



Utvärdering av diagnostik av *Fasciola hepatica* hos tackor

En jämförelse av sedimentation, cELISA och
PCR

Matilda Felländer

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



Utvärdering av diagnostik av *Fasciola hepatica* hos tackor – En jämförelse av sedimentation, cELISA och PCR

Evaluation of diagnostics of Fasciola hepatica in ewes – A comparison of sedimentation, cELISA and PCR

Matilda Felländer

Handledare: Johan Höglund, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Bitr. handledare: Giulio Grandi, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Bitr. handledare: Katarina Gustafsson, Gård & Djurhälsan

Examinator: Jean-Francois Valarcher, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX1003

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2025

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: cELISA, diagnostik, *Fasciola hepatica*, får, PCR, sedimentation, stora leverflundran

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Stora leverflundran, *Fasciola hepatica*, är en endoparasit med predilektionsställe i gallgångarna och kan drabba en rad olika däggdjur. Parasiten har en indirekt livscykel med sötvattenslevande snäckor som mellanvärd samt har ofta idisslare som huvudvärd. *F. hepaticas* livscykeln gynnas av ett fuktigt och mildt klimat och förekommer i Sverige, framför allt landets södra delar. En ökad spridning av parasiten kan förväntas till följd av klimatförändringar som orsakar varmare temperaturer och mildare vintrar. Får är extra känsliga för infektion och besättningar där parasiten förekommer kan drabbas av akut sjuka djur, nedsatt produktion och ekonomiska förluster.

Idag ställs diagnos oftast genom att parasiten påvisas hos djuren vid slakt eller genom träckprovtagning där parasitägg påvisas genom sedimentation. Även PCR kan göras på träck för att ställa diagnosen. cELISA är annan diagnostisk metod som används främst i samband med forskning, men som enligt litteraturen har hög potential inom området. Syftet med denna studie är att jämföra sedimentation, PCR och cELISA vid diagnostik av *F. hepatica* hos tackor. Ett ytterligare syfte är att undersöka lantbrukares rutiner kring träckprovtagning och avmaskning samt undersöka tidigare historik av *F. hepatica* i deras besättningar.

För utförande av undersökningen samlades träck från totalt 65 fårbesättningar. Från dessa analyserades 105 samlingsprover, där varje samlingsprov innehöll träck från tre individer. Proverna analyserades med sedimentation, PCR och cELISA för förekomst av *F. hepatica*. Provsvarens från de olika diagnostiska metoderna jämfördes sedan med hjälp av Cohens kappa för att beräkna överensstämmelsen. Resultatet visar en stark överensstämmelse mellan sedimentation och PCR ($\kappa = 0,72$) samt mellan PCR och cELISA ($\kappa = 0,61$). Överensstämmelsen mellan sedimentation och cELISA är måttlig ($\kappa = 0,56$). Från den genomförda undersökningen, i kombination med tidigare litteratur inom området, dras slutsatsen att användning av cELISA inom kommersiell diagnostik har god potential, särskilt som ett komplement till annan diagnostik och vid detektion av tidiga infektioner. Emellertid föreligger det en risk för falskt negativa provsvar vid användning av cELISA vid analys av samlingsprov, vilket visar att det sannolikt inte är aktuellt att ersätta sedimentation och PCR med cELISA.

Vidare undersöktes lantbrukares rutiner kring träckprovtagning och avmaskning samt besättningarnas tidigare historik av *F. hepatica* med en enkätstudie. Resultatet visar att lantbrukarna har en generellt god kännedom om parasitläget i besättningarna samt att rutinerna hos en majoritet av de som medverkat är i enlighet med de rekommendationer som finns avseende träckprovtagning och avmaskning.

Nyckelord: cELISA, diagnostik, *Fasciola hepatica*, får, PCR, sedimentation, stora leverflundran

Abstract

The common liver fluke, *Fasciola hepatica*, is an endoparasite with predilection site in the bile ducts and it can cause disease in several different mammals. The parasite has an indirect life cycle with freshwater snails as its intermediate host and often ruminants as its main host. The life cycle of *F. hepatica* benefits from a humid and mild climate and in Sweden it occurs mainly in the southern parts. An increased spread of the parasite can be expected because of climate change that causes warmer temperatures and shorter winters. Sheep are sensitive to infection and herds where the parasite occurs can suffer from acute illness, reduced production and financial loss.

