



# Gastrointestinala parasiter hos alpäckor i svenska besättningar

---

Ronja Rapp

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

Uppsala 2024





# Gastrointestinala parasiter hos alpackor i svenska besättningar

*Gastrointestinal parasites affecting alpacas in Swedish herds*

Ronja Rapp

**Handledare:** Peter Halvarsson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

**Examinator:** Frida Martin, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX1003

**Program/utbildning:** Veterinärprogrammet

**Kursansvarig inst.:** Institutionen för kliniska vetenskaper

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2024

**Omslagsbild:** Foto av Ida Ek

**Upphovsrätt:** Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

**Nyckelord:** Alpacka, gastrointestinala parasiter, smittspridning, nematoder, koccidier, *Haemonchus contortus*, PCR, ddPCR

**Sveriges lantbruksuniversitet**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Veterinärprogrammet



## Sammanfattning

Alpackor är ett relativt nytt djurslag i Sverige och antalet alpackabesättningar ökar successivt. Infektioner orsakade av gastrointestinala parasiter är vanligt förekommande hos alpackor och har potential att orsaka allvarlig sjukdom och dödsfall. Många gastrointestinala parasiter som förekommer hos alpackor är generalister och kan smitta andra idisslande lantbruksdjur. Syftet med denna studie var att genomföra en kartläggning av gastrointestinala parasiter hos alpackor i svenska besättningar och undersöka om dessa parasiter delas med andra djurslag. Ytterligare ett syfte med studien var att utforska olika DNA-baserade metoder för att påvisa gastrointestinala parasiter hos djurslaget alpacka.

Totalt deltog 13 alpackagårdar, varav 7 även hade andra lantbruksdjur. Gårdarna fick besvara en digital enkät angående djurhållning och skötselrutiner. Parallellt med detta ombads gårdarna samla in individuella träckprov från både sina alpackor och andra idisslande djurslag på gården. Proverna analyserades först individuellt med McMaster-metoden och därefter med flera olika DNA-baserade metoder i form av samlingsprover. Förekomsten av *Haemonchus contortus* undersöktes med qPCR och ddPCR, *Trichostrongylus* spp. med ddPCR och *Eimeria* spp. samt *Nematodirus battus* med multiplex- och standard-PCR följt av gelelektrofores. Dessutom skickades några prover i väg för extern analys i form av DNA-sekvensering.

Resultaten från samtliga laboriemetoder påvisade åtta olika arter samt ytterligare tre släkten av gastrointestinala parasiter hos alpackor i svenska besättningar. Information från enkäten jämfördes med resultaten från laborieanalyserna för att hitta eventuella riskfaktorer kopplade till ökad parasitförekomst hos alpackorna. Dock kunde ingen sådan riskfaktor identifieras. Flera parasitarter delades mellan alpackor och andra djurslag på gården, men inga statistiska samband för smittspridning kunde identifieras. Stora gårdar hade generellt en lägre förekomst av vissa parasiter, förmodligen på grund av bättre rutiner för smittskydd. Slutligen bekräftade studien att qPCR och ddPCR var effektiva metoder för att detektera *H. contortus*-infektion hos alpackor och gav överensstämmande resultat.

Studien representerar en av de första kartläggningarna av gastrointestinala parasiter hos alpackor under svenska förhållanden, vilket utgör en väsentlig grund för framtida forskning inom området. Trots detta anses ytterligare forskning vara motiverad för att skapa en heltäckande bild av parasitförekomsten hos svenska alpackor, samt för att få en djupare förståelse kring smittspridningen mellan alpackor och andra lantbruksdjur. Detta är av stor vikt för att kunna utforma effektiva rekommendationer kring djurhållning, minska smittspridningen och därigenom även reducera djurlidande.

*Nyckelord:* Alpacka, gastrointestinala parasiter, smittspridning, nematoder, koccidier, *Haemonchus contortus*, PCR, ddPCR

## Abstract

The presence of alpacas in Sweden is relatively new, and the alpaca population is gradually increasing. Infections caused by gastrointestinal parasites are common among alpacas, posing a significant risk of severe illness and mortality. Numerous gastrointestinal parasites, known to affect alpacas, also have the potential to infect other domestic farm animals. The aim of this study was to conduct a survey of gastrointestinal parasites in alpacas within Swedish herds and to investigate the potential cross-species transmission of these parasites. Additionally, the study aimed to explore various DNA-based methods for detecting gastrointestinal parasites in alpacas.

Thirteen alpaca farms participated in the study, with seven of them also housing other farm animals. The farms were required to answer a digital survey regarding their animal husbandry practices and routines. Simultaneously, they were instructed to collect individual feces samples from both their alpacas and other ruminant species on the farm. The samples were first analyzed individually with the McMaster method, followed by several DNA-based methods on pooled samples. The presence of *Haemonchus contortus* was examined using qPCR and ddPCR, *Trichostrongylus* spp. using ddPCR and *Eimeria* spp. and *Nematodirus battus* using standard PCR and gel electrophoresis. Additionally, a few samples underwent an external DNA sequencing analysis.

The results obtained from the laboratory methods revealed eight species and three additional genera of gastrointestinal parasites in alpacas within Swedish herds. To identify potential risk factors associated with an increased parasite prevalence in alpacas, information from the questionnaire was compared with the results from laboratory analyses. However, no significant risk factors could be pinpointed. Although several parasite species were found to be shared between alpacas and other examined farm animals, no statistical relationships regarding the spread of infection could be established. An interesting discovery from the study revealed that alpacas on large farms had a lower prevalence of certain parasites. This was probably due to more effective infection control routines implemented on these larger farms. Finally, the study confirmed that qPCR and ddPCR were effective methods for detecting *H. contortus* in alpacas, producing concordant results.

This study represents one of the first examinations of gastrointestinal parasites in Swedish alpacas and constitutes a significant foundation for future research. Nevertheless, further studies are necessary to construct a comprehensive understanding of parasite prevalence in Swedish alpacas and obtain a deeper understanding of infection transmission between alpacas and other farm animals. This knowledge is essential for formulating effective recommendations regarding animal husbandry, reduce the spread of infection and thereby prevent animal suffering.

**Keywords:** Alpaca, gastrointestinal parasites, cross-species transmission, nematodes, coccidia, *Haemonchus contortus*, ddPCR

# Innehållsförteckning

<b>Tabellförteckning .....</b>	<b>9</b>
<b>Figurförteckning.....</b>	<b>10</b>
<b>Förkortningar .....</b>	<b>11</b>
<b>1. Inledning .....</b>	<b>13</b>
<b>2. Litteraturoversikt.....</b>	<b>15</b>
2.1 Alpackan .....	15
2.1.1 Taxonomi, anatomi och karaktäristika .....	15
2.1.2 Alpackans historia.....	16
2.1.3 Alpackans utbredning .....	17
2.2 Parasitförekomst hos alpackor.....	17
2.3 Nematoder .....	18
2.3.1 Livscykel .....	18
2.3.2 Symptom.....	19
2.4 Leverflundror och bandmaskar .....	21
2.5 Koccidier .....	21
2.5.1 Livscykel .....	21
2.5.2 Symptom.....	22
2.6 Diagnostiska metoder för påvisande av gastrointestinala parasiter .....	22
2.6.1 Rutinmässiga metoder .....	22
2.6.2 Metoder för klassificering på artnivå .....	23
<b>3. Material och metod .....</b>	<b>26</b>
3.1 Urval av gårdar.....	26
3.2 Enkät.....	27
3.3 Provtagning.....	27
3.4 McMaster och flotation .....	28
3.5 DNA-extraktion.....	29
3.6 PCR-metoder .....	30
3.6.1 qPCR <i>Haemonchus contortus</i> .....	31
3.6.2 ddPCR <i>Haemonchus contortus</i> och <i>Trichostrongylus</i> spp.....	31

3.6.3	Multiplex PCR <i>Eimeria</i> spp. ....	32
3.6.4	PCR <i>Nematodirus battus</i> .....	33
3.6.5	DNA-sekvensering av nematodlarver .....	33
3.7	Statistik .....	33
<b>4.</b>	<b>Resultat .....</b>	<b>34</b>
4.1	Enkät svar kopplade till parasitfynd .....	34
4.2	McMaster och flotation .....	36
4.3	qPCR och ddPCR .....	38
4.4	<i>Eimeria</i> spp. ....	41
4.5	<i>Nematodirus battus</i> .....	41
4.6	DNA-sekvensering .....	42
<b>5.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>44</b>
5.1	Jämförelser Sydamerika och Sverige .....	44
5.2	Fynd från McMaster samt felkällor .....	45
5.3	Fynd från PCR och jämförelser av PCR-analyser .....	46
5.4	Statistisk analys, riskfaktorer och förbättringsförslag .....	47
5.5	Friska djur trots patogena parasiter .....	48
5.6	Konklusion .....	49
	<b>Referenser .....</b>	<b>50</b>
	<b>Populärvetenskaplig sammanfattning .....</b>	<b>54</b>
	<b>Tack .....</b>	<b>56</b>
	<b>Bilaga 1 .....</b>	<b>57</b>



# Tabellförteckning

Tabell 1. Släkten av gastrointestinala parasiter påvisade hos alpackor i sina ursprungsländer .....	18
Tabell 2. Information kring nematodernas livscykel, symptombild samt morfologisk beskrivning utav äggen .....	20
Tabell 3. Information kring deltagande gårdar .....	26
Tabell 4. Samtliga primrar som använts till arbetets PCR-metoder samt referenser .....	31
Tabell 5. Odds ratio för riskfaktorer kopplade till parasitfynd .....	34
Tabell 6. Förekomsten av samtliga parasiter påvisade hos alpackor genom McMaster- metoden och flotation .....	38
Tabell 7. Samtliga resultat från qPCR och ddPCR för djurslaget alpaca.....	40
Tabell 8. Förekomsten av <i>Eimeria</i> spp. hos alpackor och andra analyserade djurslag utifrån DNA-baserade metoder .....	41
Tabell 9. Resultat från DNA-sekvenseringen .....	43

# Figurförteckning

Figur 1. Karta med de deltagande gårdarna .....	27
Figur 2. McMaster räknekammare innehållande prover från två alpackor.....	28
Figur 3. Prover från fem alpackor med menisk inför flotationsanalys .....	29
Figur 4. Skillnader i träckprovsrutiner mellan stora och små gårdar.....	35
Figur 5. Skillnader i karantänrutiner mellan stora och små gårdar .....	36
Figur 6. Skillnader i avmaskningsrutiner vid inköp av nya djur mellan stora och små gårdar.....	36
Figur 7. Lådagram beskrivande förekomsten av trichostrongylida ägg och oocystor från <i>Eimeria</i> spp. hos samtliga analyserade djurslag med metoden McMaster .....	37
Figur 8. Parasitägg identifierade genom McMaster och flotation.....	37
Figur 9. Resultat ddPCR .....	38
Figur 10. Resultat från gelelektrofores med primer för <i>N. battus</i> .....	42
Figur 11. Resultat från gelelektrofores med primers NC1 och NC2 .....	42

## Förkortningar

ddPCR	Droplet Digital Polymerase Chain Reaction
DNA	Deoxyribonucleic acid
EPG	Egg per gram
NWC	New world camelids
OPG	Oocysts per gram
PCR	Polymerase Chain Reaction
qPCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction
SAC	South American camelids



# 1. Inledning

Alpackan är ett sydamerikanskt kameldjur med ursprung från Anderna och hade tidigare en begränsad utbredning till Sydamerika (Fowler 2010:10–11). Under de senaste decennierna har arten exporterats och spridits över stora delar av världen. Intresset för alpackor ökar även i Sverige, vilket har resulterat i ett växande antal alpackabesättningar (Björklund *et al.* 2019). Sjukdomsförekomsten hos alpackor har främst studerats i Sydamerika, där gastrointestinala parasiter har visat sig utgöra en vanlig orsak till infektion (Cañal & Beltrame 2022). Dessa parasiter har potential att orsaka allvarlig sjukdom med stort djurlidande som följd (Fowler 2010:254). En del av dessa parasiter är specifika för kameldjur, medan andra är generalistiska arter och kan smitta nära besläktade djurslag, såsom nötkreatur, får och getter (Rashid *et al.* 2019; Cañal & Beltrame 2022). Ett exempel är nematodparasiten *Haemonchus contortus* som vanligen infekterar får men som även har påträffats hos alpackor och kan orsaka allvarliga symptom (Fowler 2010:260).

Det första syftet med studien är att undersöka vilka gastrointestinala parasiter som förekommer hos alpackor i svenska besättningar. Det finns bara en publicerad studie om förekomsten av inälvsparasiter hos alpackor under svenska förhållanden, men den är gjord på avlivade alpackor (Björklund *et al.* 2019). Vidare ämnar studien att utforska ett antal DNA-baserade metoder för att påvisa gastrointestinala parasiter hos alpackor, med fokus på *H. contortus*. Ett tredje syfte med studien är att undersöka om det förekommer gemensamma parasitarter hos alpackor och inhemska lantbruksdjur.

För att uppfylla dessa syften har följande frågeställningar formulerats:

- Vilka släkten av gastrointestinala parasiter kan påvisas i träckprov från alpackor genom standardmetoder?
- Vilka specifika parasitarter kan bekräftas hos alpackor med hjälp av DNA-baserade metoder, och finns dessa gemensamt hos andra djurslag på gården?
- Är metoderna qPCR och ddPCR likvärdiga när det gäller att detektera förekomsten av *H. contortus*-infektion hos alpackor?

- Går det att identifiera riskfaktorer som ökar förekomsten av gastrointestinala parasiter hos alpackor?

Detta arbete är motiverat av flera viktiga skäl. I) Att belysa förekomsten av gastrointestinala parasiter, med både traditionella och molekylära metoder, bland alpackor i Sverige är av stor betydelse för att ge allmänna veterinärer en bredare och förfinad kunskapsbas om detta djurslag och möjliggöra mer adekvat rådgivning. Med tanke på att Sveriges klimat skiljer sig från det i Sydamerika, där alpackor ursprungligen kommer ifrån, kan parasitförekomsten variera betydligt. Denna variation kan potentiellt innebära olika strategier för till exempel avmaskning och karantän. II) Resultaten från denna studie bidrar till ökad förståelse kring smittspridning mellan olika djurarter. Detta kan i sin tur användas som underlag för rekommendationer gällande beteshantering. III) Studien identifierar riskfaktorer för smittspridning, en kunskap som anses vara av stor vikt för att utforma effektiva förebyggande åtgärder. Genom att minska riskerna för sjukdomsutbrott och därmed reducera djurlidande, kan studien bidra till en mer hållbar och välmående alpackapopulation i Sverige.

## 2. Litteraturöversikt

### 2.1 Alpackan

#### 2.1.1 Taxonomi, anatomi och karaktäristika

Alpackan är en domesticerad art inom gruppen sydamerikanska kameldjur och har sitt ursprung i Anderna (Fowler 2010:3, 9). Kameldjuren är indelade i tre släkten: *Camelus* som inkluderar arterna kamel och dromedar, *Lama* som omfattar guanaco och lama, samt *Vicuña* med arterna vicuña och alpaca. I litteraturen benämns guanaco, lama, vicuña och alpackan som "Nya världens kameldjur" (New world camelids, NWC) eller "Sydamerikanska kameldjur" (South American camelids, SAC). Den allra första arten inom gruppen SAC var *Hemiauchenia*, som migrerade till Anderna för ungefär 3 miljoner år sedan. Från denna art utvecklades sedan släktena lama, vicuña och paleolama. Alpackan utvecklades långt senare, från släktet vicuña, och blev domesticerad för cirka 5000–6000 år sedan. Laman är också domesticerad, medan guanaco och vicuña utgör vilda arter än idag.

Det finns två olika raser av alpackor, Huacaya och Suri, med olika ullkaraktäristika (Fowler 2010:6–7, 12, 13). Huacaya är den vanligaste rasen och har ull som växer vinkelrätt från huden med en lätt krökning, vilket ger en fluffig ull liknande fårets. Suri, å andra sidan, har en ull med längre ullfibrer som hänger vertikalt längs med kroppsidorna. Ullen kan anta 22 olika färger, allt ifrån vit till svart med olika nyanser och färgkombinationer däremellan. Alpackan är den främsta ullproducenten bland alla SAC i Anderna. Utöver ullproduktion har alpackan olika användningsområden. I Sydamerika slaktas alpackor för köttproduktion (Fowler 2010:15), vilket är mindre vanligt i andra delar av världen. I Sverige hålls alpackor främst för ullproduktion, men även för avel, landskapsvård, utställning och som sällskapsdjur (Verdier & Bornstein 2010).

