	100	0,66667
P	10	18	2	1	100	0	1,00000
P	11	19	2	1	50	0	1,00000
P	12	20	1	3	50	0	1,00000
P	13	21	1	1	750	0	1,00000
P	13	22	3		700	0	1,00000
P	13	23	3	3	600	0	1,00000
P	14	24	3		600	0	1,00000
P	15	25	3	1	150	0	1,00000
P	16	26	2	1	150	0	1,00000
P	18	28	2	3	650	0	1,00000
P	18	29	1		500	100	0,80000
P	18	30	1	1	400	100	0,75000
P	18	31		1	50	0	1,00000
P	18	32			650	300	0,53846
P	18	33	3		600	0	1,00000
P	18	34	4		350	0	1,00000
P	19	35	4	1	200	0	1,00000
P	20	36	2	1	250	0	1,00000
P	21	37			50	0	1,00000
P	22	38	2	3	50	0	1,00000
P	22	39	0,5		150	0	1,00000
P	23	40	0,5	1	200	0	1,00000
P	24	41	1		900	0	1,00000
P	24	42	2	2	500	0	1,00000
P	24	43	3	1	550	0	1,00000
P	24	44			200	0	1,00000
P	25	45	3	1	450	0	1,00000
P	26	46	3		300	0	1,00000
P	27	47	2		800	0	1,00000
P	28	48	5		600	0	1,00000
P	29	49	1	2	50	0	1,00000
P	30	50	2	1	100	0	1,00000
P	31	51	1	2	100	0	1,00000
P	32	52	1	2	100	0	1,00000
P	32	53	1	3	200	0	1,00000
P	33	54	15	3	400	0	1,00000
P	33	55	2	3	400	500	0,00000
P	33	56	2	1	350	100	0,71429
P	34	57	5	1	350	50	0,85714
P	34	58	5		500	200	0,60000
P	34	59	6	1	600	0	1,00000
P	34	60	1		200	0	1,00000
P	34	61	1		300	0	1,00000
P	35	62	2	2	350	0	1,00000
P	36	63	2	1	200	0	1,00000
P	37	64	0,5		50	0	1,00000
P	38	65			50	0	1,00000
P	39	66	2		900	0	1,00000
P	40	67	2	1	800	0	1,00000
P	41	68	1		700	0	1,00000
P	41	69	1	1	300	0	1,00000
P	41	70	0,5	1	400	0	1,00000
P	41	71	0,5		500	0	1,00000
P	41	72	0,5		50	0	1,00000
P	41	73	0,5		50	0	1,00000
P	41	74	0,5		100	0	1,00000
P	41	75	1	2	100	0	1,00000
P	41	76	1	2	200	0	1,00000
P	41	77	2		50	0	1,00000
P	41	78	2		50	0	1,00000
P	41	79	2		50	0	1,00000
P	41	80	4		150	50	0,66667
P	42	81	0,5	2	1400	0	1,00000
S	A	101	8	0	600	0	1,00000
S	A	102	10	0	400	0	1,00000
S	A	103	13	0	1150	0	1,00000
S	A	104	6	0	350	0	1,00000
S	A	105	11	0	950	0	1,00000
S	A	106	12	0	350	0	1,00000
S	A	107	5	0	1000	0	1,00000
S	A	108	6	0	900	0	1,00000
S	A	109	5	0	800	0	1,00000
S	A	110	5	0	400	0	1,00000
S	B	201	3	0	2700	0	1,00000
S	B	202	6	0	1000	0	1,00000
S	B	204	4	0	1250	0	1,00000
S	B	205	17	0	550	0	1,00000
S	B	206	7	0	1750	0	1,00000
S	B	207	9	0	2150	0	1,00000
S	B	208	12	0	400	0	1,00000
S	B	10201	0	3	100	0	1,00000
S	C	301	6	0	350	0	1,00000
S	C	302	13	0	200	0	1,00000
S	C	303	17	0	250	0	1,00000
S	C	304	18	0	300	0	1,00000
S	C	305	5	0	250	0	1,00000
S	C	306	11	0	300	0	1,00000
S	C	307	5	0	400	0	1,00000
S	C	308	17	0	400	0	1,00000
S	C	309	5	0	200	0	1,00000
S	C	310		0	350	0	1,00000