Diagnosis is usually made by detecting the parasite when slaughtering the animals or by fecal sampling where parasite eggs are detected by sedimentation. Another method that can be used for diagnosis is PCR. cELISA is diagnostic method that is primarily used in research, but according to the literature has a high potential in the field. The aim of this study is to compare sedimentation, PCR and cELISA as methods for diagnosing *F. hepatica* in ewes. A further aim is to examine farmers' routines regarding fecal sampling and deworming, as well as to examine the previous history of *F. hepatica* in their herds.

Samples were collected from a total of 65 herds. From these, 105 pooled samples were analyzed, where each pooled sample contained fecal samples from three individuals. The samples were analyzed by sedimentation, PCR and cELISA for the presence of *F. hepatica*. The test results from the different diagnostic methods were then compared using Cohen's kappa to calculate agreement. The result shows a strong agreement between sedimentation and PCR ($\kappa = 0.72$) and between PCR and cELISA ($\kappa = 0.61$). The agreement between sedimentation and cELISA is moderate ($\kappa = 0.56$). From this study, together with previous literature in the field, it is concluded that the use of cELISA in commercial diagnostics has good potential, especially as a supplementary method to other diagnostics and for the detection of early infections. However, there is a risk of false negative test results when using cELISA alone when analyzing pooled samples, which indicates that it is probably not appropriate to replace sedimentation and PCR with cELISA.

Furthermore, farmers' routines regarding fecal sampling and deworming as well as the herds' previous history of *F. hepatica* were investigated with a questionnaire study. The results shows that the farmers have a generally good knowledge of the parasite burden in their herds. The routines of a majority of those who participated is in accordance with the recommendations regarding fecal sampling and deworming.

Keywords: cELISA, diagnostics, *Fasciola hepatica*, sheep, PCR, sedimentation, common liver fluke

Innehållsförteckning

1. Inledning	9
2. Litteraturoversikt.....	10
2.1 Förekomst och statistik	10
2.2 Livscykel.....	10
2.3 Fasciolos hos får	11
2.4 Fynd vid post-mortembesiktning	12
2.5 Diagnostik	13
2.5.1 Sedimentation	13
2.5.2 Koproantigen enzyme-linked immunosorbent assay.....	15
2.5.3 Polymerase chain reaction	16
2.5.4 Andra diagnostiska metoder	17
2.6 Behandling med avmaskningsmedel	18
2.7 Profylaktiska åtgärder	18
3. Material och metod	20
3.1 Urval av besättningar	20
3.2 Enkätstudie	20
3.3 Sedimentation	20
3.4 Koproantigen enzyme-linked immunosorbent assay	21
3.5 Polymerase chain reaction.....	22
3.6 Statistisk analys	23
4. Resultat	24
4.1 Sedimentation	24
4.2 Koproantigen enzyme-linked immunosorbent assay	24
4.3 Polymerase chain reaction.....	25
4.4 Jämförelse av diagnostiska metoder	25
4.5 Geografisk spridning	27
4.6 Enkätstudie	27
5. Diskussion	30
6. Slutsats	35
Referenser.....	36
Populärvetenskaplig sammanfattning	41
Tack	43
Bilagor	44
Bilaga 1	44
Frågor enkätundersökning	44

Bilaga 2	45
Provsvår våren 2024	45
Provsvår hösten 2024	47
Provsvår individuella prover cELISA hösten 2024	49
Bilaga 3	51
OD-värden och beräkningar.....	51

1. Inledning

Stora leverflundran, *Fasciola hepatica*, är en parasit som tillhör gruppen sugmaskar, trematoder (Jacobs *et al.* 2016). Dess huvudsakliga slutvärd är idisslare, men den kan även infektera en rad andra däggdjur, inklusive människa (Jacobs *et al.* 2016; Höglund & Johansson 2020). *F. hepatica* trivs i områden med milda temperaturer, sank marker och hög nederbörd, eftersom det främjar både parasitens mellanvärd och dess olika larvstadium (Relf *et al.* 2011; Höglund & Johansson 2020). Krav på väderförhållandet leder till en säsongsbunden variation i förekomst av infektion hos djuren (Bloemhoff *et al.* 2015).