Alpackans anatomi är unik för kameldjur och skiljer sig på flera sätt från traditionella idisslare (Fowler 2010:13–14, 364–365, 369–371). En betydande skillnad är att alpackan har en magsäck med tre avdelningar, som kallas "compartments", till skillnad från idisslarnas fyra magar. Fodret passerar genom esofagus

som mynnar i C-1, och därefter genom C-2 och C-3 innan det når tunntarmen. Alpackan idisslar och bildar energi i form av flyktiga fettsyror (volatile fatty acids, VFA) och idisslingsfrekvensen kan mätas till 3–4 kontraktioner per minut när djuret är i vila. Vidare har alpackor en spiralformad colon där träcken formas till små pelletsliknande bollar, ca 2x1 cm i storlek. När det gäller defektering använder kameldjur generellt en gemensam yta för att uträtta sina behov, liknande en slags toalett, där de undviker att beta.

### 2.1.2 Alpackans historia

Alpackor har spelat en betydande roll för ursprungsbefolkningen i Anderna (Fowler 2010:10–11). Efter att alpackan och laman hade domesticerats, spreds arterna geografiskt och försörjde befolkningen i inkariket genom att tillhandahålla mat, bränsle, kläder och transport. Dessutom hade alpackorna en religiös betydelse för folket. Under 1200- och 1300-talet nådde aveln och produktionen sin historiska kulmen. Denna produktion var noga övervakad och kontrollerad av regeringen.

Drastiska förändringar i Sydamerika resulterade i att populationen av alpackor reducerades och arten anpassades till extrema miljöer (Emporia alpacka u.å.). Under 1500-talet invaderades Peru av spanjorer, som insåg att alpackorna försedde ursprungsbefolkningen med resurser, samt konkurrerade om betet med de får som spanjorerna hade fört med sig. För att kontrollera ursprungsbefolkningen inledde spanjorerna därför en masslakt av alpackor. Uppskattningsvis utrotades cirka 90 % av världens dåvarande alpackapopulation. En liten grupp människor lyckades gömma alpackor från spanjorerna genom att fly upp i bergen. Denna omställning påverkade djuren och ledde till en form av naturligt urval. Resultatet är att alpackan har utvecklats till ett motståndskraftigt och friskt djur, vilket är karakteristiskt för dem än idag.

Historiskt sett har exporten av alpackor varit begränsad (Fowler 2010:10–11; Österlen alpacka u.å.). Under 1800-talet var det först tillåtet att exportera kameldjur från Sydamerika till djurparker i andra länder, men år 1843 infördes ett förbud mot export av levande alpackor i Peru. Senare beslutade samtliga länder i Anderna att införa ett gemensamt exportförbud av SAC för att skydda arterna från exploatering. Trots detta reducerades alpackapopulationen ytterligare på grund av omständigheter som extremtorka, jordbruksreformer och Perus militärkupp 1969. För att bevara arten, och öka dess chanser till överlevnad, lättades exportrestriktionerna för alpackor och lamor på 1980-talet. Därefter började alpackor exporteras till USA och sedan till Europa.



### 2.1.3 Alpackans utbredning

Majoriteten av världens alpackapopulation, ungefär 2–3 miljoner individer, lever i Anderna (Emporia alpacka u.å.). I USA finns den största alpackapopulationen utanför Sydamerika med omkring 60–100 000 djur, följt av Australien och Nya Zeeland. England har störst alpackapopulation i Europa med ungefär 30 000 djur.

#### *Alpackor i Sverige*

Intresset för alpackor ökar i Sverige och i takt med detta ökar även antalet djur successivt (Verdier & Bornstein 2010). Under våren 2013 uppskattade Svenska alpackaföreningen att det fanns mellan 1500 och 2000 alpackor i landet baserat på enkätstudier (Björklund *et al.* 2019). År 2023 uppskattades antalet alpackor till omkring 2800 enligt Djurregistreringsenheten vid Jordbruksverket. Sjukdomsförekomsten hos alpackor i Sverige är sparsamt studerad, trots den växande svenska alpackapopulationen (Björklund *et al.* 2019).

## 2.2 Parasitförekomst hos alpackor

I detta avsnitt diskuteras majoriteten av de gastrointestinala parasiter som har påvisats hos alpackor. Förra året sammanfattade författarna Cañal & Beltrame (2022) parasitförekomsten hos alpackor i sina ursprungsländer. Denna översikt omfattade 101 publikationer, publicerade mellan år 1936 och 2022. Ungefär hälften av dessa publikationer var kopplade till alpackor, majoriteten publicerade i Peru och övriga från Chile, Bolivia och Ecuador. Studien fokuserade på gastrointestinala helminter och koccidier. Resultaten visade att alpackor kan drabbas av olika parasiter, inklusive nematoder, trematoder, cestoder och koccidier. Majoriteten av de identifierade släktena finns listade i Tabell 1. Nematoder utgör den vanligaste gruppen av gastrointestinala parasiter hos alpackor. I många fall har de påvisats genom mikroskopering, vilket gör det utmanande att särskilja arterna eftersom äggen ofta har liknande morfologi. Merparten av alpackans nematoder är generalister och delas med andra djurslag såsom nötkreatur, får och getter. Dock finns fem värdspecifika arter beskrivna hos SAC. Dessa är *Nematodirus lamae*, *Lamanema chavezii*, *Trichuris tenuis*, *Graphinema aucheniae* och *Camelostrongylus mentulatus*. Endast *N. lamae* och *L. chavezii* har påvisats hos alpacka på artnivå, medan övriga listade har påvisats på släktnivå. Förutom nematoder är koccidier vanligt förekommande hos alpackor, där fem olika arter har påvisats i Sydamerika. Dessa är *Eimeria alpaca*, *Eimeria lamae*, *Eimeria punoensis*, *Eimeria macusaniensis* och *Eimeria ivitaensis*.

Tabell 1. Släkten av gastrointestinala parasiter påvisade hos alpackor i sina ursprungsländer.

Genus	Phylum	Värdspecifik/generalist	Land
<i>Trichostrongylus</i> spp.	Nematod	Generalist	Peru, Chile, Ecuador
<i>Ostertagia</i> spp.	Nematod	Generalist	Peru, Chile, Ecuador
<i>Teladorsagia</i> spp.	Nematod	Generalist	Peru
<i>Haemonchus</i> spp.	Nematod	Generalist	Peru, Ecuador
<i>Cooperia</i> spp.	Nematod	Generalist	Peru, Chile, Ecuador
<i>Nematodirus</i> spp.	Nematod	Generalist men det finns värdspecifika arter	Peru, Chile, Bolivia, Ecuador
<i>Marshallagia</i> sp.	Nematod	Generalist	Peru, Bolivia, Ecuador
<i>Camelostrongylus</i> sp.	Nematod	Värdspecifik	Peru
<i>Lamanema</i> spp.	Nematod	Värdspecifik	Peru, Bolivia, Ecuador
<i>Graphinema</i> sp.	Nematod	Värdspecifik	Peru
<i>Chabertia</i> sp.	Nematod	Generalist	Peru
<i>Trichuris</i> spp.	Nematod	Generalist men det finns värdspecifika arter	Peru, Chile, Bolivia, Ecuador
<i>Capillaria</i> spp.	Nematod	Generalist	Peru, Chile, Bolivia, Ecuador
<i>Fasciola</i> spp.	Trematod	Generalist	Peru, Bolivia
<i>Monezia</i> spp.	Cestod	Generalist	Peru, Bolivia, Ecuador
<i>Eimeria</i> spp.	Koccidier	Värdspecifika arter	Peru, Bolivia, Ecuador

Förekomsten av gastrointestinala parasiter hos alpackor i Europa liknar förekomsten i Sydamerika, även om det finns vissa skillnader. Nematodararter specifika för SAC har huvudsakligen rapporterats i Sydamerika (Ballweber 2009). Undantagen inkluderar *C. mentalatus*, som har påvisats i USA, Australien, Storbritannien och mellanöstern (De Welchman *et al.* 2008; Fowler 2010:260), samt *T. tenuis* som har rapporterats i Storbritannien (De Welchman *et al.* 2008). De generalistiska arterna är dock vanligt förekommande hos alpackor över hela världen (Franz *et al.* 2015). Vidare har stora leverflundran (*Fasciola hepatica*) och lilla leverflundran (*Dicrocoelium dendriticum*) påvisats frekvent hos alpackor i Europa. Även *Moniezia* spp. och *Eimeria* spp. är vanligt förekommande hos europeiska alpackor. Beträffande *Eimeria* spp. har totalt sex arter beskrivits hos djurslaget, men endast fyra av dem anses vanliga; *E. alpaca*, *E. lamae*, *E. macusaniensis* och *E. punoensis* (Ballweber 2009). De övriga två, *Eimeria ivitaensis* och *Eimeria peruviana* har enbart påvisats i Peru respektive dåvarande Sovjetunionen.

## 2.3 Nematoder

### 2.3.1 Livscykel

Parasiternas livscykel spelar en betydande roll för vilka symptom de ger upphov till. Gastrointestinala nematoder har generellt en enkel direkt livscykel (Fowler 2010:259–262). Nematoderna smittar genom ägg som utsöndras via värdjurets

träck. Inne i ägget utvecklas en larv (L-1). Denna larv kläcks ur ägget, livnär sig på mikroorganismer i träcken och genomgår två ytterligare larvstadier, L-2 och L-3. Denna utveckling kan ta olika lång tid beroende på parasitart och externa faktorer, såsom klimat och temperatur. Larver är vanligtvis känsliga för uttorkning, även om vissa arter har utvecklat en ökad tålighet. L-3 utgör det infektiösa larvstadiet och smittar nya värdjur via kontaminerat foder. I värdjuret fortsätter larverna sin utveckling till L-4, L-5 och sedan till adulta maskar. Vissa nematoder kan gå in i ett vilostadium under sin utveckling genom att tränga in i magsäckens slemhinna och bilda noduli. De återupptar sedan sin utveckling när miljöförhållandena blir mer gynnsamma. Denna process kan skada magsäcken och påverka dess funktion. Tiden från att en adult mask utvecklas till att ägg börjar produceras kallas prepatensperiod (Fowler 2010:255–259). Denna period varierar i längd mellan olika nematodarter. De flesta nematoder som har påvisats hos alpäckor har en prepatensperiod på 2–5 veckor. Äggen kan sedan identifieras i träcken med hjälp av träckprov. I Tabell 2 presenteras några skillnader i nematodernas livscyklar samt en detaljerad morfologisk beskrivning av deras ägg.

### 2.3.2 Symptom

Beroende på nematodart och den totala parasitbördan kan symptomen variera från subkliniska till allvarlig sjukdom med dödlig utgång (Franz *et al.* 2015). Generellt orsakar gastrointestinala nematoder skador på mukosan i magsäcken och tarmen, vilket leder till ett tillstånd som kallas gastroenterit (Fowler 2010:254). Symptomen på gastroenterit är ofta ospecifika och kan inkludera inappetens, avmagring och nedsatt tillväxt. I vissa fall kan kroniska infektioner med milda symptom plötsligt förvärras och leda till akuta tillstånd och plötsliga dödsfall (Björklund *et al.* 2019). Nematoder kan även orsaka akuta symptom i form av enterit (Fowler 2010:254, 387–388). Diarré är ett primärt symptom vid enterit, men avföringen kan vara normal eller variera i karaktär och innehålla slem, blod eller osmälta foderpartiklar. Andra symptom på enterit kan inkludera dehydrering, tenesmus, anorexi, kolik, depression eller feber. Det finns också nematoder som orsakar anemi, antingen genom att suga blod eller genom att orsaka skador på tarmen som resulterar i läckage av blod (Fowler 2010:254; Franz *et al.* 2015). I Tabell 2 beskrivs specifika symptom för några olika arter av gastrointestinala nematoder (Fowler 2010:258–262). Sammanfattningsvis kan nematodinfektioner orsaka en varierad skala av symptom, vilket i sin tur kan leda till betydande ekonomiska förluster i form av minskad produktion och plötsliga dödsfall (Windsor *et al.* 1992).

Tabell 2. Information kring nematodernas livscykel, symptombild samt morfologisk beskrivning utav äggen. Blastomerer utgör odifferentierade celler inuti ägget.

Art	Livscykel <sup>1</sup>	Adulta maskar återfinnes i <sup>1</sup>	Specifika symptom <sup>1</sup>	Äggens mått (µm)	Äggens form	Antal blastomerer
<i>Trichostrongylus axei</i>	Direkt	C3	-	70-108x30-48 <sup>2</sup>	Asymmetrisk ellips <sup>2</sup>	16-32 <sup>2</sup>
<i>Ostertagia ostertagi</i>	Direkt med avbrott i magsäckens mukosa	C3	-	74-90x38-40 <sup>2</sup>	Symmetrisk ellips <sup>2</sup>	Många, fyller ut i princip hela ägget <sup>2</sup>
<i>Haemonchus contortus</i>	Direkt, kan genomgå avbrott i magsäckens mukosa	C3	Blodsugande parasit, kan orsaka nedsatt tillväxt, svaghet, utmärgling, blodtillblandad avföring och anemi	62-95x36-50 <sup>2</sup>	Symmetrisk ellips, relativt rund <sup>2</sup>	Många, fyller ut i princip hela ägget <sup>2</sup>
<i>Cooperia spp.</i>	Direkt, ev. avbrott i tarmens mukosa	Tunntarmen	-	74-88x30-44 <sup>2</sup>	Ellips med parallella långsidor <sup>2</sup>	Många, svåra att utlinjera <sup>2</sup>
<i>Nematodirus spathiger</i>	Direkt långsam livscykel, övervintrar på bete, äggen kräver kyla för att kläckas	Tunntarmen	-	175-260x106-110 <sup>2</sup>	Citronformade/spetsig ellips <sup>2</sup>	2-8 <sup>2</sup>
<i>Nematodirus battus</i>	Samma som ovan	Tunntarmen	Påträffas sällan hos kameldjur men kan orsaka allvarlig enterit	152-182x67-77 <sup>2</sup>	Symmetrisk ellips, tegelstensfärgad <sup>2</sup>	2-8 <sup>2</sup>
<i>Nematodirus lamae</i>	Samma som ovan	Tunntarmen	-	Ca 170x90 <sup>3</sup>	Symmetrisk ellips <sup>3</sup>	Multipla <sup>3</sup>
<i>Marshallagia marshalli</i>	Direkt med avbrott i magsäckens mukosa	C3 och tunntarmen	-	178-217x78-100 <sup>1</sup>	-	-
<i>Camelostomylus mentulatus</i>	Direkt med avbrott i magsäckens mukosa	C3	-	78-85x40-50 <sup>1</sup>	-	-
<i>Lamanema chavezii</i>	Direkt, vandrar genom tarmen till lever och lungor, sedan via luftstrupen tillbaka till tarmen	Tunntarmen	Hemorragisk enterit och nekros i tarmslemhinnan. I levern orsakar parasiten stor skada i form av nekros och abscesser. Parasiten kan orsaka allvarliga symptom och dödsfall, främst hos unga djur.	150-170x70-80 <sup>3</sup>	Asymmetrisk ellips <sup>3</sup>	Multipla <sup>3</sup>
<i>Trichuris spp.</i>	Direkt, penetrerar tunntarmens mukosa	Grovtarmen	Blodsugande parasit som kan orsaka skador på tarmslemhinnan. Resistent mot behandling.	70-80x30-42 <sup>2</sup>	Citronformad ellips, brunt innehåll, ljusa poler bilateralt <sup>2</sup>	Finns ej <sup>2</sup>
<i>Capillaria spp.</i>	Direkt	Tunntarmen	-	45-50x22-25 <sup>2</sup>	Ellips med ljusa poler bilateralt <sup>2</sup>	Finns ej, granulerat innehåll <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fowler 2010:254-262

<sup>2</sup> Thienpont 1986:48-49, 56-61

<sup>3</sup> Arias-Pacheco *et al.* 2021

## 2.4 Leverflundror och bandmaskar

Sydamerikanska kameldjur kan infekteras av tre sorters trematoder: stora leverflundran (*Fasciola hepatica*), lilla leverflundran (*Dicrocoelium dendriticum*) och *Fasciola magna* (Ballweber 2009). Dessa trematoder har en indirekt livscykel och kräver närvaro av olika mellanvärdar för smittspridning (Fowler 2010:251–252). Leverflundror kan orsaka både akut och kronisk sjukdom och ge upphov till leverinsufficiens, gallstas, kolangit och anemi. De utsöndrar ägg med hög specifik vikt, vilket gör att det krävs specialmetoder för detektion (Cebra & Stang 2008:31).

