Anthelmintikaresistens och parasiter i refugia

Anthelmintikaresistens är sedan flera årtionden en stor utmaning inom lammproduktion världen över och det finns ett gigantiskt behov av olika åtgärder för att förhindra fortsatt spridning av problemet. I många länder med omfattande lammproduktion - och uttalade resistensproblem - betonas vikten av att ha en andel parasiter i refugia. Den svenska modellen fokuserar på att, i motsats till detta, avmaska hela grupper av djur och sedan släppa dem på så rena beten som möjligt. Detta för att minska återsmitta och därmed antalet avmaskningar. I den här artikeln beskriver vi vad som menas med parasiter i refugia samt om och hur dessa skulle kunna bidra till att fördröja resistensutvecklingen mot avmaskningsmedel. Vi diskuterar även om den svenska modellen kan anses öka risken för resistens.

Johan Höglund, *Institutionen för Biomedicin och Veterinär Folkhälsovetenskap (BVF), Sektionen för parasitologi, SLU*
Katarina Gustafsson, *Gård & Djurhälsan, Fårhälsovården, Länghem.*
Eva Osterman Lind, *Statens veterinärmedicinska anstalt, Sektion för parasitologisk diagnostik, Uppsala*

Inledning

Metoder för att kontrollera maskinfektioner hos gräsätare utvecklas och ifrågasätts ständigt. Såväl i Sverige som internationellt är avmaskning med bredspektrumverkande preparat i kombination med beteshygien fortfarande den dominerande kontrollstrategin. Under senare år har det dock inkommit flera rapporter om extrema produktionsbortfall och hög dödlighet till följd av maskangrepp, särskilt i regioner med intensiv får- och getskötsel på södra halvklotet (Molento, 2009). Situationen förefaller förutsägbar då det visat sig i flera länder att samtliga avmaskningsmedel i varierande grad har tappat effekt, i vissa fall endast efter några år på marknaden (James et al., 2009). Hur dessa läkemedel används kräver tydligen eftertanke om de ska fungera på långt sikt. Detta är extra viktigt då det är osannolikt att nya substanser kommer ut på marknaden inom överskådlig tid.

För många år sedan lanserades två begrepp för att främja en långsiktigt hållbar användning av avmaskningsmedel: i) riktade behandlingar (targeted treatment, TT), där hela flocken behandlas utifrån kunskap om infektionens omfattning och ii) riktade selektiva behandlingar (targeted selective treatment, TST), där i stället enskilda djur inom betesgruppen behandlas, vilket förstås kräver korrekt identifiering av de djur som kräver behandling (Charlier et al., 2014; Greer et al., 2020; Van Wyk et al., 2006). Dessa tillvägagångssätt används för att förhindra maskrelaterade negativa produktionseffekter samtidigt som avmaskningsmedlens verkan bevaras långsiktigt genom att upprätthålla en pool parasiter i refugia, det vill säga parasiter som inte är exponerade för läkemedlet (Jackson et al., 2009).

Avsikten med artikeln är att sammanfatta kunskapsläget om hur dessa strategier fungerar i praktiken och särskilt att belysa om den för Sverige vanliga strategin av behovsprövad "avmaskning i grindhålet" (dose and move) bör anses som en alltför riskfylld strategi för uppkomst av resistens under svenska förhållanden. Sammanfattningen är dels baserad på egna erfarenheter, dels på erfarenheter från utlandet.

Varför behövs avmaskning?

Så gott som alla gräsätare är i varierande grad infekterade med olika parasitmaskar varav vissa är mer skadliga än andra. Hos svenska får har 16 olika arter påvisats, av vilka den stora löpmagsmasken *Haemonchus contortus* och mellanstora magmasken *Teladorsaia circumcincta* är vanligast (Halvarsson and Höglund, 2021). Stora löpmagsmasken som är blodsugande anses extra farlig då den vid riklig förekomst orsakar dödsfall framför allt hos växande lamm men även högdräktiga tackor (Besier et al., 2016). Man bör emellertid ha i åtanke att även måttliga blandinfektioner kan orsaka allvarlig skada förknippade med subkliniska produktionsförluster och minskad djurvälfärd (Sutherland and Scott, 2010).