Parasiten har en indirekt livscykel med vissa sötvattenslevande snäckor som mellanvärd (Jacobs *et al.* 2016). När parasiten förökat sig hos mellanvärden smittas djur på betet genom att de får i sig larver (metacerkarier) som finns i gräset (Jacobs *et al.* 2016). Både *F. hepatica* och dess mellanvärd har en god förmåga att anpassa sig i miljön. Det i kombination med klimatförändringar och global uppvärmning ökar risken för ökad prevalens hos idisslare (Fairweather 2011; Fox *et al.* 2011). Med stigande temperaturer förlängs betesperioden och därmed tiden när smitta kan spridas (Fairweather 2011). Flera länder i Europa har de senaste åren dokumenterat ett ökat antal fall av fasciolos (se referenser Fairweather 2011; Beesley *et al.* 2017).

Trots omfattande forskning kring diagnostik av *F. hepatica* finns ett fortsatt stort behov och globalt intresse för utveckling av förbättrade metoder inom området (Alvarez *et al.* 2014). I Sverige saknas även kunskap om vilken metod som, med högst sensitivitet och specificitet, kan användas för att övervaka smittan och ta reda på effekten av avmaskning. Huvudsyftet med denna studie är att jämföra de diagnostiska metoderna sedimentation, cELISA och PCR vid diagnostik av *F. hepatica* hos tackor. Ett ytterligare syfte är att med hjälp av en enkätstudie undersöka lantbrukares rutiner kring träckprovtagning och avmaskning samt undersöka tidigare historik av *F. hepatica* i deras besättningar.

2. Litteraturöversikt

2.1 Förekomst och statistik

År 2010 uppmättes prevalensen av *F. hepatica* hos svenska nötkreaturbesättningar i södra och mellersta Sverige till 7,1 % när tankmjölk testades för antikroppar (Höglund *et al.* 2010). Höglund *et al.* (2014) menar att *F. hepatica* har blivit allt vanligare i Sverige och rapporter om klinisk sjukdom har också ökat, det gäller även från områden där man tidigare år inte haft problem med parasiten. I kontrast, visar Gård & Djurhälsans FarmStat-rapport för 2022 att förekomsten av slaktanmärkningar för *F. hepatica* hos kor har mer än halverats från 9 % 2018 till drygt 4 % 2022 (Reneby 2022).

I FarmStat-rapporten för 2023 presenteras de senaste siffrorna för förekomsten av *F. hepatica* hos svenska fårbesättningar (Reneby & Jonasson 2024). År 2022 testades träckprover från 164 fårbesättningar varav 8 % var positiva. Motsvarande siffra för 2023, då 151 fårbesättningar testades, var 5 %. Vid jämförelse av parasitära fyndkoder i slaktrapporter från kor i Sverige bekräftades att *F. hepatica* är överrepresenterad i sydvästra Sverige och Västra Götaland, även mellersta Sverige hade en ökad förekomst (Reneby & Jonasson 2024).

2.2 Livscykel

F. hepatica har en indirekt livscykel med olika däggdjur som slutvärd och sötvattenslevande snäckor som mellanvärd (Jacobs *et al.* 2016). Ägg från *F. hepatica* kommer ut med träcken, utvecklas och kläcks på betet till larver (miracidium) (Fairweather 2011; Jacobs *et al.* 2016; Howell & Williams 2020). För detta krävs temperaturer över 10 °C (Boray 1969; Jacobs *et al.* 2016). Därmed kommer ägg som utsöndras under tidig vår inte att kläckas förrän det blir varmare. Inkubationstiden för äggen är temperaturberoende och går snabbare vid högre temperaturer, vid 15 °C tar det som minst 21 dagar tills äggen kläcks (Boray 1969). Vid temperaturer under -5 °C under längre än 2 veckor dör äggen (Howell & Williams 2020). Miracidier kläcks ur äggen och simmar med hjälp av cilier för att så snart som möjligt efter kläckning hitta en snäcka (Jacobs *et al.* 2016; Howell & Williams 2020). *F. hepaticas* huvudsakliga mellanvärd är den amfibiska dammsnäckan, *Galba truncatula*, som lever i sötvatten (Howell & Williams 2020; Höglund & Johansson 2020). Även närbesläktade snäckor inom familjen dammsnäckor, *Lymnaeidae*, agerar sporadiskt som mellanvärdar men spelar en underordnad roll (Höglund *et al.* 2014).