*Moniezia* spp. är en grupp bandmaskar som förekommer allmänt över hela världen (Fowler 2010:253–254). Dessa bandmaskar har idisslare som huvudvärdar, även om andra arter, såsom kameldjur, kan infekteras. *Moniezia expansa* och *Moniezia benedeni* är två arter som har påvisats hos kameldjur. De adulta maskarna lever i tarmen hos huvudvärden och kan bli 600 cm långa och 1,6 cm breda. De har en indirekt livscykel med kvalster som mellanvärd. Infekterade djur är oftast symptomfria, men kraftiga angrepp kan orsaka tarmobstruktion och försämrat näringsupptag.

## 2.5 Koccidier

*Eimeria* spp. är en stor grupp koccidier som innehåller många olika arter (Fowler 2010:249–250). Majoriteten är djurslagsspecifika och kan därför inte smitta mellan olika djurslag. Infektioner orsakade av *Eimeria* spp. är vanligt förekommande hos alpackor. Nötkreatur, får och getter kan också infekteras av *Eimeria* spp., men de har egna arter beskrivna (Eckert *et al.* 1995:105–108, 110). Tidigare trodde forskare att får och getter hade flera arter gemensamma, dock har detta motbevisats och nu verkar de som att de flesta arterna är specifika för sitt värddjur. Det finns dock exempel där någon utav fårets arter har påvisats hos getter (Abo-Shehada & Abo-Farieha 2003).

### 2.5.1 Livscykel

*Eimeria* spp. bildar inte ägg utan smittar via oocystor (Fowler 2010:249–250). Sporulerade oocystor infekterar djuret oralt via förorenat foder eller vatten. I tunntarmen frigör oocystan sporozoiter som i sin tur invaderar epitelceller i tarmen. Sporozoiterna växer och bildar merozoiter. Till slut spricker epitelcellen varpå merozoiterna kan infektera nya epitelceller. Denna cykel kan fortgå 2–3 gånger. Därefter bildas honliga och hanliga celler utav merozoiterna inne i epitelcellen. Den hanliga cellen befruktar den honliga och bildar en zygot genom sexuell

fortplantning. Zygoten mognar till en oocysta varpå epitelcellen spricker och oocystan utsöndras via avföringen. Oocystan sporulerar efter 1–2 dagar och kan därefter infektera nya individer. Reinfektion är vanligt i förorenade miljöer och leder till mer omfattande skador på tarmen.

### 2.5.2 Symptom

*Eimeria* spp. kan orsaka allt från subklinisk infektion till allvarlig sjukdom (Fowler 2010:249–250). Allvarliga symptom är vanligast hos yngre individer och kan ha dödlig utgång. *E. macusaniensis* beskrivs som den mest patogena arten hos alpackor, där även vuxna individer kan drabbas av allvarlig sjukdom (Johnson *et al.* 2009). Exempel på symptom orsakade av *E. macusaniensis* är letargi, anorexi, viktminskning, diarré, cirkulatorisk chock och dödsfall (Cebra *et al.* 2007). Den prepatenta perioden är mellan 32–40 dagar vilket innebär att djur kan bli allvarligt sjuka innan de börjar utsöndra oocystor med träcken, vilket försvårar diagnostiken.

## 2.6 Diagnostiska metoder för påvisande av gastrointestinala parasiter

Kliniska symptom kopplade till gastrointestinala parasiter bör väcka misstanke om infektion (Fowler 2010:245). I vissa fall kan adulta maskar detekteras i avföringen hos värdjuret, annars bör en träckprovsundersökning genomföras innan behandling sätts in. En rutinmässig träckprovsundersökning är begränsad på så sätt att äggen/oocystorna endast går att identifiera till släkt- eller familjenivå. För att klassificera parasiter på artnivå kan mer omfattande DNA-baserade metoder bli nödvändiga som komplement. Det finns dock parasitologiska laboratorier som har kompetens att klassificera de flesta trichostrongylida ägg, inklusive *H. contortus*, till art baserat på morfologi (Ljungström *et al.* 2018), men det tillhör undantagen.

### 2.6.1 Rutinmässiga metoder

Metoder för att detektera parasiter hos kameldjur kommer från redan kända metoder som utvecklats för livsmedelsproducerande djur (Cebra & Stang 2008). Flotation och sedimentation är två kvantitativa metoder som kan ange koncentrationen av ägg och/eller oocystor per gram träck (EPG/OPG) (Thienpont 1986:31, 33). Vid användning av flotationsmetoder är syftet att få parasitägget att flyta till ytan, medan sedimentationstekniker används för att koncentrera ägg på botten av en lösning. (Cebra & Stang 2008). Generellt sjunker ägg i vatten medan de flyter till ytan i lösningar med hög specifik gravitation. När äggen flutit upp till ytan kan de fångas in genom att fästa till ett objektglas och sedan analyseras under mikroskop. Det är värt att notera att ingen metod är direkt överlägsen de andra gällande detektion av

samtliga parasiter. I Sverige används flotation enligt Stoll för nematodägg och koccidier, vattensedimentation för leverflundror samt Baermanns trätt-teknik för lungmask (Ljungström, B., Vidilab, pers. medd., 2023). Ytterligare en beskriven metod är direktutstryk som kan användas för att kvantitativt påvisa nematodägg samt rörliga protozoer från färsk träck (Fowler 2010:254), men denna metod används inte i Sverige.

### *McMaster*

McMaster-metoden är en flotationsmetod som ofta används inom parasitologi för att kvantifiera ägg eller oocystor i träckprov från olika djurslag. Träck blandas med flotationslösning som har högre densitet än de ägg och/eller oocystor som önskas studeras (Taylor *et al.* 2016:260, 283). Denna lösning appliceras i en speciell räknekammare som analyseras under mikroskop. Här kan äggen och oocystorna tydligt visualiseras och räknas. Antalet ägg eller oocystor för varje kategori noteras och omvandlas sedan till EPG/OPG med hjälp av en given formel. Det är viktigt att alla prover analyseras under liknande förhållanden för att säkerställa jämförbara resultat (Thienpont 1986:40–41).

## 2.6.2 Metoder för klassificering på artnivå

För att klassificera parasiter på artsnivå kan olika DNA-baserade metoder användas (Taylor *et al.* 2016:277). Dessa metoder kan tillämpas på DNA från ägg, larver och adulta maskar, och kräver endast en liten mängd ursprungsmaterial för att ge mycket exakta resultat. DNA-baserade metoder kan även användas för att konfirmera misstänkta fynd från den rutinmässiga analysen.

### *PCR*

Polymerase Chain Reaction (PCR) är en metod som används för att skapa många kopior av en specifik DNA-sekvens (Taylor *et al.* 2016:277–279). För att genomföra en standardiserad PCR-reaktion behövs följande komponenter; mål-DNA, primrar, polymeras och dNTP innehållande nukleotider. Dessa komponenter blandas och reaktionen utförs i en PCR-maskin, där termiska cykler används för att upprepat kopiera mål-DNA. Processen börjar med att provet hettas upp vilket gör att det dubbelsträngade DNA separerar. Därefter sänks temperaturen vilket gör att primrar binder till mål-DNA. Denna temperatur kallas för annealing-temperatur och kan variera beroende på vilka primrar som används. Under det sista steget av cykeln värms provet till en temperatur som initierar kopieringen av mål-DNA med hjälp av DNA-polymeras. Denna cykel upprepas 24–40 gånger beroende på vilket protokoll som används. I optimala förhållanden kommer mängden mål-DNA att fördubblas för varje termisk cykel.

### *Gelelektrofores*

Gelelektrofores är en metod som kan användas för att separera och analysera amplifierat DNA (Khan Academy u.å.). PCR-produkten laddas i separata brunnar i en gel innehållande agaros och ett speciellt färgämne. Därefter appliceras en elektrisk ström på gelen. DNA är negativt laddat och kommer röra sig mot den positiva elektroden när strömmen appliceras. Kortare fragment rör sig snabbare genom gelen och når längre under den givna tiden än längre fragment. Efter avslutad elektrofores exponeras gelen för ultraviolett ljus (Taylor *et al.* 2016:279). Detta gör att DNA-fragmenten kan visualiseras. Genom att jämföra de observerade fragmentstorlekarna med kända DNA-fragmentlängder för olika parasitarter kan parasiter verifieras på artnivå.

### *Multiplex PCR*

Multiplex PCR är en metod som gör det möjligt att amplifiera och detektera DNA från flera olika parasitarter samtidigt (Shen 2019:219). Detta åstadkoms genom att tillsätta primrar för två eller flera parasitarter till samma prov. Primrarna binder till DNA av intresse som sedan amplifieras genom PCR. Det är viktigt att primrarna har en liknande annealing-temperatur för att metoden ska fungera. Slutligen visualiseras PCR-produkterna genom gelelektrofores. De sökta DNA-sekvenserna behöver vara av olika längd för att kunna skilja dem åt. Sammanfattningsvis är metoden mer komplicerad och oftast inte lika specifik som när primrarna används individuellt, men metoden sparar tid och är generellt sett mer kostnadseffektiv.

### *qPCR*

Quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) är en kvantitativ PCR-metod som sker i realtid (Bio-Rad 2023b). Detta innebär att resultaten genereras samtidigt som mål-DNA amplifieras. Processen inleds genom att mål-DNA blandas med en mastermix samt fluorescerande prober, så kallade TaqMan-prober (Maddocks & Jenkins 2017:53–54). Därefter laddas proverna in i PCR-maskinen, där mål-DNA amplifieras. När nytt DNA genereras kommer TaqMan-proberna binda till DNAt, och när tillräckligt mycket DNA har genererats avges en fluorescerande signal. Den specifika cykeln varvid detta inträffar kallas kvantifieringscykeln och betecknas C<sub>q</sub> (Bio-Rad 2023b). Prover innehållande en stor ursprunglig mängd mål-DNA kommer generera en signal vid längre cykelnummer än prover med låg ursprunglig mängd mål-DNA. Följaktligen kommer positiva prover att uppvisa låga C<sub>q</sub>-värden, medan negativa prover kommer uppvisa högre värden, eller inte generera några värden alls. Resultaten presenteras grafiskt på en kurva och indikerar närvaro eller frånvaro av mål-DNA.



### *ddPCR*

Droplet Digital polymerase chain reaction (ddPCR) är en metod som använder sig utav en dropp-teknologi baserad på en vatten-oljeemulsion (Hindson *et al.* 2011; Bio-Rad 2023a). Dropparna fyller i princip samma funktion som enskilda brunnar i en PCR-platta, men i mycket mindre format. Genom denna metod går det att analysera flera olika mål-DNA utifrån ett och samma prov.

## 3. Material och metod

### 3.1 Urval av gårdar

Alpackaägare kontaktades i februari 2022 via en sluten Facebook-grupp. Målet var att hitta 10–12 gårdar, geografiskt spridda över landet, där hälften enbart hade alpackor och den andra hälften alpackor i kombination med andra idisslande djurslag. Intresserade gårdar fick information via e-post om vad deltagande i studien skulle innebära. Därefter lämnade gårdarna ett slutgiltigt besked om deltagande. Efter urvalsprocessen deltog 13 gårdar i arbetet. Information om gårdarna finns listad i Tabell 3, och deras ungefärliga geografiska spridning finns illustrerat i Figur 1.

Tabell 3. Information kring deltagande gårdar.

	Lokalisation	Djurslag	Antal inskickade träckprover
Gård 1	Skyttorp	Alpackor	8 alpackor
Gård 2	Sundbyberg	Alpackor	7 alpackor
Gård 3	Sandared	Alpackor	4 alpackor
Gård 4	Håлта	Alpackor	8 alpackor
Gård 5	Charlottenberg	Alpackor	6 alpackor
Gård 6	Lekeryd	Alpackor	6 alpackor
Gård 7	Karlshamn	Alpackor, nötkreatur	11 alpackor
Gård 8	Strängnäs	Alpackor, getter	11 alpackor
Gård 9	Tavelsjö	Alpackor, nötkreatur, får, getter, hästar, jak, lama, åsna, grisar, fjäderfä	8 alpackor, 2 får, 2 getter, 1 nöt, 1 jak, 1 kamel (2 häst, 1 åsna)
Gård 10	Västra Torup	Alpackor, nötkreatur, getter, hästar	4 alpackor, 3 nöt, 3 getter
Gård 11	Vintrosa	Alpackor, nötkreatur, får, getter, hästar, gäss, ankor, grisar, lamor, jakar, åsnor	15 alpackor
Gård 12	Åsele	Alpackor, nötkreatur	3 alpackor, 6 nöt
Gård 13	Ullånger	Alpackor, nötkreatur	5 alpackor



Figur 1. Karta med de deltagande gårdarna. Karta från <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:SwedenGrey.png> Modifierad via PowerPoint.

## 3.2 Enkät

Samtliga deltagande gårdar uppmanades att svara på en webbaserad enkät via plattformen Netigate. Enkäten var indelad i följande avsnitt: gårdsinformation, information om alpäckorna på gården, förekomst av andra djurslag på gården, parasithistorik, avmaskningsrutiner, rutiner för karantän samt användning av bete och betesmarker. Totalt inkluderade enkäten 19 frågor (se bilaga 1), där majoriteten bestod av flervalfrågor. Två flervalfrågor erbjöd möjligheten att välja flera svarsalternativ och fem tillät fritextsvar. Ytterligare fem frågor krävde endast fritextsvar. Frågorna testades av en kollega vid SLU för att säkerställa dess tydlighet och förhindra eventuella missförstånd. Enkäten skickades sedan ut via e-post i maj 2023, och totalt distribuerades fyra påminnelser till de respondenter som inte hade skickat in fullständiga svar. För att säkerställa en svarsfrekvens på 100 % tillhandahölls särskilda länkar till de djurägare som hade svårigheter att hitta fram till enkäten. I slutet av september 2023 hade samtliga deltagande gårdar besvarat enkäten i sin helhet.

## 3.3 Provtagning

Deltagande gårdar blev ombudda att samla individuella träckprover från sina alpäckor, med en övre gräns på 12 individer vid större besättningar. Provtagningskit innehållande provtagningsinstruktioner, provtagningsformulär, zip-påsar och handskar skickades ut till samtliga gårdar i slutet av maj 2023. I provtagningsformuläret fick djurägarna anteckna djurens ID, kön, ålder, senaste datum för

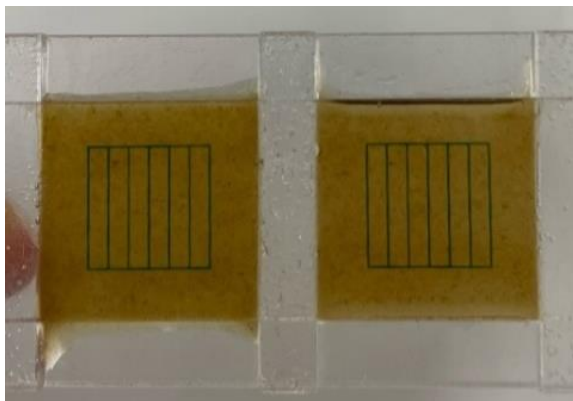
avmaskning samt provtagningsdatum. Träckproverna skulle samlas före avmaskning eller tidigast två månader efter senaste avmaskningen. Gårdar med andra djurslag utöver alpackor ombads att även samla träckprov från sina nötkreatur, får och getter. Alla prover samlades in under sommaren 2023 och förvarades i kylskåp fram till analysen i början av september 2023. Antal inskickade träckprover från varje gård listas i Tabell 3. Totalt analyserades 115 träckprover tagna från 96 alpackor, 10 nötkreatur, 5 getter, 2 får samt en kamel och en jak.