Gemensamt för alla parasitiska rundmaskar är att deras larvstadier som finns i betesgräset kan infektera betande värddjur. Larverna utvecklas ur de ägg som de vuxna maskarna lägger inuti värddjurets mag- och tarmkanal och som sedan sprids på betet via djurens träck. Ju fler vuxna maskar som finns hos betesdjuren desto fler ägg kommer ut i gräset varvid risken för återinfektion ökar. Problemet är störst vid intensiv produktion eftersom fler djur per ytenhet ger större risk för att de betande djuren angrips av skadliga nivåer. För att undvika hälsostörningar är det därför nödvändigt att tillämpa en väl fungerande kontrollstrategi. Fördelen med att integrera användning av avmaskningsmedel är obestridlig då effekten är väl dokumenterad och preparaten är lätta att använda. Med tillgång till effektiva och prisvärda anthelmintika från 1960-talet och framåt, uppnåddes snabbt effektiv kontroll av

maskinfektioner på de flesta gårdar. Under senare decennier har dock allt fler exempel på att strategin inte fungerar observerats. Detta på grund av ökande problem med att parasiterna utvecklat resistens mot olika typer avmaskningsmedel (Rose Vineer et al., 2020). Internationellt klassas detta som ett hot mot den globala livsmedelssäkerheten (Kaplan, 2020).

Vad orsakar resistens?

Resistens är förmågan hos en parasit att överleva en normalt effektiv standarddos avmaskningsmedel. Vid varje avmaskning överlever allt fler parasiter som är genetiskt anpassade för att tolerera maskmedlet. Resistensen mot avmaskningsmedel styrs alltså ytterst av maskarnas gener som går i arv till nästa generation parasiter. Senare års forskning har visat sig att resistens kan utvecklas på flera olika sätt (Kotze et al., 2014). Det kan exempelvis ske genom förändringar (mutationer) i gener som leder till förändringar av de proteiner som binder till läkemedlet, vilket kan leda till att den antiparasitära effekten uteblir. Andra orsaker till resistens kan vara att proteiner som medverkar i nedbrytningen (enzymer) eller reglerar utsöndringen (transportörer) av läkemedlet ökar. Vid sådana förändringar utsätts parasiten för en lägre dos läkemedel och överlever avmaskningen.

Man kan utgå från att maskar med en genuppsättning som är kopplad till resistens ökar och sprids i parasitpopulationen genom det selektionstryck som utövas varje gång djuren avmaskas. Parasitmaskar utmärks av stora populationer hos vilka arvsmassan beblandas i rask takt genom sexuell förökning. Detta leder till stor genetisk mångfald (variation) mellan olika maskindivider. Därför kan det ske en effektiv selektion av de maskar som överlever den rekommenderade dosen avmaskningsmedel. Laboratorieförsök har visat att resistens kan utvecklas inom några få generationer när maskarna utsätts för gradvis ökande koncentrationer (Coles et al., 2005). Även om detta normalt sker mycket långsammare på gårdsnivå visar försöken den underliggande principen bakom resistensutveckling.

Hur kan resistens motverkas?

Uppkomst av resistens fördröjs naturligtvis om man inte avmaskar. Det är dock orealistisk att helt upphöra med avmaskning, inte minst då det saknas vetenskapligt utprovade alternativ med likartad effekt. Det finns exempelvis idag inga rekombinant framställda vaccin mot maskinfektioner hos betesdjur, detta trots intensiva mångåriga forskningsinsatser (Smith and Zarlenga, 2006). Detta beror delvis på tekniska svårigheter vid framställningen men det har sannolikt även biologiska förklaringar eftersom naturligt förvärvad immunitet mot maskinfektioner i regel förvärvas långsamt och aldrig är steril. Oavsett är innebörden att den ålderskategori som normalt drabbas värst vid parasitangrepp, de förstagångsbetande djuren, sannolikt inte kan skyddas effektivt genom vaccination. Hos mer vuxna djur utsätts immuniteten dessutom för störningar under dräktighet, digivning och vid dålig näringstillförsel. Även försök med andra alternativa åtgärder till avmaskning, som insådd av dietiska betesväxter och användning av nematodfångande svampar, har på våra breddgrader visat sig ha begränsad effekt och de utgör i bästa fall ett komplement (Dimander et al., 2003; Waller et al., 2006). Vissa fynd är dessutom inkonsekventa eller till och med motstridiga och det är därför osannolikt att det i närtid kommer att finnas tillgång till alternativa lösningar som är lika effektiva som avmaskning.