I snäckan sker tre faser av asexuell reproduktion där slutprodukten är ytterligare ett larvstadium, cercarier, som lämnar snäckan (Jacobs *et al.* 2016). För

varje miracidie som infekterar en snäcka kan 600–1 000 cercarier utvecklas, denna process är temperaturberoende och kan ta upp till flera veckor (Fairweather 2011 se Krull 1941; Jacobs *et al.* 2016). Cercarierna simmar och fäster sig till grässtrån och andra vattennära växter (Höglund *et al.* 2014; Jacobs *et al.* 2016; Howell & Williams 2020). Där släpper de sin svans och utvecklas till infektiösa dugliga metacercarier som encystrar i betesgräset (Boray 1969; Jacobs *et al.* 2016). Utvecklingen från miracidie till metacercarie tar cirka 2 månader vid optimala väderförhållanden. Parasitens larver är mycket motståndskraftiga och kan vara infektiösa på betet i upp till ett år, men dör vid temperaturer under -10 °C (Boray 1969).

Idisslare får i sig larverna via gräset när de betar (Höglund *et al.* 2014; Höglund & Johansson 2020). I mag-tarmkanalen tränger larverna sig igenom tarmväggen och tar sig ut i bukhålan. De tar sig sedan till levern där de borrar sig fram genom levervävnaden under 6–8 veckor innan de når gallgångarna. I gallgångarna utvecklas larverna till mogna flundror (Alvarez *et al.* 2014; Höglund *et al.* 2014; Howell & Williams 2020; Höglund & Johansson 2020). Som vuxen blir *F. hepatica* 2–5 cm lång (Jacobs *et al.* 2016). Efter parning och ytterligare ett par veckor börjar de mogna flundrorna producera ägg som kommer ut via gallan med djurets avföring (Howell & Williams 2020; Höglund & Johansson 2020). Vuxna flundror kan överleva i får under flera års tid (Howell & Williams 2020).

På varmare breddgrader har *F. hepatica* setts kunna övervintra på betet, både i dess larvstadium och i ägg, samt inuti mellanvärden eller inuti slutvärden (Höglund *et al.* 2014; Jacobs *et al.* 2016). Parasitens förmåga att övervintra under svenska förhållanden är delvis klarlagd och i Sverige tros det i huvudsak ske inuti slutvärden. Parasitens metod för övervintring spelar en stor roll för tidpunkten då nya djur infekteras på betet kommande säsong (Höglund *et al.* 2014). Majoriteten av betande djur som infekteras blir infekterade under den senare delen av betes-säsongen (Höglund *et al.* 2014; Novobilský *et al.* 2012a).

2.3 Fasciolos hos får

Får är ytterst mottagliga för *F. hepatica* och är betydligt känsligare för infektion än nötkreatur (Alvarez *et al.* 2014; Höglund *et al.* 2014). Trots det kan en lågradig infektion förekomma utan kliniska tecken på sjukdom (Björk & König 2013). Akut sjukdom uppstår när fåret fått i sig en stor mängd metacercarier (Boray 1969; Björk & König 2013). I en experimentell studie uppvisade får som administrerades 1000 metacercarier subakut sjukdom, respektive 4000 metacercarier för perakut sjukdom (Boray 1969). Akuta symtom bryter vanligtvis ut 1–8 veckor efter infektionstillfället (Alvarez *et al.* 2014; Howell & Williams 2020). Symtom uppstår på grund av invärtes blödningar i samband med att larverna borrar sig igenom levern. Karakteristiska sjukdomstecken är buksmärter, anemi (Björk & König 2013; Alvarez *et al.* 2014), feber, hepatomegali, diarré,

minskad tillväxt (Alvarez *et al.* 2014), ikterus och ibland plötsliga dödsfall (Björk & König 2013).