### 3.4 McMaster och flotation

I denna studie användes Stolls flotationsteknik (Stoll 1930) som består av en McMaster-metod följt av en direkt flotation. Ingen metod för påvisande av trematoder utfördes.

#### *McMaster*

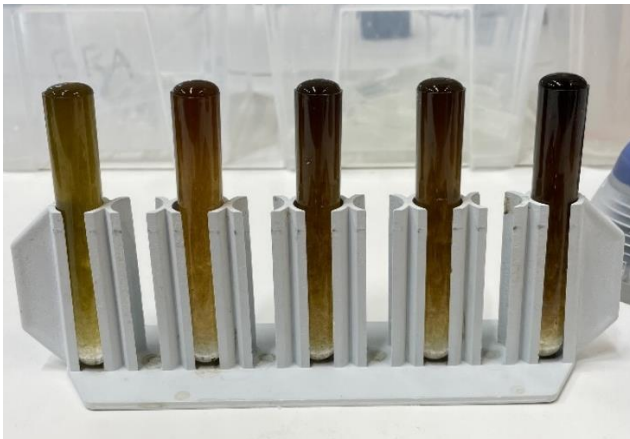
Träckproverna analyserades med en McMaster-metod där socker-saltlösning användes som flotationsmedium. Syftet med metoden var att identifiera och kvantifiera parasitägg och oocystor från de insamlade träckproverna. Tre gram träck homogeniserades i 42 ml kranvatten med en stavmixer. Denna blandning silades genom dubbel gasväv ner i en plastmugg. Ett provrör fylldes till toppen med innehåll från muggen och centrifugerades sedan 5 minuter vid 400 G. Överskottet av provet lämnades i muggen, märktes med ID-nummer och ställdes åt sidan för senare qPCR-analys. Supernatanten i provröret avlägsnades med hjälp av en vattensug och bottenavlagringen blandades med en vortexmixer. Därefter fylldes halva provröret (ungefär 6 ml) med socker-saltlösning. Suspensionen blandades noggrant varpå en liten del av provet överfördes till en McMaster-kammare enligt Figur 2. Provet i McMaster-kammaren analyserades under mikroskop. En kammare lästes av för varje enskilt prov vilket resulterade i en lägsta detektionsnivå på 50 EPG/OPG.



Figur 2. McMaster räknekammare innehållande prover från två alpackor.

### *Flotation*

Parallellt med McMaster-metoden utfördes ytterligare en flotationsmetod. Metoden utgjorde ett komplement till McMaster-metoden med syfte att identifiera ytterligare arter av parasitägg och oocystor, framförallt från koccidien *E. macusaniensis*. Efter att en del av provet överfördes till McMaster-kammaren, fylldes den återstående delen av provröret med socker-saltlösning för att skapa en menisk (se Figur 3). Ett täckglas placerades över menisken och provet fick sedan flota i 20 minuter. Därefter avlägsnades täckglaset och analyserades under mikroskop. Om fynden från täckglaset överensstämde med de från samma prov genom McMaster-metoden antecknades inget. Om det däremot påvisades ytterligare arter av ägg eller oocystor på täckglaset infördes dessa i McMaster-resultaten med en kvantifiering på 50 EPG/OPG.



Figur 3. Prover från fem alpackor med menisk inför flotationsanalys

## 3.5 DNA-extraktion

### *Flotation och tvätt av ägg*

Överskottet av provet från McMaster-analysen överfördes till ett 50 ml Falconrör. Varje Falconrör fylldes med prover från 2–3 individer av samma djurslag från samma gård. Detta genererade totalt 44 samlingsprover. Rören märktes med individnummer och löpnummer. Falconrören centrifugerades vid 1800 rpm/706 g i 5 minuter. Därefter avlägsnades supernatanten med vattensug. NaCl-lösning tillsattes till proverna som sedan blandades med en vortex och centrifugerades en andra gång, på samma inställning. Efter centrifugeringen överfördes provernas toppskikt till nya rör märkta med respektive löpnummer. Därefter tillsattes fosfatbuffrad saltlösning (PBS) innan proverna centrifugerades en tredje och sista gång. Supernatanten avlägsnades med vattensug och sedan förvarades proverna i kylskåp.

### *Preparering inför DNA-extraktion*

Falconrören centrifugerades vid 1000 G i 1 minut. Bottensatsen från Falconrören flyttades över till särskilda bead-beatingrör från kittet TANBead Optipure Viral auto kit (Taiwan Advanced Nanotech Inc, Taoyuan, Taiwan) för DNA-extraktion. Proverna centrifugerades vid 2000 G i 1 minut och supernatanten avlägsnades. Både en negativ och en positiv extraktionskontroll adderades till tomma rör. Därefter tillsattes lyseringsbuffert till samtliga prover. Rören fästes i Tissuelyser II och skakades vid 30 Hz i 1 minut, roterades ett halvt varv och skakades ytterligare 1 minut vid samma frekvens. Nästa steg utgjorde ännu en centrifugering, denna vid 200 G i 1 minut. Därefter tillsattes Proteinase K och proverna blandades med en vortex i 1 minut. Slutligen inkuberades proverna i ett värmeblock vid 90 °C i 10 minuter. Efter inkubationen centrifugerades proverna en sista gång vid 200 G i 1 minut.

### *DNA-extraktion*

Extraktionen genomfördes med hjälp av labroboten TANBead Maelstrom 4800 (Taiwan Advanced Nanotech Inc, Taoyuan, Taiwan). Proverna överfördes till en särskild platta vid namn autoplate som placerades i maskinen, där programmet för DNA-extraktion aktiverades. Roboten använde små magnetiska kulor som roterades i provet för att samla upp DNA. Därefter genomfördes en serie tvättningssteg, och efter avslutat program hade DNA extraherats och eluerats i 50 µl buffert för varje prov. Detta DNA användes till samtliga DNA-baserade metoder i detta arbete, med undantag från DNA-sekvenseringen.

### *DNA-extraktion till sekvensering*

Vid besöket på gård 1 togs träckprover från åtta individer. Initialt genomfördes en McMaster-analys där ägg identifierades i sex av åtta prover. Därefter odlades larver fram från de positiva proverna. Under mikroskop pipetterades 12 larver från sex olika individer upp till separata provrör. Därefter användes extraktionskittet NucleoSpin® Tissue DNA kit (Macherey–Nagel, Düren, Tyskland) för att extrahera DNA från varje enskild larv. Detta genomfördes enligt tillverkarens standardprotokoll, med modifieringen att DNAt eluerades med 2 x 75 µl buffer BE.

## **3.6 PCR-metoder**

Till samtliga PCR-metoder användes primrar för att detektera specifika parasitärter. Dessa primrar finns listade i Tabell 4.

Tabell 4. Samtliga primrar som använts till arbetets PCR-metoder samt referenser.

Analys	Art	Primer-namn	Sekvens	Referens
qPCR	<i>H. contortus</i>	Forward	CGTGATGTTATGAA	(Reslova <i>et al.</i> 2021)
		Reverse	CTCAGGTTGCATTATA	
ddPCR	Strongylida universal	UnivF1	GATTCGCGTATCGATGAAAAA	(Gasser <i>et al.</i> 1993; Elmahalawy <i>et al.</i> 2018)
		UnivR1	CCGAAGGGAAAACCCAAC	
	<i>H. contortus</i>	HcF1	TGAACATGTTGCCACTATTTGAG	
		NC2	TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT	
	<i>Trichostrongylus</i> spp.	TcoF1	TGTTCCCTGTATGATGTGAACGTG	
		NC2	TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT	
Multiplex PCR	<i>Eimeria</i> spp.	EF1	AAGTTGCGTAAATAGAGCCCTC	(Cebra <i>et al.</i> 2012)
		ER1	AGACATCCATTGCGTAAAG	
	<i>E. lamae</i>	ELF	GCGGCAACTTGCATTGATGC	
		ELR	CTACACCAAGAAATGCTCAC	
	<i>E. macusaniensis</i>	EmacF3	GGCCGTATATTAACCAATCC	
		EmacR3	TAATATGAAGATGGGTGATTCC	
Standard-PCR	<i>N. battus</i>	NbattusF	CTCTATGGAAGGTGTCTACC	(Reslova <i>et al.</i> 2021)
		NbattusR	CTAGTCACCAACGTAAAACAG	
PCR inför DNA-sekv.	Nematoder generell	NC1	ACGTCTGGTTCAGGGTTGTT	(Gasser <i>et al.</i> 1993)
		NC2	TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT	

### 3.6.1 qPCR *Haemonchus contortus*

I denna studie användes qPCR för att erhålla en kvalitativ bedömning av *H. contortus*-ägg från insamlade träckprover. En mastermix tillreddes genom att addera PerFeCTa ThoughMix med MQ type 1, vatten, primer och probemix (Reslova *et al.* 2021) till ett eppendorfrör. Mastermixen blandades varpå 48 brunnar i en PCR-platta fylldes med 22 µl mastermix vardera. Därefter tillsattes 3 µl extraherat DNA från varje prov till 44 av brunnarna. De återstående fyra brunnarna användes för att inkludera en negativ extraktionskontroll, en positiv extraktionskontroll, en negativ PCR-kontroll samt en positiv PCR-kontroll. Plattan innehållandes proverna förseglades med en plastfilm och centrifugerades upp till ca 1500 G. Därefter placerades proverna i en qPCR-maskin där DNA:t amplifierades genom ett PCR-program med 40 cykler och en annealing-temperatur på 57 °C (Reslova *et al.* 2021). Resultaten från analysen registrerades digitalt. Prover med Cq-värden under 32 klassades som positiva och Cq-värden över 32 som negativa.

### 3.6.2 ddPCR *Haemonchus contortus* och *Trichostrongylus* spp.

I denna studie tillämpades ddPCR av flera skäl. För det första användes metoden för en komparativ utvärdering gentemot qPCR-analysen av *H. contortus*, detta eftersom båda metoderna är sparsamt beprövade på alpackor. För det andra

kombinerades metoderna ddPCR med qPCR för att bestämma den relativa förekomsten av *H. contortus* hos svenska alpäckor. Slutligen nyttjades metoden för att undersöka förekomsten av *Trichostrongylus* spp. hos alpäckor i Sverige.

Det tidigare extraherade DNAt späddes tio gånger med sterilt vatten. Därefter förbereddes två olika mastermix-blandningar. Den första innehöll primers för generella strongylider samt specifika primers för *H. contortus* (se Tabell 4), tillsammans med fluorescerande prober och ddPCR supermix. Den andra innehöll primers för generella strongylider samt primers specifika för *Trichostrongylus* spp. (se Tabell 4), också med fluorescerande prober och ddPCR supermix. Från samtliga prover blandades 1 µl utspätt DNA med 21 µl av den första mastermixen och ytterligare 1 µl DNA med 21 µl av den andra mastermixen i brunnarna på en PCR-platta, vilket genererade totalt 88 prover. Dessutom förbereddes en negativ kontroll för varje mastermix, vilket resulterade i totalt 90 prover. Proverna matades därefter in i en droplete-generator där vakuum användes för att dra proverna genom ett munstycke och därigenom skapa droppar. Varje prov delades upp i cirka 20 000 droppar med en volym av 1 nl vardera. Proverna genomgick sedan en DNA-amplifiering genom ett PCR-program med 40 cykler och en annealing-temperatur på 60 °C. Därefter laddades provplattan in i en droppläsare där varje enskild droppe passerade förbi ett tvåfärgsdetektionssystem. Dropparna klassificerades som antingen positiva eller negativa beroende på deras fluorescensamplitud, och programvaran gav sedan ett digitalt resultat baserat på antalet positiva droppar i provet. För att klassificera ett prov som positivt användes ett gränsvärde på 0,2 %.

### 3.6.3 Multiplex PCR *Eimeria* spp.

För att differentiera några vanligt förekommande arter av *Eimeria* spp. hos alpäckor utfördes en multiplex PCR som visualiserades med en gelelektrofores. Målet var att bekräfta förekomsten av dessa koccidier bland alpäckor i Sverige och samtidigt utvärdera deras relativa förekomst i populationen. En primermix tillreddes innehållande tre olika primerpar enligt Tabell 4, en generell för *Eimeria* spp., en för *E. lamae* och en för *E. macusaniensis*. För att förbereda proverna inför PCR-analysen användes Qiagen Type-it Microsatellite PCR Kit (Qiagen, Hilden, Tyskland). Utifrån detta kit tillverkades en mastermix innehållande 5 µl Multiplex MM (2x), 1 µl Q-lösning (5x), 0,5 µl primermix (2 µM) och 2,5 µl sterilt vatten. Därefter blandades 1 µl extraherat DNA från samtliga 44 samlingsprov med 9 µl mastermix vardera. Proverna genomgick sedan en DNA-amplifiering genom PCR-protokollet beskrivet för Qiagen Multiplex PCR Kit (Qiagen, Hilden, Tyskland). Efter avslutad PCR-reaktion laddades PCR-produkterna i separata brunnar i en agarosgel (3 %) innehållande Gelred. När gelelektroforesen var avslutad, visualiserades DNA-produkterna med hjälp av Bio-Rad Chemidoc Touch.



### 3.6.4 PCR *Nematodirus battus*

I samband med McMaster-analysen noterades ägg som uppvisade morfologiska likheter med de från *N. battus* i flera prover. Med syftet att verifiera förekomsten av *N. battus* hos alpäckor i Sverige, analyserades fyra samlingsprover som bedömts innehålla ägg från *N. battus* med PCR följt av en gelelektrofores. En mastermix tillreddes innehållande ett specifikt primerpar för *N. battus* enligt Tabell 4. Komponenterna blandades enligt följande: 1 µl framåt-primer (10µM), 1 µl bakåt-primer (10µM), 1 µl DreamTaq buffer (10x), 1 µl dNTP (10mM), 0,05 µl DreamTaq DNA-polymeras och 5,45 µl sterilt vatten. Därefter tillsattes 0,5 µl extraherat DNA från fyra prover till 9,5 µl mastermix vardera. Sedan amplifierades DNAt genom ett PCR-program med 30 cykler och en annealing-temperatur på 56 °C. Gelelektroforesen genomfördes i en agarosgel (3 %) innehållande Gelred och resultatet visualiserades sedan med hjälp av Bio-Rad Chemidoc Touch.

### 3.6.5 DNA-sekvensering av nematodlarver

I denna studie sekvenserades DNA från tio nematodlarver, med målsättningen att identifiera några av de vanligast förekommande nematoderna hos svenska alpäckor på artsnivå. Larverna odlades fram från sex olika individer från samma gård enligt tidigare beskrivning (se stycke ”DNA-extraktion till sekvensering”). Efter att DNA extraherats från larverna förbereddes en mastermix innehållande följande komponenter: 2,5 µl primer NC1 (10µM), 2,5 µl primer NC2 (10µM), 2,5 µl DreamTaq buffer (10x), 2,5 µl dNTP (10mM), 0,125 µl DreamTaq DNA-polymeras och 11,875 µl sterilt vatten. Sedan blandades 3 µl extraherat DNA från varje prov med 22 µl mastermix vardera. Därefter amplifierades DNAt i proverna genom en PCR med 30 cykler och en annealing-temperatur på 55 °C. PCR-produkterna genomgick sedan en gelelektrofores i en agarosgel (1,5 %) innehållande Gelred. Efter avslutad gelelektrofores visualiserades DNA-produkterna med Bio-Rad Chemidoc Touch. Av de tolv analyserade proverna var tio positiva i avseende närvaro av DNA från nematoder. Dessa tio prover skickades till Macrogen Europe för sekvensering.

## 3.7 Statistik

För att beräkna odds ratio mellan riskfaktorer och förekomsten av *H. contortus* och strongylida parasiter användes statistikverktyget Epitools (Epitools u.å.). Värdet på odds ratio togs fram genom en 2x2-tabell med inställning för tvärsnittsstudie. Konfidensintervall som inkluderade värdet 1 ansågs vara icke-signifikanta. För att beräkna Choens kappa för qPCR och ddPCR användes paketet psych i R v4.3.1 via statistikprogrammet RStudio.