S	C	10301	21	1	400	0	1,00000
S	C	10302		1	1100	0	1,00000
S	D	402	4	0	200	0	1,00000
S	D	403	5	0	300	0	1,00000
S	D	404	4	0	400		1,00000
S	D	405	5	0	400	0	1,00000
S	D	406		0	250	0	1,00000
S	D	407	11	0	200	0	1,00000
S	D	408	7	0	300	0	1,00000
S	D	409		0	500	0	1,00000
S	D	410		0	200	0	1,00000
S	D	411	7	0	600	0	1,00000
S	D	412	10	0	450	0	1,00000
S	D	413	7	0	300	0	1,00000
S	D	414	9	0	700	0	1,00000
S	D	415	11	0	400	0	1,00000
S	D	416		0	600	0	1,00000
S	D	417		0	300	0	1,00000
S	D	418		0	450	0	1,00000
S	D	419	5	0	500	0	1,00000
S	D	421	3	0	300	0	1,00000
S	D	422	5	0	250	0	1,00000
S	D	423		0	500	0	1,00000
S	D	424	9	0	350	0	1,00000
S	D	425	9	0	200	0	1,00000
S	D	429	2	0	750		1,00000
S	D	10401		1	200	0	1,00000
S	D	10402		3	300	0	1,00000
S	E	501	4	0	200	0	1,00000
S	E	502	12	0	900	0	1,00000
S	E	503	15	0	700	0	1,00000
S	E	505	18	0	200	0	1,00000
S	E	506	6	0	600	0	1,00000
S	E	507	15	0	900	0	1,00000
S	E	508	21	0	400	0	1,00000
S	E	509	18	0	350	0	1,00000
S	E	510	3	0	1000	0	1,00000
S	E	10501	4	1	900	0	1,00000
S	F	601	9	0	450	0	1,00000
S	F	602	6	0	250	0	1,00000
S	F	603	9	0	250	0	1,00000
S	F	604	4	0	350	0	1,00000
S	F	606		0	300	0	1,00000
S	F	607	9	0	300	0	1,00000
S	F	610	17	0	250		1,00000
S	F	611	2	0	200	0	1,00000
S	F	612	4	0	635	0	1,00000
S	F	613	12	0	200	0	1,00000
S	F	10601			200	0	1,00000
S	F	10602	3	1	400	0	1,00000
S	F	10603			300	0	1,00000
S	F	10604			200	0	1,00000
S	F	10605	0,5		350	0	1,00000
S	F	10606			400	0	1,00000
S	F	10607			600	0	1,00000
S	F	10608	8	3	500	0	1,00000
S	F	10609			350	0	1,00000
S	F	10610			400	0	1,00000
S	F	10611			370	0	1,00000
S	F	10612	1,5	3	200	0	1,00000
S	f	10613	2,5	3	1150	0	1,00000
S	G	701	7	0	1150	0	1,00000
S	G	702	6	0	200	0	1,00000
S	G	703	18	0	350	0	1,00000
S	G	704	12	0	300	0	1,00000
S	G	705	28	0	350	0	1,00000
S	G	706	22	0	200	0	1,00000
S	G	707	20	0	200	0	1,00000
S	G	709	3	0	600	0	1,00000
S	G	710	5	0	400	0	1,00000
S	G	711	16	0	750	0	1,00000
S	H	801	6	0	250	0	1,00000
S	H	802		0	450	0	1,00000
S	H	803	5	0	200	0	1,00000
S	H	804	14	0	200	0	1,00000
S	H	806	22	0	250	0	1,00000
S	H	807	15	0	300	0	1,00000
S	H	808	12	0	400	0	1,00000
S	H	809	8	0	350	0	1,00000
S	H	810	6	0	300	0	1,00000
S	H	811	7	0	250	0	1,00000
S	H	10801		3	350	0	1,00000
S	I	901	5	0	1050	0	1,00000
S	I	902	1	0	200	0	1,00000
S	I	903	4	0	1000	0	1,00000
S	I	904	1	0	250	0	1,00000
S	I	905	1	0	400	0	1,00000
S	I	906	4	0	250	0	1,00000
S	J	11001		3	470	0	1,00000
S	J	11002		3	830	0	1,00000
S	J	11003		3	300	0	1,00000