Den vanligaste formen vid infektion med *F. hepatica* är kronisk infektion (Björk & König 2013). Den kroniska sjukdomsfasen börjar när vuxna flundror har etablerat sig i gallgångarna (Alvarez *et al.* 2014) ofta 4–5 månader efter infektionstillfället (Howell & Williams 2020). Många djur visar inga eller milda kliniska symtom, såsom minskad tillväxt. Andra sjukdomstecken är avmagring, nedsatt aptit, i grava fall käftgropsödem, anemi (Björk & König 2013; Howell & Williams 2020) och ascites (Howell & Williams 2020). Digivande och högrätkiga tackor samt djur i dålig kondition av andra orsaker påverkas mest. Drabbade tackor kan även få problem med att bli dräktiga. Kronisk sjukdom ses vanligen hos får under senvintern och tidig vår (Björk & König 2013).

Djur som har flera olika mognadsstadier av parasiten samtidigt uppvisar en mer komplex sjukdomsbild (Björk & König 2013). Både får och nötkreatur utvecklar en immunrespons, men den är otillräcklig för att utveckla förvärvad skyddande immunitet (Howell & Williams 2020). Den kliniska manifestationen kan skilja sig åt och beror på flera olika faktorer, bland annat infektionsdos, värdjurets genetiska komposition och immunförsvarets respons (Alvarez *et al.* 2014). Ibland associeras fasciolos med samtidig bakteriell infektion, till exempel *Clostridium novyi* som orsakar ”black disease” hos får (Alvarez *et al.* 2014; Howell & Williams 2020). Om sjukdomen förekommer i Sverige är inte klarlagt men den är i så fall troligtvis mycket ovanlig.

2.4 Fynd vid post-mortembesiktning

Vid infektion med *F. hepatica* orsakar larvernans vandring genom levern skador i levervävnaden (Höglund & Johansson 2020). Vid den akuta fasen är fibrinöst exsudat på leverkapseln, blödningar, vävnadsdestruktion, juvenila flundror och inflammation vanliga patologiska förändringar (Alvarez *et al.* 2014). I senare förlopp av sjukdomen ses vävnadsärr och atrofi tillsammans med svullnad eller kollaps av en eller flera leverlobor och fibrin (Alvarez *et al.* 2014). När vuxna parasiter etablerat sig i gallgångarna ses ofta gallgångshyperplasi och fibros runt dessa (Alvarez *et al.* 2014; Bernhard & Rockström 2024). Även ocklusion av gallgångar, minskat gallflöde och förstoring av gallblåsan noteras i grava fall (Alvarez *et al.* 2014). Skadorna upptäcks vid slaktbesiktningen och kan användas för att ställa en besättningsdiagnos (Höglund & Johansson 2020). Hos får kan parasiten påträffas hos lamm som slaktas på hösten, vintern och våren förutsatt att de varit på bete, men även hos utslagstackor (Björk & König 2013; Novobilský *et al.* 2012a).

Vid rapportering om skador på slakteriet används kod 79/80 för stora leverflundran när man påvisar parasiten i levern (Bernhard & Rockström 2024; Novobilský *et al.* 2012a). Vid skador i levervävnaden och/eller gallgångarna utan att

flundror kan påvisas används kod 83/84 för parasitär leverskada (Bernhard & Rockström 2024; Novobilský *et al.* 2012a). Denna typ av skador kan även orsakas av lilla leverflundran, *Dicrocoelium dendriticum*, och därmed innebär kod 83/84 inte säkert att skadorna är till följd av *F. hepatica* (Novobilský *et al.* 2012a).

Rapportering från slakterierna är ett värdefullt verktyg när det kommer till övervakning av *F. hepatica* (Novobilský *et al.* 2012a). Ett problem i övervakningen är att småskaliga slakterier inte alltid lämnar ut rapporter om besiktningsfynd regelmässigt till djurägarna (Novobilský *et al.* 2012a). Vidare är rutinbesiktning, även om den sker enligt ett visst protokoll, personberoende och bedömningar från olika personer kan variera.