## 4. Resultat

### 4.1 Enkät svar kopplade till parasitfynd

Samtliga 13 gårdar besvarade enkäten i sin helhet. Antalet alpackor varierade på varje gård, med ett genomsnitt på 16 stycken och en median på 8 stycken. Vid de statistiska analyserna användes medianen för att klassificera gårdarna som antingen små eller stora. Gårdar med 8 alpackor eller färre bedömdes som små, medan gårdar med fler än 8 alpackor bedömdes som stora. Vidare fanns även andra idisslande djurslag på 7 av 13 gårdar, med nötkreatur på sex gårdar, getter på fyra och får på två. På vissa gårdar förekom sambete mellan alpackor andra djurslag i form av lamor, hästar, nötkreatur eller getter.

Fynd av trichostrongylida ägg från McMaster-metoden och *H. contortus* från metoden qPCR jämfördes med följande identifierade riskfaktorer från enkäten: stor gård, inköp av nya alpackor det senaste året, avsaknad av karantänrutiner, får och/eller getter på gården, sambete med får eller getter samt import av alpackor från utlandet. I Tabell 5 presenteras signifikanta odds ratios och deras konfidensintervall på 95 %. Övriga riskfaktorer visade ingen signifikans.

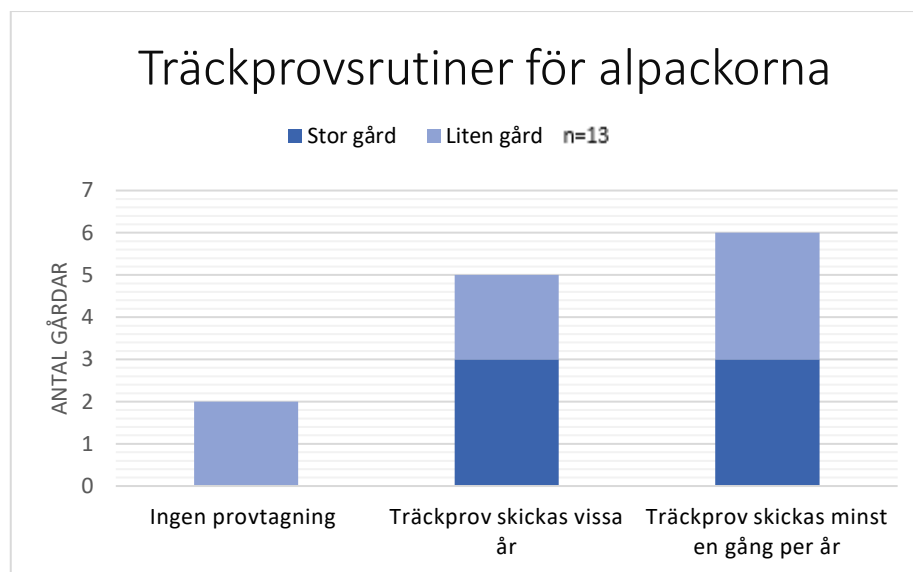
Tabell 5. Odds ratio för riskfaktorer kopplade till parasitfynd. Konfidensintervall som inkluderade värdet 1 ansågs som icke-signifikanta. Stor gård avser gård med >8 alpackor.

Risikfaktor	Parasitfynd	Tröskel-värde (EPG)	Odds ratio	Konfidens-intervall
Stor gård	Trichostrongylida	50	0,35	0,15-0,82
Omsättning av nya alpackor	Trichostrongylida	100	0,3	0,09-0,98
Ingen karantänrutin	Trichostrongylida	100	0,17	0,05-0,57
Stor gård	<i>H. contortus</i>	-	0,02	0,01-0,09
Omsättning av nya alpackor	<i>H. contortus</i>	-	0,13	0,05-0,34

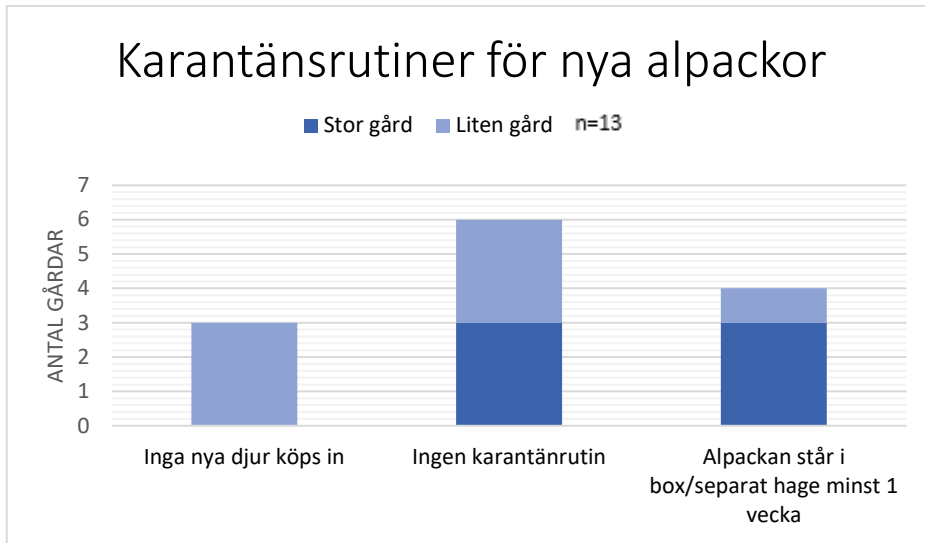
Resultaten antyder att stora gårdar och inköp av nya alpackor har en skyddande effekt mot trichostrongylida-parasiter och *H. contortus*. Dessutom verkar bristen på karantänrutiner ha skyddande effekt mot trichostrongylida parasiter. Det är värt att

notera är att när tröskelvärdet för trichostrongylida ägg justerades till 50 eller 150 EPG, blev majoriteten av de signifikanta resultaten i tabell 5 inte signifikanta.

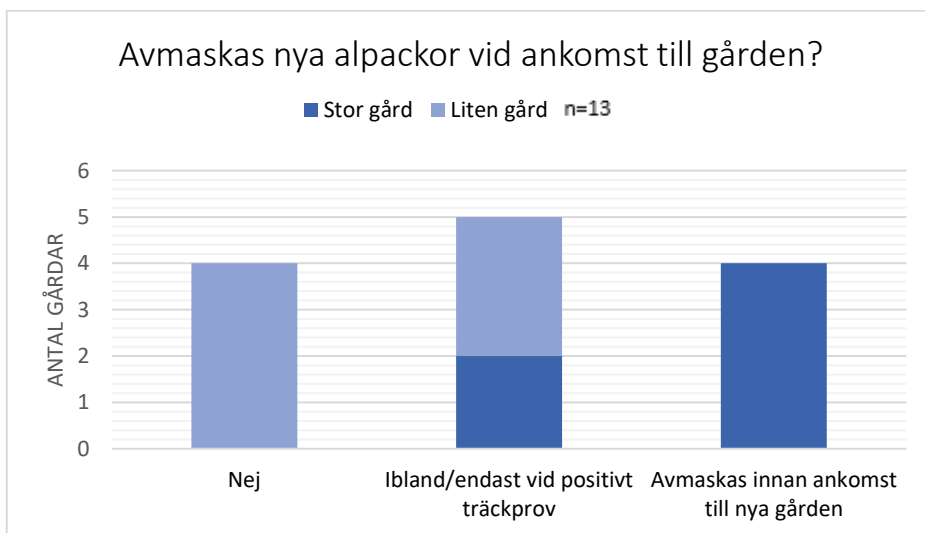
Rutinerna för avmaskning, träckprovtagning, inköp av nya djur och karantän varierade mellan gårdarna. Generellt följde svaren en viss trend för de större gårdarna och en annan trend för de mindre. Gällande avmaskningsrutiner svarade dock majoriteten av gårdarna (85 %) att de endast avmaskar alpackorna när rådgivande veterinär anser att det behövs. De större gårdarna uppvisade å andra sidan bättre rutiner för träckprovtagning jämfört med de små, vilket framgår i Figur 4. Vidare indikerade resultaten från enkäten att färre små gårdar köper in nya djur kontinuerligt. Bland de mindre gårdarna hade 71 % avstått från nya djurinköp det senaste året, medan resterande gårdar hade köpt in alla sina djur under samma tidsperiod. I kontrast hade hälften av de stora gårdarna införskaffat nya alpackor under det senaste året. Endast tre gårdar (23 %) hade importerat alpackor från utlandet, och detta inkluderade både stora och små gårdar. När det gäller karantänrutiner för nyinköpta djur visade de större gårdarna generellt sett bättre rutiner, vilket illustreras i Figur 5. Dessutom var det vanligare att genomföra avmaskning av nya djur i samband med inköp på de större gårdarna, se Figur 6.



Figur 4. Skillnader i träckprov rutiner mellan stora (>8 alpackor) och små (<8 alpackor) gårdar (n=13).



Figur 5. Skillnader i karantänrutiner mellan stora (>8 alpackor) och små (<8 alpackor) gårdar (n=13).

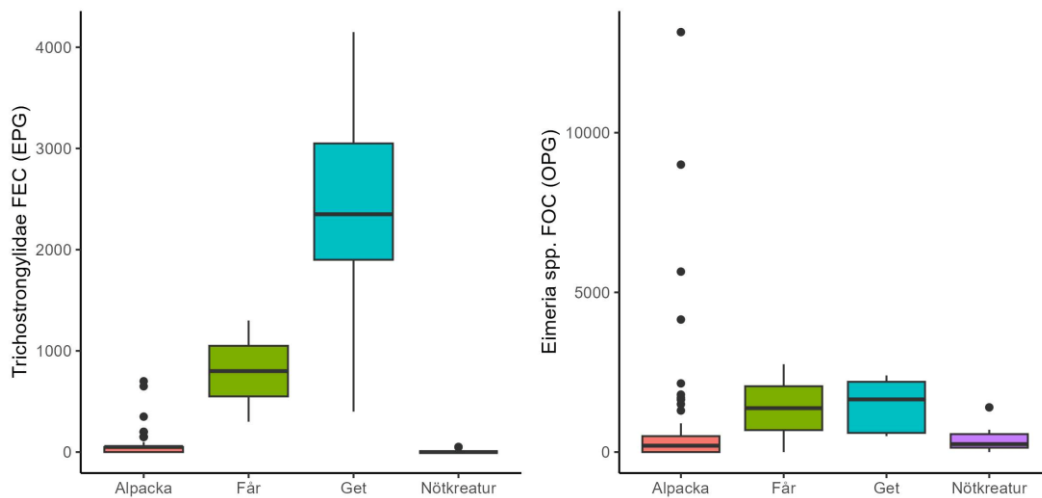


Figur 6. Skillnader i avmaskningsrutiner vid inköp av nya djur mellan stora (>8 alpackor) och små (<8 alpackor) gårdar (n=13).

## 4.2 McMaster och flotation

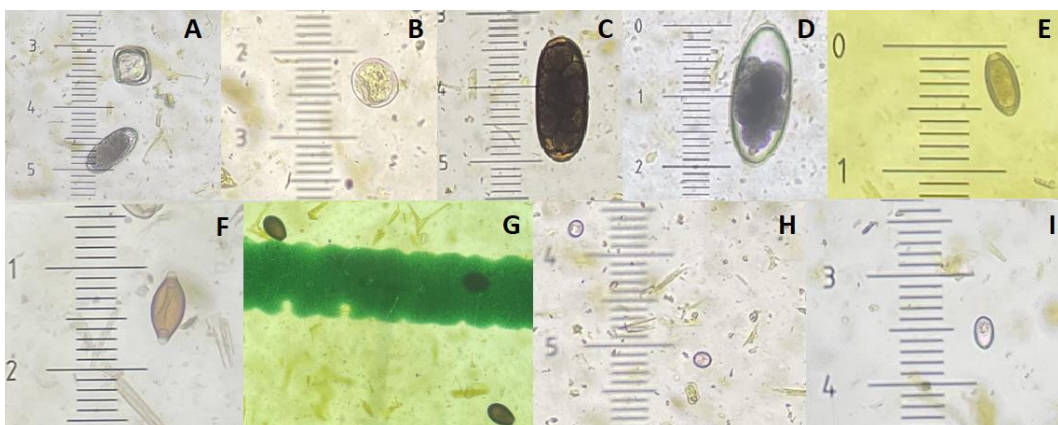
Samtliga inskickade träckprov, totalt 115 stycken, analyserades individuellt genom McMaster-metoden och flotation. De mest frekventa parasitgrupperna som identifierades hos alpackor med McMaster-metoden var trichostrongylida ägg samt oocystor av arten *Eimeria* spp. Förekomsten av dessa parasiter hos samtliga analyserade djurslag illustreras i Figur 7. Generellt sett var förekomsten av ägg/oocystor lägre hos de analyserade proverna från alpackor och nötkreatur, jämfört med djurslagen får och getter. Det fanns dock några undantag där vissa

alpäckaindivider uppvisade hög frekvens av ägg/oocystor vilket illustreras av de svarta prickarna i Figur 7.



Figur 7. Lådagram beskrivande förekomsten av trichostrongylida ägg och oocystor från *Eimeria* spp. hos samtliga analyserade djurslag med metoden McMaster ( $n=115$ ).

Andra parasitarter som påvisades hos de undersökta alpäckorna inkluderade *Nematodirus* spp., *Moniezia* spp., *Capillaria* sp. och *Trichuris* sp. Inom gruppen *Nematodirus* kunde två arter identifieras, varav en liknande *N. battus* och en liknande *N. spathiger* morfologiskt. Likaså kunde två sorters *Moniezia* misstänkas nämligen *M. expansa* och *M. benedeni*. I Figur 8 illustreras ägg och oocystor som fotograferats i samband med McMaster- och flotationsanalyserna. Förekomsten av samtliga påvisade arter beskrivs i Tabell 6.



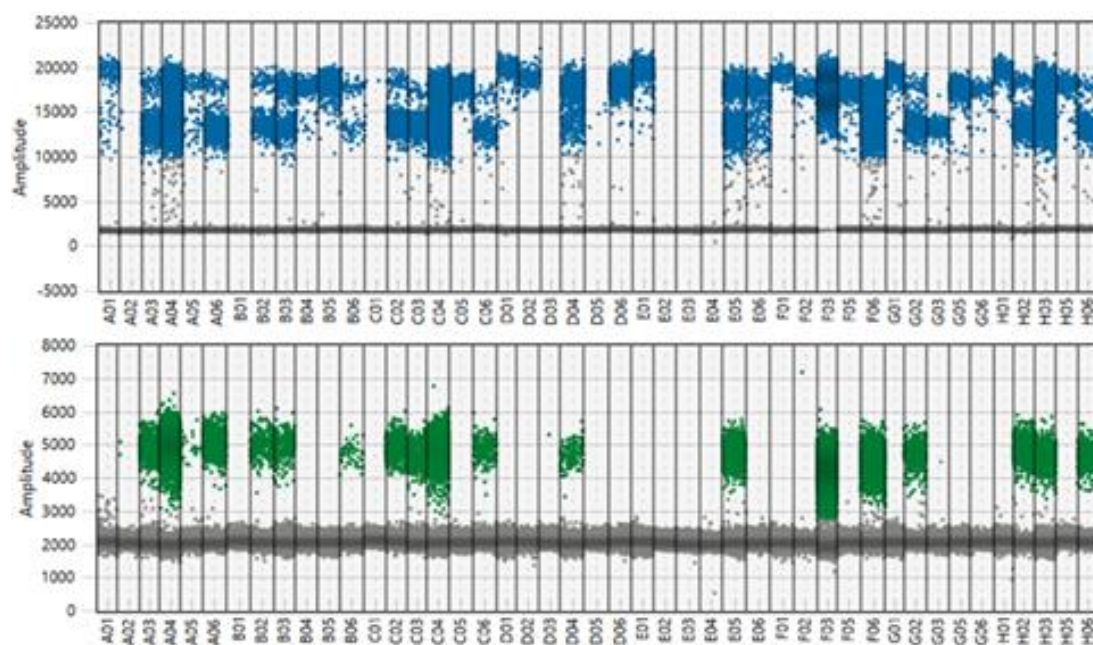
Figur 8. Parasitägg identifierade genom McMaster och flotation, A - *M. benedeni* och ett ägg från *Trichostrongylus* sp., B - *M. expansa*, C - *N. battus*, D - *N. spathiger*, E - *Capillaria* sp., F - *Trichuris* sp., G - *E. macusaniensis*, H - *Ospecifika* oocystor *Eimeria* spp. från alpaca, I - *Ospecifik* oocysta av *Eimeria* spp. från får. Bilden är skapad med Paint.