Däremot kan man minska läkemedelsanvändningen genom att bara avmaska när så är motiverat enligt principerna för TT och

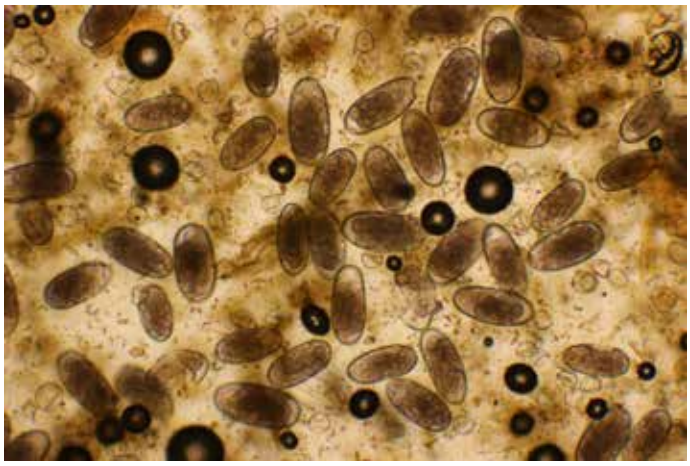

FOTO: JOHAN HÖGLUND

Ägg av magtarmparasiter.

FOTO: JOHAN HÖGLUND

Det hanliga kopulationsorganet hos stor löpmagsmask. Vid parningen omfamnas honan varefter den mörkfärgade organet i nedre delen av bilden förs in. Ovanför ses sädesledaren som vindlar sig kring tarmen.

FORTSÄTTER PÅ NÄSTA SIDA ►

TST. Sådan behovsprövad gårdsanapassad användning är en långsiktigt hållbar strategi som minskar antalet behandlingar och därmed risken för resistens. Förutsättningar för att lyckas är dock att det finns en vilja och möjlighet för provtagning av djuren men även tillgång till billig och pålitlig diagnostik. Det är också viktigt att i) beräkna dosen korrekt helst efter vägning av djuren, ii) se till att doseringsutrusningen är kalibrerad, och iii) att avmasknings-medlet lagras samt administreras korrekt. Enligt en brittisk studie finns indikationer på att risken för selektion av resistens är högre till följd av underdosering än genom ett ökande antal avmaskningar (Burgess et al., 2012). En annan viktig metod för att minska spridningen av resistens mellan gårdar är att förebygga introduktion av allvarliga parasiter som bär på anlag för resistens genom inköp av livdjur, vilket kan uppnås genom att minimera livdjursförflyttningar (kan delvis ersättas med egenrekrytering och semin) och genom att varje gång det ändå görs följa fungerande karantänsrutiner (Dobson et al., 2001). För djur i karantän är det centralt att parasitstatus undersöks såväl före som efter behandling i karantän. Att resistenta maskar kan importerats vid inköp av livdjur är dokumenterat såväl i Sverige (Höglund et al., 2015), som i andra europeiska länder (Borgsteede et al., 2007; Schnyder et al., 2005).

Avmaskning i grindhålet

Utrymme för att beskriva när och hur djuren bör undersökas eller den mångfald av betesstrategier som kan tillämpas ges inte i denna text. Däremot följer ett resonemang kring tidpunkten för avmaskning i förhållande till när djuren ändå hanteras. En frågeställning som väckts under senare år är om avmaskning av djur ”i grindhålet”, alltså vid betessläpp eller i direkt anslutning till betesbytet (dose-and-move) kan driva på selektionen för resistens. Internationellt har detta debatterats livligt under en följd av år.

När nyavmaskade djur släpps på ett parasitfritt bete kommer det teoretiskt i huvudsak att finnas resistenta maskar kvar i djuren. När dessa sprids och uppförökas är stenen i rullning. Förespråkare för refugia menar att det bör finnas en pool av maskar på det bete djuren använder efter avmaskning. Maskarna i refugia antas i stor utsträckning vara mottagliga för läkemedlet och kommer därmed att späda ut anlagen för resistens. Tankegången har bekräftas genom datorsimuleringar som gjordes redan i mitten av 1990-talet (Barnes et al., 1995). Verkligheten är dock mer komplicerad och det krävs även en noggrann avvägning i målkonflikten mellan risken för uppkomst av resistens och påskyndandet av parasitrelaterade skador och följande produktionsförluster som kan orsakas genom att avstå från att behandla djur liksom konsekvensen att snabbare återinfektion leder till tätare behov av avmaskning som i sin tur ökar risken för resistens (Falzon et al., 2014).

Ökar dose-and-move risken för resistens?