2.5 Diagnostik

För en definitiv diagnos av *F. hepatica* krävs påvisande av parasiten i djurets gallgångar i samband med okulär inspektion vid slakt (Munita *et al.* 2019). Obduktion av självdöda djur är också ett värdefullt hjälpmedel för att diagnostisera en besättning (Björk & König 2013). Nackdelen med slakt och obduktion är att diagnos bara kan ställas *post-mortem*, för diagnos *ante-mortem* finns även en rad olika metoder (Munita *et al.* 2019). Ett problem kopplat till diagnostiken är att det i Sverige saknas kunskap om vilken metod som, med högst sensitivitet och specificitet, kan användas exempelvis för att övervaka smittan och ta reda på effekten av avmaskning.

2.5.1 Sedimentation

Den vanligaste metoden för att diagnostisera *F. hepatica* hos levande djur är sedimentation som möjliggör detektion av ägg i träcken och som i engelsk litteratur kallas fecal egg count (FEC) (Fairweather 2011; Alvarez *et al.* 2014; Munita *et al.* 2019). Metoden används routinemässigt i Sverige (SVA 2024). Äggen utsöndras via galla med djurets avföring när flundrorna är vuxna (Jacobs *et al.* 2016), vilket sker tidigast 10–12 veckor efter intag av metacerkarier (Mezo *et al.* 2004 se Zimmerman *et al.* 1982; Munita *et al.* 2019). Eftersom djuren oftast infekteras på sensommaren brukar man inte kunna påvisa ägg från förstagångsbetande djur förrän från och med kommande december (Höglund *et al.* 2014).

En nackdel med sedimentation är att äggen från *F. hepatica* utsöndras intermittent, vilket ger en risk för falskt negativa provsvar (Fairweather 2011; Gordon *et al.* 2012; Alvarez *et al.* 2014; Kahl *et al.* 2023). Även efter en lyckad avmaskning kan ägg finnas kvar i gallblåsan och utsöndras med träcken i upp till 3 veckor, vilket kan leda till falskt positiva provsvar (Gordon *et al.* 2012). För att metoden ska kunna utföras krävs också en stor mängd fekalt material (3–10 g träck) (Gordon *et al.* 2012; Kahl *et al.* 2023), men med mer provmaterial och upprepade undersökningar ökar både sensitiviteten och specificiteten (Munita *et al.* 2019).

Mängden ägg från *F. hepatica* i träck är generellt sett låg om man jämför med mängden ägg från gastrointestinala nematoder (Kahl *et al.* 2023) och korrelerar heller inte med antalet flundror eller graden av klinisk sjukdom (Fairweather 2011; Alvarez *et al.* 2014; Kahl *et al.* 2023). Provmaterial som väntar på analys kan förvaras i kylskåpstemperatur i upp till en vecka, vilket gör metoden tidskänslig (Gordon *et al.* 2012).

Ägg från sugmaskar är tunga och sjunker då provmaterialet blandas med vatten, vilket gör att sedimentationsteknik är bättre lämpad än flotation (Jacobs *et al.* 2016). Provmaterialet blandas med vatten och silas för att avlägsna större partiklar. Efter flera tvättsteg granskas sedimentet som ansamlas på botten under mikroskop (Jacobs *et al.* 2016). Ägg från *F. hepatica* är ovalt formade, 130–145 µm långa och 70–90 µm breda. De har en tunn vägg och är fyllda med granulerat gulbrunt material (Thienpont *et al.* 2003) (se figur 1). För mikroskopisk detektion av ägg krävs att varje prov analyseras individuellt samt att det görs av tränad personal (Mezo *et al.* 2004; Munita *et al.* 2019). Metoden är relativt tidskrävande och lämpar sig därför inte vid storskaliga undersökningar (Mezo *et al.* 2004; Munita *et al.* 2019). Ägg från *F. hepatica* har även en liknande morfologi som ägg från våmflundran, *Calicophoron/Paramphistomum*, och det finns därmed en risk för förväxling mellan dessa parasiter (Wenzel *et al.* 2019).