Tabell 6. Förekomsten av samtliga parasiter påvisade hos alpäckor genom McMaster-metoden och flotation. Tabellen redovisar både den relativa förekomsten hos de analyserade alpäckorna (n=96) samt den relativa förekomsten på de deltagande gårdarna (n=13).

Art	Förekomst alpäckor (%)	Förekomst gårdar (%)
Trichostrongylida	54	100
<i>Eimeria</i> spp.	65	92
<i>N. battus</i>	11	54
<i>N. spathiger</i>	4	15
<i>Capillaria</i> sp.	2	15
<i>Trichuris</i> sp.	2	15
<i>M. expansa</i>	1	8
<i>M. benedeni</i>	1	8

### 4.3 qPCR och ddPCR

Metoden qPCR användes för att detektera *H. contortus*, medan ddPCR användes för att identifiera förekomsten av samtliga strongylida parasiter och bestämma andelen *Trichostrongylus* spp. och *H. contortus* bland dessa. I Figur 9 presenteras ddPCR-resultaten för *H. contortus* och strongylider, där 40 prover var positiva för DNA från strongylider och 20 prover var positiva för DNA från *H. contortus*.



Figur 9. Resultat ddPCR, de blå prickarna illustrerar prover positiva för strongylida parasiter (N=40) medan de gröna prickarna illustrerar prover positiva för *H. contortus* (n=20).

I Tabell 7 redovisas samtliga resultat från qPCR- och ddPCR-analyserna. Tabellen ger en översikt över antalet samlingsprover från alpackor som analyserats från respektive gård i kombination med PCR-resultaten. Gårdsprevalensen avser andelen positiva samlingsprov i förhållande till det totala antalet analyserade samlingsprov från varje gård. Den relativa förekomsten beskriver förekomsten av det artspecifika DNA:t i förhållande till den totala mängden parasit-DNA för varje prov, där en gräns på 0,2 % användes för att definiera ett prov som positivt. I de fall där flera samlingsprov från samma gård uppvisat förekomst av mål-DNA redovisas resultaten från varje samlingsprov separat. För qPCR-analyserna redovisas C<sub>q</sub>-värden för positiva samlingsprov, vilket indikerar den PCR-cykel då provet betraktas som positivt för närvaro av DNA från *H. contortus*. Negativa resultat från både ddPCR- och qPCR-analyserna presenteras inte i tabellen.

Genom ddPCR kunde *H. contortus* påvisas på 69 % av gårdarna och i 47 % av alpackornas samlingsprover. *Trichostrongylus* spp. kunde påvisas på 31 % av gårdarna och i 14 % av samlingsproverna från alpacka. Vad gäller ddPCR-resultaten för övriga djurslag var samtliga samlingsprov från får och getter (n=3) positiva för både *Trichostrongylus* spp. och *H. contortus*, medan samtliga samlingsprov från nötkreatur (n=4) var negativa. Resultaten från metoden qPCR var i stort sett likvärdiga med resultaten från ddPCR-analysen, men med två små skillnader. För det första uppskattades prevalensen av *H. contortus* hos alpackor vara något lägre vid användning av qPCR, och beräknades till 41 %. För det andra bedömdes ett samlingsprov från nötkreatur positivt avseende *H. contortus*, dock med ett C<sub>q</sub>-värde på 31,72 vilket indikerar en låg parasitförekomst. Cohens kappas användes för att jämföra metoderna qPCR och ddPCR avseende förekomsten av *H. contortus* i samlingsproverna. Cohens kappas estimerades till 0,89 med ett konfidensintervall på 0,74–1 (n=37).

Tabell 7. Samtliga resultat från qPCR och ddPCR för djurslaget alpaca. Tabellen redovisar antalet samlingsprov per gård samt förekomsten av *Trichostrongylus spp.* och *H. contortus* på varje gård. För de positiva proverna redovisas även deras relativa förekomst av artspecifikt parasit-DNA i förhållande till den totala mängden DNA från alla Strongylidae spp. parasiter samt Cq-värden.

Gård	Samlingsprov alpaca (N)	ddPCR <i>Trichostrongylus spp.</i>		ddPCR <i>Haemonchus contortus</i>			qPCR <i>Haemonchus contortus</i>				
		Gårdsprevalens (%)	Relativ förekomst i positiva prover (%) <sup>1</sup>	Gårdsprevalens (%)	Relativ förekomst i positiva prover (%) <sup>1</sup>		Gårdsprevalens (%)	Cq-värde för positiva prover <sup>2</sup>			
1	3	33	1,25	0			0				
2	3	0		100	46,06	48,64	49,71	100	24,13	24,58	24,61
3	2	0		50	27,25		50	24,54			
4	3	33	0,23	100	19,79	47,93	49,33	100	23,5	23,97	27,77
5	4	0		0			0				
6	2	0		50	48,11		50	25,66			
7	2	0		100	30,64	47,46		100	20,26	23,56	
8	4	50	0,23	0,29	0			0			
9	3	0		67	6,46	33,76		67	25,66	27,63	
10	2	0		100	12,16	49,85		50	24,38		
11	6	17	29,74		0			0			
12	1	0		100	0,55		0				
13	2	0		100	49,21	49,47		100	23,27	23,83	

<sup>1</sup> Den relativa förekomsten redovisas endast för positiva prover, gränsvärde 0,2 %

<sup>2</sup> Cq-värden redovisas endast för positiva prover, gränsvärde <32



#### 4.4 *Eimeria* spp.

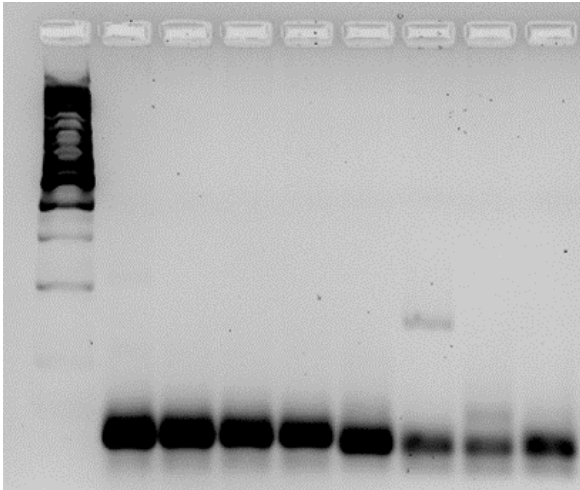
Förekomsten av *Eimeria* spp. hos alpackor undersöktes med både McMaster-metoden och DNA-baserade metoder. Båda metoderna bekräftade att koccidie-infektioner är mycket vanliga hos alpackor. Genom McMaster-metoden beräknades medelvärdet för oocystor hos de undersökta alpackorna till 665 OPG, medan motsvarande medelvärde för de undersökta fåren och getterna var mer än dubbelt så högt, nämligen 1443 OPG. Utsöndringen hos alpackorna var alltså lägre jämfört med de små idisslarna som undersöktes. På grund av likheter i oocystornas morfologi var det utmanande att särskilja olika arter av koccidier hos alpackor med McMaster-metoden. Endast en art, *E. macusaniensis*, kunde tydligt urskiljas morfologiskt. Förekomsten av *E. macusaniensis* beräknades till 2 % hos de undersökta alpackorna, medan förekomsten av små *Eimeria*-oocystor var 62,5 % enligt McMaster-metoden. Den lägsta detektionsgränsen var 50 OPG. Vid användning av DNA-baserade metoder bedömdes förekomsten av koccidier vara högre, särskilt för *E. macusaniensis*. Dessa resultat presenteras i Tabell 8. Samtliga undersökta djur uppvisade förekomst av *Eimeria* spp. med hjälp av den generella primern som användes. Dock uppvisade inga andra djurslag än alpackor positiva resultat för de alpackaspecifika arterna av *Eimeria* spp. som undersöktes.

Tabell 8. Förekomsten av *Eimeria* spp. hos alpackor och andra analyserade djurslag utifrån DNA-baserade metoder.

Art	Förekomst alpackor (%)	Förekomst andra djurslag (%)
<i>Eimeria</i> generell	100	100
<i>E. lamae</i>	68	0
<i>E. macusaniensis</i>	41	0
N samlingsprov	37	7

#### 4.5 *Nematodirus battus*

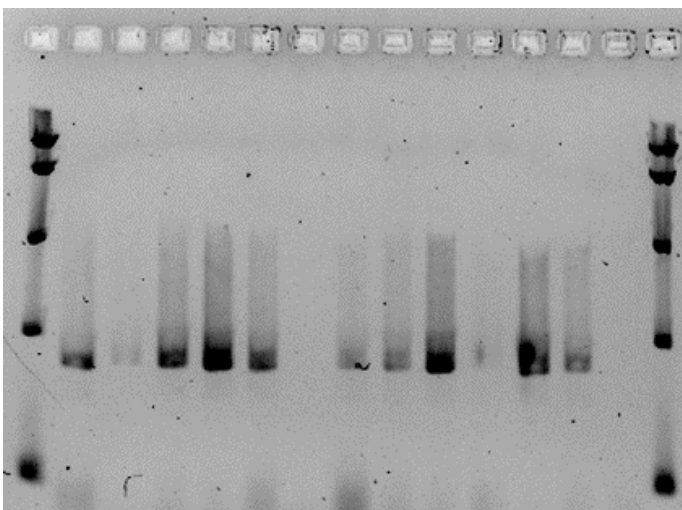
Ett av fyra prover uppvisade ett positivt resultat avseende förekomst av DNA från *N. battus*. Resultatet illustreras i Figur 10, där det mörka bandet i brunn sju (ungefär 150 baspar långt) representerar DNA-produkten från *N. battus* från prov nummer 41. Samma prov hade ett innehåll på cirka 150 EPG enligt McMaster-metoden, medan de negativa proverna innehöll cirka 50 EPG *N. battus*-ägg. Resultatet indikerar att *N. battus* förekommer hos alpackor i svenska besättningar, men att det krävs en viss mängd för att parasiten ska gå att detektera genom PCR och gelelektrofores.



Figur 10. Resultat från gelelektrofores med primer för *N. battus*, positivt prov i brunn 7.

## 4.6 DNA-sekvensering

Av 12 prover som analyserades var 10 positiva avseende närvaro av DNA från nematoder. Detta illustreras i Figur 11, där de mörka banden i gelen representerar DNA-produkter från de positiva proverna som sedan skickades till Macrogen Europe för extern sekvensering. Programvaran CodonCodeAligner användes för att sätta ihop de erhållna framåt- och bakåt-DNA-sekvenserna. Därefter jämfördes dessa sekvenser med sekvenser från NCBI GenBank för att identifiera de bästa matchningarna, se Tabell 9. De arter som identifierades hos alpackorna på gård 1 genom DNA-sekvensering var: *C. mentulatus*, *T. axei*, *Trichostrongylus colubri-formis* och *Cooperia oncophora*.



Figur 11. Resultat från gelelektrofores med primers NC1 och NC2, positiva prov i brunn 1–5, 7–9 och 11–12.

Tabell 9. Resultat från DNA-sekvenseringen. Tabellen visar vilken art och accession (GenbankID) den bästa matchen är för det sekvenserade ITS2-fragmentet, hur väl sekvensen matchade befintliga sekvenser (Query cover) i Genbank och med vilken säkerhet (E-value) samt sekvenslängden. Kolumnen ID motsvarar brunnarna i Figur 11.

ID	Bästa match	Query cover (%)	E-value (%)	GenbankID	Sekvenslängd (antal baspar)
Brunn 1, individ 1	<i>Camelostrongylus mentulatus</i>	87	99,61	<a href="#">MH047837.1</a>	294
Brunn 2, individ 1	<i>Trichostrongylus axei</i>	100	98,71	<a href="#">ON677946.1</a>	582
Brunn 3, individ 2	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	100	99,66	<a href="#">KC998728.1</a>	298
Brunn 4, individ 2	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	100	99,67	<a href="#">KC998728.1</a>	301
Brunn 5, individ 3	<i>Camelostrongylus mentulatus</i>	86	99,61	<a href="#">MH047837.1</a>	297
Brunn 7, individ 4	<i>Trichostrongylus axei</i>	100	99,26	<a href="#">MK936874.1</a>	272
Brunn 8, individ 4	<i>Trichostrongylus axei</i>	99	100	<a href="#">ON677949.1</a>	314
Brunn 9, individ 5	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	93	100	<a href="#">MZ323366.1</a>	316
Brunn 11, individ 6	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	99	96,54	<a href="#">AB908960.1</a>	759
Brunn 12, individ 6	<i>Cooperia oncophora</i>	99	99,24	<a href="#">AB245040.2</a>	266

## 5. Diskussion

### 5.1 Jämförelser Sydamerika och Sverige

I detta arbete genomfördes en av de första kartläggningarna kring förekomsten av gastrointestinala parasiter hos alpackor i svenska besättningar. De parasiter som kunde identifieras genom olika laboriemetoder inkluderar *H. contortus*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *C. oncophora*, *C. mentulatus*, *Nematodirus* spp., *N. battus*, *Moniezia* spp., *Capillaria* sp., *Trichuris* sp., *Eimeria* spp., *E. macusaniensis* och *E. lamae*. Ytterligare arter inom de listade släktena misstänktes morfologiskt, men verifierades inte genom DNA-baserade metoder. Majoriteten av de påvisade arterna är generalister, men arterna *C. mentulatus*, *E. macusaniensis* och *E. lamae* är SAC-specifika. Enligt författarens kännedom är detta första gången som koccidien *E. lamae* har påvisats hos alpackor i Sverige. Denna kartläggning av parasitarter hos svenska alpackor överensstämmer relativt väl med de arter som identifierats hos alpackor i Sydamerika. Vissa parasiter som identifierats på artnivå i denna studie, såsom *H. contortus* och *N. battus*, har dock endast påvisats på släktnivå i Sydamerika. Ytterligare har vissa arter som påvisats i Sydamerika, såsom *N. lamae* och *Teladorsagia* spp., inte påvisats i denna studie. Infektion med *F. hepatica*, som förekommer hos alpackor i Sydamerika, undersöktes inte genom detta arbete, men har tidigare påvisats i Sverige (Ljungström, B., Vidilab, pers. medd., 2023).

*Nematodirus battus* är en art som bör belysas extra då dess förekomst skiljer sig mellan länderna. I Sydamerika har denna art varken identifierats hos alpackor eller lamor, utan endast hos kameldjuret guanaco (Cañal & Beltrame 2022). Detta är anmärkningsvärt eftersom förekomsten av *N. battus* i denna studie var hög enligt McMaster-metoden (11 %). En möjlig förklaring är att arten är vanligare i Sverige jämfört med Sydamerika. Deras ägg kräver kallt klimat för att kläckas, något som gör det rimligt att anta att svenskt klimat gynnar spridningen av *N. battus*. Ytterligare en tänkbar förklaring är att ägg från *N. battus* har klassats under kategorin *Nematodirus* spp. i Sydamerika, och att ingen större vikt har lagts vid klassificering på artnivå. För att få en säker jämförelse av prevalensen mellan länderna krävs ytterligare forskning.

## 5.2 Fynd från McMaster samt felkällor

Förekomsten av olika parasitarter utifrån McMaster-metoden överensstämmer med tidigare forskning från Europa (Kultscher *et al.* 2019). Mest utbredd var infektion orsakad av *Eimeria* spp. (63 %), följt av trichostrongylida ägg (54 %) och *N. battus* (11 %). Som tidigare nämnt, klassificeras olika parasitiska ägg/oocystor baserat på deras morfologi. Detta kan vara utmanande eftersom många ägg/oocystor antar liknande mått och utseende. Det är viktigt att betona den mänskliga faktorn som en potentiell felkälla i detta arbete, och det finns en risk att ägg/oocystor har missats eller klassats felaktigt eftersom det till största del var författaren själv som genomförde dessa analyser. För att verifiera fynden från McMaster-metoden genomfördes ett antal DNA-baserade tester. Dock var det inte möjligt att verifiera samtliga misstänkta parasitarter. Vissa fynd presenteras således endast baserat på resultaten från McMaster-metoden och bör tolkas försiktigt.