De experimentella stöden för att dose-and-move påskyndar urvalet av resistens är inte entydiga. Exempelvis visade resultat från ett fältförsök i Australien att avmaskning i kombination med en förflyttning av får till nya betesmarker med låg förekomst av parasiter (dose-and-move) inte ledde till resistens snabbare än när samma antal behandlingar gavs till får som var kvar på samma bete (Waller et al., 1989). Däremot drogs slutsatsen att dose-and-move ökade risken för resistens bland annat på Nya Zealand. I olika försök visade man där att antalet resistenta maskar ökade mätt med *in vitro*-metoder särskilt när nyavmaskade djur erbjöds ett bete med låg parasitsmitta, men resistensen minskade med parasiter i refugia eller när vissa djur i betesgruppen lämnades obehandlade (Waghorn et al., 2009, 2008). Emellertid sågs inga större skillnader

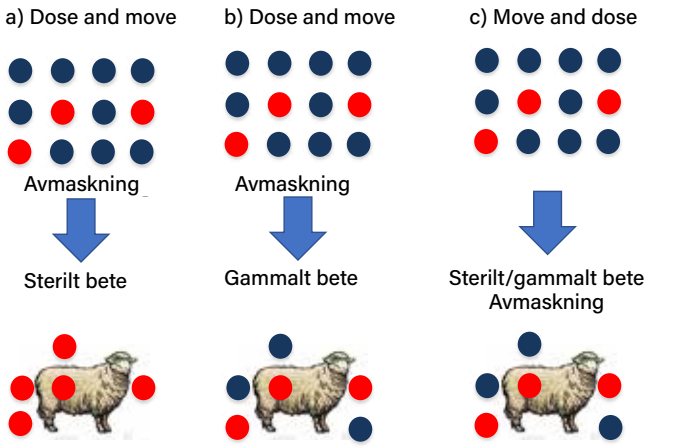

Fig 1. Schematisk bild av olika händelseförlopp vid avmaskning i samband med att djuren släpps eller flyttas (blå pil) på bete. Ett sterilt bete är exempelvis en vallåterväxt eller ett bete som aldrig tidigare använts av får, medan ett gammalt bete nyttjats av får föregående år eller under samma betessäsong. Vid a och b avmaskas djuren i grindhålet före flytt medan i c någon dag efter flytten. Observera att figuren inte gör anspråk på att visa numerära förhållanden mellan resistenta maskar (röda prickar) och mottagliga maskar (blå prickar).

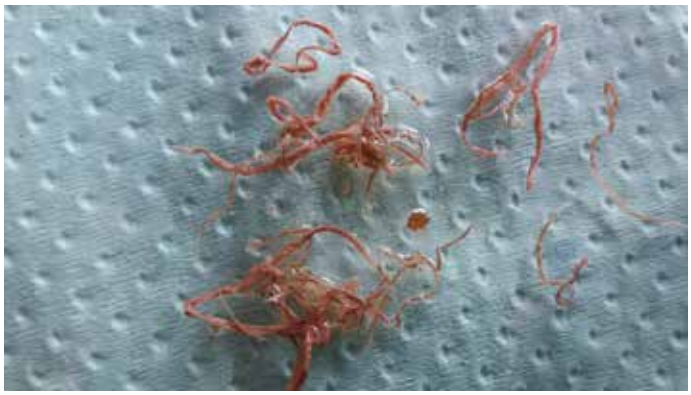

FOTO: NATALIA OSTEN-SACHEN

Flera vuxna *Haemonchus*-maskar. De är mellan 2 till 3 cm långa och finns i löpmagen där de suger blod genom att penetrera ytliga kärl i slemhinnan vilket kan leda till blodbrist.

i läkemedlets effektivitet genom att studera äggutskiljningen. Även om detta troligtvis kan tillskrivas skillnader i de olika detektionsmetodernas känslighet så saknades "normalt" avmaskade kontrollgrupper liksom produktionsdata i dessa försök. Detta innebär att det är svårt att avgöra i vilken grad dose-and-move var mer selektivt för resistens än allmän praxis i Nya Zealand, där får ibland avmaskas vid sex tillfällen per betessäsong (Vlassoff och Brundson 1981; Leathwick et al. 2015). Som påtalats ovan har flera oberoende studier visat att frekvent läkemedelsanvändning är en viktig riskfaktorer för selektion av resistens (Falzon et al., 2014).

Vidare bör noteras att exempelvis i Storbritannien, där man under det senaste decenniet ivrigt har förespråkat refugia -baserade strategier (*https://www.scops.org.uk/*), ändå har haft ett dramatiskt ökande resistensproblem under perioden (Rose Vineer et al., 2020). Dessutom, i en analys av orsaker till uppkomst av ivermektin-resistens på 205 fårgårdar i västra Australien, kunde man konkludera att användandet av dose-and-move i stället tycktes minska risken för resistensutveckling (Suter et al., 2005). I samma studie dras även slutsatsen att fårbönder som använde veterinärer för råd om hantering av maskkontroll hade ungefär hälften så stor

risk att utveckla ivermektin-resistens hos parasiterna än de som förlitade sig på andra källor.

Den svenska situationen

Oavsett om dose-and-move antas resultera i resistens eller inte måste man notera att metoden är effektiv och momentant ger bra maskkontroll. Såväl kort- som långsiktigt leder detta till ett minskat behov för avmaskningar i synnerhet om *Haemonchus* finns i besättningen eftersom den annars snabbt och i hög grad kan återinfektera djuren. Detta visar bland annat svenska erfarenheter där praxis i merparten av landets fårbesättningar är att ta träckprover från såväl tackorna som lammen och bara avmaska om behov föreligger (Höglund et al., 2019). Detta för att säkerställa att uppbyggnaden av larvsmitta på betesmark fördröjs så länge som möjligt vilket i sin tur minskar risken för omfattande maskinfektioner framför allt hos de växande lammen. I en nyligen publicerad studie noterade vi att vissa tackgrupper hade i medeltal tusentals maskägg per gram träck, varav merparten var *Haemeonchus*, inför betessläpp (Höglund et al., 2021). Att inte avmaska dessa djur torde innebära en dålig start på betet, med stor risk för hälsostörningar framför allt hos deras lamm.

När det gäller de maskar som övervintrar på betet kan man anta att det även fortsatt finns larver i refugia där när djuren släpps ut på våren eller flyttas till nya betesmarker som har använts tidigare. Däremot skulle det kunna innebära en risk när avmaskade djur släpps ut på eller flyttas till parasitfria (sterila) beten som exempelvis en vallåterväxt. För parasiter som i stället huvudsakligen övervintrar inuti djuren som inhiberade larver, till exempel *Haemonchus* (Troell et al., 2005), kan det vara större risk för resistensutveckling om man avmaskar inför betessläpp. Å andra sidan, om man av detta skäl väljer att inte avmaska torde det innebära såväl risk för sjukdom och produktionsstörning liksom behov av tätare avmaskningar. Detta på grund av att *Haemonchus* hör till de mest patogena maskarna och har så hög reproduktionspotential; honorna lägger många ägg och utvecklingen till smittsam larv går fort.

Vid avmaskning i grindhålet introduceras dock en mindre mängd parasiter som inte utsätts för avmaskningsmedlet i form av de ägg som släpps via djurens allra första träck på det nya betet och även i form av den träck som mekaniskt följer med på bland annat djurens klövar. Det har också visat sig att i praktiken slipper ofta enstaka individer igenom utan att ha blivit avmaskade när en större grupp djur hanteras. Detta kan eventuellt vara en förklaring till att resistensstatus var god såväl för ivermektin som benzimidazoler vid den senaste systematiskt utförda kartläggningen i Sverige (Höglund et al., 2009). Detta alltså trots mångårig praxis av gruppbehandling av tackor inför betessläpp och/eller olika åldersgrupper på bete. I studien hittades endast två gårdar med bensimidazolresistenta *Haemonchus* i ett 40-tal slumpvis utvalda fårbesättningar. Som ett resultat av undersökningen förespråkades därefter avmaskning med ivermektin i flockar med risk för problem till följd av stora löpmagsmasken. Under senare år har alltså användningen av ivermektin till får ökat samtidigt som allt fler gårdar har konstaterats ha resistensproblem särskilt gällande stora löpmagsmasken. Orsakerna till detta är inte fastställda men misstänks delvis bero på att resistenta maskar har importerats till landet och därefter spridits vidare (Höglund et al., 2015). Vi kan dock konstatera att svenska får i regel endast avmaskas vid enstaka tillfällen årligen och ofta med fokus på olika djurgrupper vid olika tillfällen. Kanske bidrar även detta till att refugia upprätthålls.

Om vi accepterar att dose-and-move är en högriskstrategi vad gäller resistensutveckling, och därför vill verka för att späda ut bidraget från resistenta genotyper till efterföljande maskgenerationer på gården kan olika åtgärder vidtas. En viktig grundregel är att använda högeffektiva avmaskningsmedel (>99 %) och lämna ett mindre slumpmässigt urval bland de tyngsta (resilienta) djuren obehandlade inför flytt till ett parasitfritt bete (Gaba et al., 2012). Ett annat alternativt är att alla djur flyttas någon dag innan de avmaskas (move-and-dose) (Fig 1).