Förekomsten av *Eimeria* spp. analyserades med både McMaster-metoden och delvis med DNA-baserade metoder. Morfologiskt var alpäckornas oocystor huvudsakligen runda med en storlek på 10–20 µm (se Figur 8). Genom en multiplex PCR kunde två SAC-specifika arter av *Eimeria* spp. konfirmeras hos alpäckorna. Resultaten bekräftade dessutom att dessa arter inte delades med andra djurslag på samma gård. Dessa resultat stöds av litteraturen, som beskriver att majoriteten av alla *Eimeria* spp. är djurslagsspecifika (Eckert *et al.* 1995:105–108, 110; Fowler 2010:249–250). Risken för överföring av *Eimeria* spp. mellan alpäckor och andra djurslag bedöms därför som liten eller obefintlig.

En annan observation från McMaster-metoden var att parasitförekomsten hos alpäckorna generellt sett var lägre jämfört med analyserade prover från får och getter. Denna iakttagelse stöds av tidigare forskning. I Sydamerika genomförde författarna Puicon *et al.* (2018) en jämförelse av nematodförekomsten mellan får och alpäckor som betade i samma område, och resultaten indikerade generellt en högre parasitförekomst hos fåren jämfört med alpäckorna. Med denna forskning som bakgrund anses resultaten från detta arbete rimliga, även om det finns några potentiella felkällor som bör diskuteras. Den första felkällan rör det begränsade antalet inskickade prover från får och getter. Endast sju prover från två olika gårdar analyserades från dessa djurslag. Ambitionen var att inkludera fler prover, men provtagningsinstruktionerna till djurägarna visade sig vara otydliga vilket resulterade i att endast alpäckor provtogs på vissa gårdar där det även fanns andra idisslande djurslag. En ökad provmängd hade möjliggjort mer pålitliga statistiska jämförelser gällande skillnaderna i parasitförekomst mellan alpäckor och andra idisslare. Ytterligare en potentiell felkälla till den låga parasitförekomsten är träckprovernans förvaringstid. För hästar rekommenderas att analys med McMaster-metoden bör ske inom sju dagar efter provtagningsstillfället (Crawley *et al.* 2016).

Detta eftersom en längre förvaringstid ökar risken för att ägg kläcks och oocystor sporulerar, vilket kan leda till falskt låga EPG/OPG-värden. Empirisk erfarenhet från analys av träckprov från alpäckor och små idisslare har dock visat att det optimala tidsintervallet mellan provtagning och analys bör vara ännu kortare, med en rekommendation på tre dagar (Ljungström, B., Vidilab, pers. medd., 2023). På grund av den här studiens utformning hade proverna förvarats olika länge vid analystillfället, med en längsta förvaringstid på fyra månader och en kortaste på tre dagar. Majoriteten av proverna från alpäckorna hade förvarats i cirka 1–3 veckor vilket kan ha bidragit till falskt låga resultat. Dock hade även träckproverna från övriga djurslag förvarats längre än tre dagar, vilket minskar sannolikheten att träckprovernas förvaringstid utgör den främsta orsaken till den låga parasitförekomsten hos alpäckorna i jämförelse med fåren och getterna.

### 5.3 Fynd från PCR och jämförelser av PCR-analyser

De PCR-metoder som användes var standard-PCR, multiplex PCR, qPCR och ddPCR. Generellt gick utförandet av metoderna bra, även om vissa utmaningar uppstod. Vid utförandet av standard- och multiplex PCR hämtades primers för olika parasitarter från tidigare publicerad forskning. Metoderna som fanns beskrivna var sällan fullständiga vilket gjorde det utmanade att hitta korrekta annealing-temperaturer, särskilt för den multiplexa *Eimeria*-analysen där flera försök blev nödvändiga.

Resultaten från analysen av *Eimeria* spp. med McMaster-metoden överensstämde inte helt med resultaten från PCR-analysen. Båda metoderna identifierade många individer med koccidieinfektion, men särskilt intressant var skillnaden i förekomst av *E. macusaniensis* mellan metoderna. I två prover kunde oocystor från *E. macusaniensis* identifieras via McMaster-metoden, medan dessa prover var negativa vid PCR-analysen. Samtidigt var många andra prover, som var negativa vid McMaster-analysen, positiva vid PCR-analysen. Detta är anmärkningsvärt eftersom socker-salt lösning användes vid McMaster-metoden specifikt för att låta tyngre ägg och oocystor, inklusive de från *E. macusaniensis*, flyta upp och kunna detekteras. Dessa oocystor har dessutom en karaktäristisk morfologi och storlek (se Figur 8 G), vilket gör dem svåra att missa. Orsaken till dessa motstridiga resultat är ännu inte helt fastställd. Tänkbara förklaringar inkluderar att förekomsten var så pass låg att PCR-metoden var känsligare och på så sätt bättre på att detektera förekomsten av *E. macusaniensis*. Det är även möjligt att oocystorna från de positiva McMaster-proverna gav utslag på den generella primern i samband med PCR-analysen. Dock anses inte dessa förklaringar fullständiga, och det finns fortfarande kunskapsluckor gällande den totala förekomsten av *Eimeria* spp. hos alpäckorna i denna studie.

Ett syfte med studien var att jämföra metoderna qPCR och ddPCR i avseendet att detektera *H. contortus*-infektion hos alpackor. Båda metoderna tillämpades på samtliga samlingsprov och genomförandet gick problemfritt. Den totala förekomsten av *H. contortus*-infektion beräknades vara 43,8 % hos alpackorna och på 61,5 % av gårdarna. I Belgien genomfördes en liknande studie år 2019 där *H. contortus* påvisades i samlingsprov på 87 % av gårdarna (Kultscher *et al.* 2019). Resultaten överensstämmer relativt väl med resultaten från denna studie, vilket stärker deras tillförlitlighet. Parasitförekomsten kan dock vara överskattad på grund av användningen av samlingsprover. Samlingsproverna i detta arbete inkluderade 2–3 individer, vilket innebär att enskilda individer med hög parasitförekomst kan ha orsakat ett positivt resultat, även om andra individer i samma prov var fria från infektion. För att erhålla mer tillförlitliga resultat hade individuella prover varit att föredra. Slutligen jämfördes resultaten från qPCR och ddPCR med hjälp av den statistiska analysen Cohen's kapp. Resultatet indikerade en mycket god överensstämmelse mellan metoderna, oberoende av slumpen. Detta innebär att metoderna kan betraktas som likvärdiga och lämpliga för att detektera *H. contortus*-infektion hos alpackor.

## 5.4 Statistisk analys, riskfaktorer och förbättringsförslag

Ett av arbetets syften var att undersöka eventuella riskfaktorer som kan öka förekomsten av gastrointestinala parasiter hos alpackor i svenska besättningar. De statistiska samband som kunde identifieras var att stora gårdar samt inköp av nya alpackor hade en skyddande effekt mot förekomsten av *Trichostrongylus* spp. och *H. contortus* hos alpackor. Inköp av nya djur var vanligare på de större gårdarna vilket kan förklara varför båda dessa riskfaktorer uppvisade liknande resultat. Med största sannolikhet beror dessa resultat på olika tillämpningar av skötselrutiner mellan gårdarna. Till exempel var det vanligare att avmaska nya djur i samband med inköp och att de genomförde regelbundna träckprovstagningar på de större gårdarna, vilket dämpar smittrycket.

En riskfaktor som studien särskilt fokuserade på att utreda var om närvaron av andra idisslande djurslag på gården utgjorde en smittorisk för alpackor. En hypotes var att små idisslare på samma gård skulle resultera i en högre förekomst av *Trichostrongylus* spp. samt *H. contortus* hos alpackorna. Denna hypotes testades med enkla statistiska analyser, men inget samband kunde påvisas. Studiens utformning visade sig vara otillräckligt för att besvara den aktuella frågeställningen. Ett förslag till förbättring hade varit att inkludera färre gårdar, men med större besättningar, för att generera mer tillförlitliga statistiska analyser. Det är också av stor vikt att samla in ett betydande antal prover från både alpackor och idisslare för

att möjliggöra en detaljerad jämförelse av parasitförekomsten mellan arterna. Stora alpäckabesättningar är dock ovanliga i Sverige, vilket skulle göra det utmanande att hitta lämpliga deltagare till studien.

För att bedöma risken för smittspridning mellan olika djurslag kan inspiration hämtas från tidigare forskning. I en studie från Österrike undersöktes förekomsten av helminter hos nötkreatur, får och getter samt hos vilda idisslare i samma geografiska områden (Winter *et al.* 2018). Studien inkluderade resultat från tidigare forskning och använde avancerade statistiska modeller för att beräkna i vilken grad olika djurarter var mottagliga för infektion av parasiter från andra djurslag. Resultaten visade att risken för smittspridning varierade beroende på vilken parasitart som undersöktes och vilka djurslag som jämfördes. Generellt sett hade närbesläktade djurarter med liknande habitatkrav en större benägenhet att smittas av samma parasitarter. Eftersom kameldjur inte är närbesläktade med de inhemska idisslarna i Sverige indikerar detta att risken för smittöverföring generellt sett är låg. Dock krävs ytterligare forskning inom området för att fullständigt besvara denna frågeställning. Experimentella infektionsstudier skulle också vara värdefulla för att undersöka vilka parasiter från idisslare som har potential att smitta alpäckor och vilka symptom dessa kan ge upphov till.

## 5.5 Friska djur trots patogena parasiter

En annan viktig aspekt att diskutera är förekomsten av patogena parasiter hos kliniskt friska djur. Efter att provtagningen genomförts skickades en kompletterande fråga till de deltagande gårdarna angående djurens sjukdomsstatus. Majoriteten av deltagarna svarade att djuren upplevdes friska vid provtagningstillfället. Några gårdar gav ingen återkoppling, men det är sannolikt att även dessa djur bedömdes som kliniskt friska. Trots att djuren inte uppvisade några tecken på sjukdom kunde parasiter av olika arter detekteras i avföringen. Merparten av de påvisade parasiterna anses vara icke-patogena vid låg förekomst, vilket innebär att de inte ger upphov till kliniska symptom. Dock påträffades även vissa patogena parasiter såsom *H. contortus* och *E. macusaniensis*. Enligt tidigare forskning kan det vara förväntat att dessa parasiter ger upphov till allvarliga kliniska symptom hos alpäckor (Cebra *et al.* 2007; Jabbar *et al.* 2013; Edwards *et al.* 2016). Det är anmärkningsvärt att alpäckorna i denna studie hade en relativt hög förekomst av dessa patogena parasiter, men ändå inte uppvisade några tecken på sjukdom. Detta understryker behovet av ytterligare forskning inom området. För att kunna ge vetenskapligt grundade rekommendationer kring behandling och avmaskningsrutiner vid parasitinfektioner hos alpäckor, är det viktigt att förstå vilka parasiter som kan skada djurslaget och vilka som bedöms ofarliga.



## 5.6 Konklusion

Gastrointestinala parasiter är vanligt förekommande bland svenska alpackor. Deras förekomst liknar den som tidigare rapporterats i forskning från Sydamerika och Europa. Majoriteten av de påvisade parasitarterna i denna studie, bortsett från *Eimeria* spp., delades med andra idisslande djur på gårdarna. Intressant nog fanns inget signifikant samband mellan en ökad parasitförekomst hos alpackor på gårdar med andra djur jämfört med de på gårdar utan andra djur. Ytterligare forskning anses vara motiverad för att uppnå en fullständig förståelse av parasitförekomsten hos alpackor och hur smittspridningen mellan alpackor och inhemska lantbruksdjur sker. Denna forskning är avgörande för att utforma effektiva riktlinjer och därigenom minska smittspridning och djurlidande inom den svenska alpäckpopulationen.

## Referenser

- Abo-Shehada, M.N. & Abo-Farieha, H.A. (2003). Prevalence of Eimeria species among goats in northern Jordan. *Small Ruminant Research*, 49 (2), 109–113. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00078-6](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00078-6)
- Arias-Pacheco, C., Pezo, D., Mathias, L.A., Tebaldi, J.H., Castelo-Oviedo, H. & Lux-Hoppe, E.G. (2021). Parasitological status of vicuñas (*Vicugna vicugna*) from southeastern Peru and its relationship with fiber quality. *Tropical Animal Health and Production*, 53 (2), 211. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02650-1>
- Ballweber, L.R. (2009). Ecto- and endoparasites of New World Camelids. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25 (2), 295–310. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.02.003>
- Bio-Rad (2023a). *Droplet Digital PCR (ddPCR) Technology*. <https://www.bio-rad.com/en-se/life-science/learning-center/introduction-to-digital-pcr/what-is-droplet-digital-pcr> [2023-10-06].
- Bio-Rad (2023b). *What is Real-Time PCR (qPCR)?* <https://www.bio-rad.com/en-se/applications-technologies/what-real-time-pcr-qpcr?ID=LUSO4W8UU> [2023-10-11].
- Björklund, C., Båge, R., Morrell, J., De Verdier, K., Nisu Hartzell, L., Kjellinbro, N., Belák, K., Bernodt, K. & Gavier-Widen, D. (2019). Diseases and causes of death among alpacas in Sweden: a retrospective study. *Veterinary Record Open*, 6 (1), 1–7. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2017-000239>
- Cañal, V. & Beltrame, M.O. (2022). Gastrointestinal parasite diversity of South American camelids (Artiodactyla: Camelidae): First review throughout the native range of distribution. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 19, 222–242. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2022.10.001>
- Cebra, C.K. & Stang, B.V. (2008). Comparison of methods to detect gastrointestinal parasites in llamas and alpacas. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232 (5), 733–741. <https://doi.org/10.2460/javma.232.5.733>
- Cebra, C.K., Stang, B.V. & Smith, C.C. (2012). Development of a nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Eimeria macusaniensis* in camelid feces. *American Journal of Veterinary Research*, 73 (1), 13–18. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.1.13>
- Cebra, C.K., Valentine, B.A., Schlipf, J.W., Bildfell, R.J., McKenzie, E., Waitt, L.H., Heidel, J.R., Cooper, B.J., Löhr, C.V., Bird, K.E., Saulez, M.N. & Firshman, A.M.