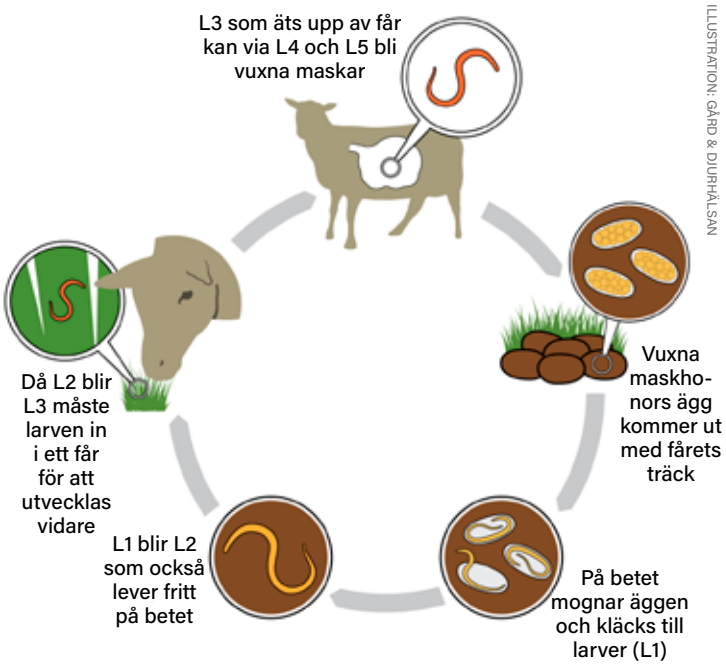

ILLUSTRATION: GÅRD & DJURHÄLSAN

Fåren smittas när de betar gräs som innehåller smittsamma mikroskopiska larver som utvecklas ur äggen.

Slutord

Även om det teoretiskt låter övertygande att refugia-baserade metoder fördröjer utvecklingen av läkemedelsresistenta parasitmaskar är kunskapen om hur detta fungerar i praktiken fortfarande mycket begränsad. Flera frågor återstår att besvara. Exempelvis hur stor andel av populationen som måste vara i refugia för att metoden ska fungera? Vilken betydelse har parasiternas artsammansättning och val av avmaskningsmedel? Vilken roll spelar förhållanden som påverkar parasiternas populationsdynamik såsom miljö och produktionssystem? Hur påverkas betydelsen av refugia av de olika genetiska faktorer som orsakar resistens? En viktig pusselbit i sammanhanget är att ta reda på vilka gener som är kopplade till resistens för olika substanser och om dessa anlag är dominanta eller recessiva.

Att mer exakt förstå hur man ska göra i praktiken är alltså långt ifrån fastställt. Kunskapen om vad som krävs för att refugia ska fungera och hur överförbar strategin är mellan olika parasitvärdsystem, i olika uppfödningsmiljöer och vid användning av olika läkemedel är till stor del okända. En viktig del är att förstå hur stor andel djur som kan förbli obehandlade för att uppnå balansen mellan effektiv parasitkontroll och hantering av läkemedelsresistens. Ytterligare forskning om de underliggande principerna behövs alltså för att validera och optimera tillämpningen av refugia.

I slutändan måste vi vara medvetna om att målet för effektiv parasitbekämpning trots allt är att begränsa antalet larver på betet och därmed minska risken för att djuren infekteras med så många patogena parasiter att det medför negativa konsekvenser. De framtida utmaningarna är onekligen många. •

FORTSÄTTER PÅ NÄSTA SIDA ▸

REFERENSER

1. *Barnes, E.H., Dobson, R.J., Barger, I.A., 1995. Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. Parasitol. Today 11, 56–63. https://doi.org/10.1016/0169-4758(95)80117-0*

2. *Besier, B., Aucamp, J., Wyk, V., Besier, R.B., Kahn, L.P., Sargison, N.D., Wyk, J.A. Van, Van Wyk, J.A., Besier, B., Aucamp, J., Wyk, V., Besier, R.B., Kahn, L.P., Sargison, N.D., Wyk, J.A. Van, 2016. The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of Haemonchus contortus Infection in Small Ruminants. Adv. Parasitol. 93, 95–143. https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.02.022*

3. *Borgsteede, F.H.M., Dercksen, D.D., Huijbers, R., 2007. Doramectin and albendazole resistance in sheep in The Netherlands. Vet. Parasitol. 144, 180–183. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.09.031*

4. *Burgess, C.G.S., Bartley, Y., Redman, E., Skuce, P.J., Nath, M., Whitelaw, F., Tait, A., Gilleard, J.S., Jackson, F., 2012. A survey of the trichostrongylid nematode species present on UK sheep farms and associated anthelmintic control practices. Vet. Parasitol. 189, 299–307. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.04.009*

5. *Charlier, J., Morgan, E.R., Rinaldi, L., Van Dijk, J., Demeler, J., Höglund, J., Hertzberg, H., Van Ranst, B., Hendrickx, G., Vercruysse, J., Kenyon, F., Ranst, B. Van, Hendrickx, G., Vercruysse, J., Kenyon, F., 2014. Practices to optimise gastrointestinal nematode control on sheep, goat and cattle farms in Europe using targeted (selective) treatments. Vet. Rec. 175, 250–255. https://doi.org/10.1136/vr.102512*

6. *Coles, G.C., Rhodes, A.C., Wolstenholme, A.J., 2005. Rapid selection for ivermectin resistance in Haemonchus contortus. Vet. Parasitol. 129, 345–347. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.02.002*

7. *Dimander, S.-O., Höglund, J., Uggla, A., Spörndly, E., Waller, P.J., 2003. Evaluation of gastro-intestinal nematode parasite control strategies for first-season grazing cattle in Sweden. Vet. Parasitol. 111, 193–209. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00380-1*

8. *Dobson, R.J., Besier, R.B., Barnes, E.H., Love, S.C.J.J., Vizard, A., Bell, K., Le Jambre, L.F., 2001. Principles for the use of macrocyclic lactones to minimise selection for resistance. Aust. Vet. J. 79, 756–761. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2001.tb10892.x*

9. *Falzon, L.C.C., O'Neill, T.J., Menzies, P.I.I., Peregrine, A.S.S., Jones-Bitton, A., VanLeeuwen, J., Mederos, A., O'Neill, T.J., Menzies, P.I.I., Peregrine, A.S.S., Jones-Bitton, A., VanLeeuwen, J., Mederos, A., 2014. A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. Prev. Vet. Med. 117, 388–402. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.07.003*

10. *Gaba, S., Cabaret, J., Chylinski, C., Sauvé, C., Cortet, J., Silvestre, A., 2012. Can efficient management of sheep gastro-intestinal nematodes be based on random treatment? Vet. Parasitol. 190, 178–184. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.06.011*

11. *Greer, A.W., Van Wyk, J.A., Hamie, J.C., Byaruhanga, C., Kenyon, F., 2020. Refugia-Based Strategies for Parasite Control in Livestock. Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract. 36, 31–43. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.003*

12. *Halvarsson, P., Höglund, J., 2021. Sheep nemabiome diversity and its response to anthelmintic treatment in Swedish sheep herds. Parasit. Vectors 14, 114. https://doi.org/10.1186/s13071-021-04602-y*

13. *Höglund, J., Carlsson, A., Gustafsson, K., 2021. Effects of lambing season on nematode faecal egg output in ewes. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports 26, 100633. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100633*

14. *Höglund, J., Elmahalawy, S.T., Halvarsson, P., Gustafsson, K., 2019. Detection of Haemonchus contortus on sheep farms increases using an enhanced sampling protocol combined with PCR based diagnostics. Vet. Parasitol. X 2, 100018. https://doi.org/10.1016/j.vpoa.2019.100018*

15. *Höglund, J., Gustafsson, K., Ljungström, B.-L., Engström, A., Donnan, A., Skuce, P., 2009. Anthelmintic resistance in Swedish sheep flocks based on a comparison of the results from the faecal egg count reduction test and resistant allele frequencies of the β-tubulin gene. Vet. Parasitol. 161, 60–68. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.12.001*

16. *Höglund, J., Gustafsson, K., Ljungström, B.L., Skarin, M., Varady, M., Engström, F., 2015. Failure of ivermectin treatment in Haemonchus contortus infected-Swedish sheep flocks. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports 1–2, 10–15. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.02.001*

17. *Jackson, F., Bartley, D., Bartley, Y., Kenyon, F., 2009. Worm control in sheep in the future. Small Rumin. Res. 86, 40–45. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.09.015*

18. *James, C.E., Hudson, A.L., Davey, M.W., 2009. Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest? Trends Parasitol. 25, 328–335. https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.04.004*