- (2007). *Eimeria macusaniensis* infection in 15 llamas and 34 alpacas. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230 (1), 94–100.  
<https://doi.org/10.2460/javma.230.1.94>
- Crawley, J.A.H., Chapman, S.N., Lummaa, V. & Lynsdale, C.L. (2016). Testing storage methods of faecal samples for subsequent measurement of helminth egg numbers in the domestic horse. *Veterinary Parasitology*, 221, 130–133.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.03.012>
- De Welchman, D.B., Parr, J.G., Wood, R., Mead, A.M.J. & Starnes, A.F. (2008). Alpaca and llama nematodes in Britain. *Veterinary Record*, 162 (25), 832.  
<https://doi.org/10.1136/vr.162.25.832>
- Eckert, J., Braun, R., Shirley, M.W. & Coudert, P. (red.) (1995). *Guidelines on techniques in coccidiosis research: COST 89/820 - biotechnology*. The European Commission, Directorate-General XII Science, Research and Development Agriculture Biotechnology. [https://www.researchgate.net/profile/Jerzy-Kowal/post/What\\_is\\_the\\_most\\_current\\_method\\_used\\_in\\_identification\\_of\\_the\\_different\\_Eimeria\\_species/attachment/59d641c679197b807799dacd/AS%3A436312621752320%401481036443113/download/Biotechnology++guidelines+on+techniques+in+coccidiosis+research.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Jerzy-Kowal/post/What_is_the_most_current_method_used_in_identification_of_the_different_Eimeria_species/attachment/59d641c679197b807799dacd/AS%3A436312621752320%401481036443113/download/Biotechnology++guidelines+on+techniques+in+coccidiosis+research.pdf)
- Edwards, E.E., Garner, B.C., Williamson, L.H., Storey, B.E. & Sakamoto, K. (2016). Pathology of *Haemonchus contortus* in New World camelids in the southeastern United States: a retrospective review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28 (2), 105–109. <https://doi.org/10.1177/1040638716628587>
- Elmahalawy, S.T., Halvarsson, P., Skarin, M. & Höglund, J. (2018). Droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) as a novel method for absolute quantification of major gastrointestinal nematodes in sheep. *Veterinary Parasitology*, 261, 1–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.07.008>
- Emporia alpaca (u.å.). *Fakta om alpackor*. <https://www.emporiaalpaca.se/fakta/> [2023-10-02].
- Epitools (u.å.). *Summarise measures of association from a 2x2 table*. <https://epitools.ausvet.com.au/twox2table> [2023-12-06].
- Fowler, M.E. (2010). *Medicine and Surgery of Camelids*. 3rd ed., Blackwell Science Publ. 1-630. <https://doi.org/10.1002/9781118785706>
- Franz, S., Wittek, T., Joachim, A., Hinney, B. & Dadak, A.M. (2015). Llamas and alpacas in Europe: Endoparasites of the digestive tract and their pharmacotherapeutic control. *The Veterinary Journal*, 204 (3), 255–262.  
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.019>
- Gasser, R.B., Chilton, N.B., Hoste, H. & Beveridge, I. (1993). Rapid sequencing of rDNA from single worms and eggs of parasitic helminths. *Nucleic Acids Research*, 21 (10), 2525–2526. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC309567/>
- Hindson, B.J., Ness, K.D., Masquelier, D.A., Belgrader, P., Heredia, N.J., Makarewicz, A.J., Bright, I.J., Lucero, M.Y., Hiddessen, A.L., Legler, T.C., Kitano, T.K., Hodel, M.R., Petersen, J.F., Wyatt, P.W., Steenblock, E.R., Shah, P.H., Bousse, L.J., Troup, C.B., Mellen, J.C., Wittmann, D.K., Erndt, N.G., Cauley, T.H., Koehler, R.T., So,

- A.P., Dube, S., Rose, K.A., Montesclaros, L., Wang, S., Stumbo, D.P., Hodges, S.P., Romine, S., Milanovich, F.P., White, H.E., Regan, J.F., Karlin-Neumann, G.A., Hindson, C.M., Saxonov, S. & Colston, B.W. (2011). High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number. *Analytical Chemistry*, 83 (22), 8604–8610. <https://doi.org/10.1021/ac202028g>
- Jabbar, A., Campbell, A.J.D., Charles, J.A. & Gasser, R.B. (2013). First report of anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* in alpacas in Australia. *Parasites & Vectors*, 6 (1), 243. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-243>
- Johnson, A.L., Stewart, J.E. & Perkins, G.A. (2009). Diagnosis and treatment of *Eimeria macusaniensis* in an adult alpaca with signs of colic. *The Veterinary Journal*, 179 (3), 465–467. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.10.012>
- Khan Academy (2023). *Gel electrophoresis*. <https://www.khanacademy.org/science/ap-biology/gene-expression-and-regulation/biotechnology/a/gel-electrophoresis> [2023-10-24].
- Kultscher, L., Hinney, B., Schmäscke, R., Joachim, A. & Wittek, T. (2019). Current anthelmintic treatment is not always effective at controlling strongylid infections in German alpaca herds. *Parasites & Vectors*, 12, 330. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3588-3>
- Ljungström, S., Melville, L., Skuce, P.J. & Höglund, J. (2018). Comparison of four diagnostic methods for detection and relative quantification of *Haemonchus contortus* eggs in feces samples. *Frontiers in Veterinary Science*, 4. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2017.00239> [2024-01-19]
- Puicon, V., Chavez, J., Gutierrez, G., Sanchez, D., More, M. & Zarate, D. (2018). Prevalence of gastrointestinal nematodes in alpacas and sheep from two communal cooperatives in the Pasco region, Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 29 (4), 1440–1448. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15189>
- Rashid, M.H., Vaughan, J.L., Stevenson, M.A., Campbell, A.J.D., Saeed, M.A., Indjein, L., Beveridge, I. & Jabbar, A. (2019). Epidemiology of gastrointestinal nematodes of alpacas in Australia: I. A cross-sectional study. *Parasitology Research*, 118 (3), 891–900. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06235-8>
- Reslova, N., Skorpikova, L., Kyrianova, I.A., Vadlejch, J., Höglund, J., Skuce, P. & Kasny, M. (2021). The identification and semi-quantitative assessment of gastrointestinal nematodes in faecal samples using multiplex real-time PCR assays. *Parasites & Vectors*, 14 (1), 391. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04882-4>
- Shen, C. (2019). *Diagnostic Molecular Biology*. 1<sup>st</sup> ed., Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/book/9780128028230/diagnostic-molecular-biology>
- Stoll, N.R. (1930). On methods of counting nematode ova in sheep dung. *Parasitology*, 22 (1), 116–136. <https://doi.org/10.1017/S0031182000010969>
- Taylor, M.A., Coop, R.L. & Wall, R.L. (2016). *Veterinary Parasitology*. 4<sup>th</sup> ed., John Wiley and Sons, Inc.
- Thienpont, D. (1986). *Diagnosing Helminthiasis by Coprological Examination*. 2<sup>nd</sup> ed., Janssen Research Foundation.

- Verdier, K.D. & Bornstein, S. (u.å.). Enkätstudie 2008: Alpackor i Sverige - en ny utmaning. *Svensk veterinärtidning*. 2010 (1), 31.  
<https://www.sva.se/media/3qtdnkpx/alpackor-sverige.pdf>
- Windsor, R.S., Windsor, R.H. & Teran, M. (1992). Economic benefits of controlling internal and external parasites in South American camelids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 653, 398–405. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1992.tb19668.x>
- Winter, J., Rehbein, S. & Joachim, A. (2018). Transmission of helminths between species of ruminants in Austria appears more likely to occur than generally assumed. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 30. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00030>
- Österlen alpacka (u.å.). *Alpackafakta*. <https://www.alpacka.se/fakta.htm> [2023-10-02].

## Populärvetenskaplig sammanfattning

Alpackor är ett kameldjur med ursprung från Sydamerika, där majoriteten av forskningen på detta djurslag har ägt rum. I Sydamerika är det vanligt att alpackor infekteras av tarmparasiter vilket kan orsaka allvarlig sjukdom och plötsliga dödsfall. Förekomsten av parasiter varierar dock mellan olika länder, vilket till stor del beror på vilket klimat som råder. Eftersom klimatet i Sverige generellt är kallare än klimatet i Sydamerika medför detta en betydande risk att även parasitförekomsten skiljer sig mellan länderna. Trots detta har mycket begränsad forskning utförts och publicerats på alpackor i Sverige. Att belysa vilka tarmparasiter som förekommer hos alpackor i Sverige är viktigt för att ge allmänna veterinärer en bredare kunskapsbas om detta djurslag och möjliggöra mer korrekt rådgivning.

Denna studie representerar en av de första detaljerade kartläggningarna av tarmparasiter hos alpackor i Sverige. Tarmparasiterna i studien inkluderar både maskar och så kallade koccidier (encelliga tarmparasiter) som kan ge upphov till sjukdom hos alpackor. För att hitta frivilliga deltagare till arbetet kontaktades alpackaägare via Facebook. Totalt deltog 13 alpackagårdar, 7 av dessa hade även andra lantbruksdjur på gården. Gårdarna var utspridda över stora delar av landet, från Västerbotten till Skåne. Under sommaren ombads djurägarna att samla individuella avföringsprov från sina djur och skicka dem till SLU. Proverna analyserades sedan på laboratorium genom flera olika metoder. Först studerades proverna under mikroskop och därefter genom DNA-baserade metoder. De deltagande gårdarna fick även besvara en enkät med frågor angående deras djurhållning och rutiner på gården. Information från enkäten jämfördes sedan med resultaten från laboratorieanalyserna med målet att identifiera eventuella riskfaktorer som kunde kopplas till en ökad parasitförekomst hos alpackorna.

Vissa parasiter som infekterar alpackor smittar endast kameldjur. Dock finns det många tarmparasiter som även kan smitta mellan alpackor och andra djurarter såsom får, getter och kor. Kunskap kring hur denna smittspridning sker under svenska förhållanden är begränsad. Genom denna studie utforskades en hypotes som föreslog att delade beteshagar mellan alpackor och andra idisslande djurslag skulle öka parasitförekomsten hos alpackorna. Detta samband kunde dock inte bevisas.

I denna studie identifierades ett tiotal olika parasiter hos svenska alpackor. Denna kartläggning utgör en viktig pusselbit för vidare forskning inom området. I Sydamerika har stora kartläggningar kring alpackornas parasitförekomst genomförts. Resultaten från denna studie liknar resultat från tidigare forskning, men med några skillnader. Vissa arter som identifierades hos alpackor i denna studie har inte tidigare påvisats i Sydamerika, annat än på släktnivå. Ett exempel på en sådan art är stora magmasken, *Haemonchus contortus*, som vanligen smittar får och kan ge upphov till allvarlig sjukdom hos både får och alpackor. Likaså fanns det arter hos alpackor i Sydamerika som inte kunde identifieras i Sverige genom denna studie även om de är känt sedan tidigare att de förekommer i landet. Detta antyder att mer forskning krävs för att få en fullständig bild av parasitförekomsten hos alpackor i Sverige.

Ytterligare ett syfte med studien var att testa olika metoder för att identifiera tarmparasiter hos alpackor. Eftersom alpackor är ett relativt nytt djurslag i Sverige har det rått osäkerhet kring huruvida metoder som fungerar på andra lantbruksdjur även fungerar för alpackor. Resultaten från studien visar att de metoder som användes fungerade väl och gav trovärdiga resultat. Detta innebär att studien utgör ett viktigt steg i att kunna utveckla provtagningsrutiner för dessa fascinerande djur under svenska förhållanden.

Sammanfattningsvis visar resultaten från studien att tarmparasiter är vanligt förekommande bland alpackor i Sverige och förekomsten liknar den som tidigare dokumenterats i forskning utomlands. Dessutom visar studien att flera laboratoriemetoder, ursprungligen designade för andra idisslande djurslag, även är effektiva för att analysera träckprov från alpackor. Studien kunde dock inte svara på vilka faktorer som bidrar till smittspridning av tarmparasiter under svenska förhållanden. Denna kunskap skulle vara värdefull för både djurägare och veterinärer, då den kan användas som grund för att utveckla rekommendationer för alpackahållning i Sverige och därigenom minska risken för sjukdomsutbrott och djurlidande.

# Tack

Jag vill rikta ett stort tack till min handledare Peter Halvarsson för all hjälp och stöttning samt ett enormt engagemang under arbetets gång. Tack även till alla medarbetare på Vidilab för stöd i samband med mikroskoperings- och qPCR-analyserna. Jag vill rikta ett speciellt tack till Bitte Ljungström för handledning i samband med analysarbetet på Vidilab och för att du visat mig hur ägg från *Haemonchus contortus* kan identifieras morfologiskt i mikroskop vid rutinundersökningar. Vidare vill jag tacka Ida Ek för hennes engagemang och för att ha väckt mitt intresse för alpackor. Slutligen vill jag rikta ett stort tack till samtliga deltagande gårdar vars bidrag har gjort detta arbete möjligt.



# Bilaga 1

## Enkätfrågor

### Information:

Välkommen till denna enkät som är en del av mitt examensarbete angående parasitförekomsten hos alpackor i svenska besättningar.

I enkäten kommer du få svara på frågor angående gården, avmaskningsrutiner, karantän, bete och betesmarker.

Undersökningen består utav 19 frågor och tar ca 10 min att besvara.

Svaren skrivs i fri text eller genom att välja mellan svarsalternativ. Vissa frågor tillåter endast ett svarsalternativ för att gå vidare och i dessa fall väljer du det alternativ som passar bäst. Andra frågor tillåter fler svarsalternativ.

Tack för att du tar dig tid att svara på enkäten!

Hälsningar Ronja

---

<b>1. Namn på gården</b>	<input type="radio"/> Svar:
<b>2. Ungefär hur många alpackor finns på gården?</b>	<input type="radio"/> Svar:
<b>3. Hur ofta köper du in livdjur?</b>	<input type="radio"/> Aldrig <input type="radio"/> Högst en gång per år <input type="radio"/> Mer än en gång per år
<b>4. Hur många alpackor har flyttat till gården de senaste 12 månaderna?</b>	<input type="radio"/> Svar:
<b>5. Är någon av alpackorna i besättningen importerad från ett annat land?</b>	<input type="radio"/> Ja <input type="radio"/> Nej <input type="radio"/> Vet inte

---

<p><b>6. Vilka andra djurslag finns på gården?</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Inga andra djurslag</li> <li><input type="radio"/> Nötkreatur</li> <li><input type="radio"/> Får</li> <li><input type="radio"/> Getter</li> <li><input type="radio"/> Hästar</li> <li><input type="radio"/> Andra djurslag:</li> </ul>
<p><b>7. Vilka djurslag betar tillsammans med alpackorna?</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Nötkreatur</li> <li><input type="radio"/> Får</li> <li><input type="radio"/> Getter</li> <li><input type="radio"/> Hästar</li> <li><input type="radio"/> Annat:</li> </ul>
<p><b>8. Har Heamonchus (stora magmasken) påvisats hos alpackorna på er gård?</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Ja</li> <li><input type="radio"/> Nej</li> <li><input type="radio"/> Vet ej</li> </ul>
<p><b>9. Har Heamonchus (stora magmasken) påvisats hos andra djurslag på er gård?</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Ja</li> <li><input type="radio"/> Nej</li> <li><input type="radio"/> Vet ej</li> </ul>
<p><b>10. Vilket alternativ stämmer med era avmaskningsrutiner?</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Vi skickar träckprov för både äggräkning och odling minst en gång per år på samtliga alpackor</li> <li><input type="radio"/> Vi skickar träckprov endast för äggräkning minst en gång per år på samtliga alpackor</li> <li><input type="radio"/> Vi skickar träckprov, men endast vissa år/vissa individer</li> <li><input type="radio"/> Vi skickar inte träckprov</li> <li><input type="radio"/> Vet ej</li> <li><input type="radio"/> Annat (t.ex. samlingsprov):</li> </ul>
<p><b>11. Hur avmaskas alpackorna?</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Vi avmaskar vid positivt träckprov</li> <li><input type="radio"/> Vi avmaskar endast när rådgivande veterinär anser att det behövs</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Vi avmaskar alltid en gång per år oavsett träckprovsresultat</li> <li><input type="radio"/> Vi avmaskar inte alpackorna</li> <li><input type="radio"/> Annat:</li> </ul>
<b>12. Avmaskas nya alpackor vid ankomst till gården/stallet?</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Ja</li> <li><input type="radio"/> Endast om träckprov innehåller parasiter</li> <li><input type="radio"/> Ibland</li> <li><input type="radio"/> Nej</li> <li><input type="radio"/> Avmaskas innan ankomst till nya gården/stallet</li> <li><input type="radio"/> Inga nya djur köps in</li> </ul>
<b>13. Vad har ni för karantänrutiner för nya alpackor?</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Alpackan står i box/separat hage 1 vecka</li> <li><input type="radio"/> Alpackan står i box/separat hage över 1 vecka</li> <li><input type="radio"/> Ingen karantänrutin</li> <li><input type="radio"/> Inga nya djur köps in</li> </ul>
<b>14. Hur ofta har alpackor på gården kontakt med alpackor utanför gården (t.ex. i samband med betäckning, utställning eller liknande)?</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Aldrig</li> <li><input type="radio"/> Mindre än 1 gång/år</li> <li><input type="radio"/> 1 gång/år</li> <li><input type="radio"/> Flera gånger/år</li> </ul>
<b>15. Har ni separata vinter- och sommarhagar?</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Ja</li> <li><input type="radio"/> Nej</li> </ul>
<b>16. Hur hanteras beteshagarna?</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Endast alpackorna betar i en och samma hage hela sommaren</li> <li><input type="radio"/> Endast alpackor flyttas mellan olika hagar</li> <li><input type="radio"/> Växelbete med andra djurslag samma år</li> <li><input type="radio"/> Växelbete med andra djurslag olika år</li> <li><input type="radio"/> Sambete med andra djurslag</li> </ul>

- 
- 17. Ungefär hur stora betesmarker i hektar har du för alpäckorna?**       Svar:
- 
- 18. På vilken mark betar alpäckorna mest?**       Mest skogsmarksbete  
 Mest ängs/hagmarksbete  
 Mest åkermarksbete  
 Annat:
- 
- 19. Har du kommentarer om enkäten eller något annat du vill tillägga?**       Svar:
-

## Publicering och arkivering

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

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

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

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