19. *Kaplan, R.M., 2020. Biology, Epidemiology, Diagnosis, and Management of Anthelmintic Resistance in Gastrointestinal Nematodes of Livestock. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 36, 17–30. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.001*

20. *Kotze, A.C., Hunt, P.W., Skuce, P., von Samson-Himmelstjerna, G., Martin, R.J., Sager, H., Krücken, J., Hodgkinson, J., Lespine, A., Jex, A.R., Gilleard, J.S., Beech, R.N., Wolstenholme, A.J., Demeler, J., Robertson, A.P., Charvet, C.L., Neveu, C., Kaminsky, R., Rufener, L., Alberich, M., Menez, C., Prichard, R.K., 2014. Recent advances in candidate-gene and whole-genome approaches to the discovery of anthelmintic resistance markers and the description of drug/receptor interactions. Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist. 4, 164–184.*

21. *Molento, M.B., 2009. Parasite control in the age of drug resistance and changing agricultural practices. Vet. Parasitol. 163, 229–234. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.06.007*

22. *Rose Vineer, H., Morgan, E.R., Hertzberg, H., Bartley, D.J., Bosco, A., Charlier, J., Chartier, C., Claerebout, E., de Waal, T., Hendrickx, G., Hinney, B., Höglund, J., Ježek, J., Kašný, M., Keane, O.M., Martínez-Valladares, M., Mateus, T.L., McIntyre, J., Mickiewicz, M., Munoz, A.M., Phythian, C.J., Ploeger, H.W., Rataj, A.V., Skuce, P.J., Simin, S., Sotiraki, S., Spinu, M., Stuen, S., Thamsborg, S.M., Vadlejch, J., Varady, M., von Samson-Himmelstjerna, G., Rinaldi, L., 2020. Increasing importance of anthelmintic resistance in European livestock: creation and meta-analysis of an open database. Parasite 27, 69. https://doi.org/10.1051/parasite/2020062*

23. *Schnyder, M., Torgerson, P.R., Schönmann, M., Kohler, L., Hertzberg, H., 2005. Multiple anthelmintic resistance in Haemonchus contortus isolated from South African Boer goats in Switzerland. Vet. Parasitol. 128, 285–290. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.12.010*

24. *Smith, W.D., Zarlenga, D.S., 2006. Developments and hurdles in generating vaccines for controlling helminth parasites of grazing ruminants. Vet. Parasitol. 139, 347–359. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.04.024*

25. *Suter, R.J., McKinnon, E.J., Perkins, N.R., Besier, R.B., 2005. The effective life of ivermectin on Western Australian sheep farms—A survival analysis. Prev. Vet. Med. 72, 311–322. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.07.014*

26. *Sutherland, I., Scott, I., 2010. Gastrointestinal nematodes of sheep and cattle : biology and control, 1st ed. Wiley-Blackwell, Oxford, United Kingdom.*

27. *Van Wyk, J.A., Hoste, H., Kaplan, R.M., Besier, R.B., 2006. Targeted selective treatment for worm management--how do we sell rational programs to farmers? Vet. Parasitol. 139, 336–46. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.04.023*

28. *Waghorn, T., Leathwick, D., Miller, C., Atkinson, D., 2008. Brave or gullible: Testing the concept that leaving susceptible parasites in refugia will slow the development of anthelmintic resistance. N. Z. Vet. J. 56, 158–163. https://doi.org/10.1080/00480169.2008.36828*

29. *Waghorn, T., Miller, C., Oliver, A.-M., Leathwick, D., 2009. Drench-and-shift is a high-risk practice in the absence of refugia. N. Z. Vet. J. 57, 359–363. https://doi.org/10.1080/00480169.2009.64723*

30. *Waller, P.J., Donald, A.D., Dobson, R.J., Lacey, E., Hennessy, D.R., Allerton, G.R., Prichard, R.K., 1989. Changes in anthelmintic resistance status of Haemonchus contortus and Trichostrongylus colubriformis exposed to different anthelmintic selection pressures in grazing sheep. Int. J. Parasitol. 19, 99–110. https://doi.org/10.1016/0020-7519(89)90027-1*

31. *Waller, P.J., Ljungström, B.L., Schwan, O., Martin, L.R., Morrison, D.A., Rydzik, A., 2006. Biological control of sheep parasites using Duddingtonia flagrans: Trials on commercial farms in Sweden. Acta Vet. Scand. 47, 23–32. https://doi.org/10.1186/1751-0147-47-23*