Figur 1. Ägg från *F. hepatica* i ljusmikroskop. Foto: Matilda Felländer

I en studie jämförde Kahl *et al.* (2023) den traditionella sedimentationsmetoden med en modifierad metod som kallas Flukefinder (FLUKEFINDER®). Det är en variant av sedimentationsmetoden men där provmaterialet löses i vatten och silas genom två silar med olika maskvidd. Den första silen avlägsnar större partiklar men släpper igenom ägg från *F. hepatica*. Den andra silen fångar upp äggen men släpper igenom mindre partiklar. Materialet i den andra silen spolas ut i en bägare, sedimenteras och provet kan sedan läsas av i mikroskop. Studien visade att fler

ägg per gram (EPG) hittades med Flukefinder jämfört med den traditionella sedimentationsmetoden (Kahl *et al.* 2023).

2.5.2 Koproantigen enzyme-linked immunosorbent assay

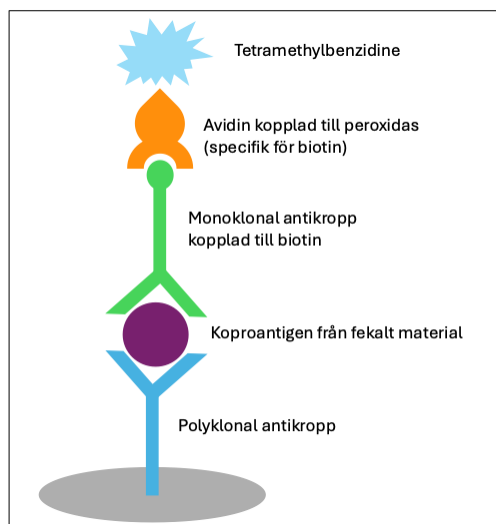
Koproantigen enzyme-linked immunosorbent assay (cELISA) är en metod som är baserad på detektion av antigen från *F. hepatica* som utsöndras i djurets träck (Fairweather 2011). Det är en form av indirekt diagnostik och baseras på att specifika antikroppar binder till proteiner (antigen) som avges av *F. hepatica* (Bio-X Diagnostics 2017). Enligt en studie gjord av Mezo *et al.* (2004) kan parasiten detekteras med hjälp av cELISA redan 5–8 veckor efter infektionstillfället hos både får och nötkreatur. Det ger en betydligt tidigare diagnos än om den ställs genom FEC. Djuren kan därmed diagnostiseras under prepatensperioden, vilket ger möjlighet till tidigare behandling, undvikande av längre tids påverkan på levern och minskad ytterligare kontamination av betesmarker. Samma studie visade även att djuren förblev positiva i minst 18 veckor efter infektionstillfället (Mezo *et al.* 2004).

I jämförelse med FEC är cELISA betydligt mindre tidskrävande om man räknar i tid för laboratoriearbetet per djur (Gordon *et al.* 2012). En annan fördel är att det finns möjlighet att frysa provmaterial innan analysen, vilket gör metoden mindre tidskänslig (Gordon *et al.* 2012). Även om metoden är mindre beroende av parasitologisk expertis, krävs dock tillgång till viss laboratorieutrustning (se nedan), som till exempel spektrofotometer och automatpipetter. På grund av detta och kostnad för provtagningskit är cELISA dyrare och därmed inte lika lättillgänglig som sedimentation (Collyer 2024).

Mezo *et al.* (2004) beskriver ett cELISA-test baserat på en monoklonal antikropp (mAb MM3). I studien visade testet både en hög sensitivitet och en hög specificitet med frånvaro av korsreaktioner med andra gastrointestinala parasiter. Antalet flundror som infekterar ett djur verkar även vara korrelerat till koncentrationen av antigen i träcken, ett lågt antal flundror ger alltså en lägre koncentration av antigen. Trots detta visar studien att testet kan detektera 100 % av får med en flundra och 100 % av nötkreatur med två flundror (Mezo *et al.* 2004). En studie på samma typ av cELISA-test gjordes av Palmer *et al.* (2014) och visade då en lägre sensitivitet än vad andra tidigare hävdade. Enligt studien var sensitiviteten hos får 88 % vid användning av kittets rekommenderade tröskelvärden.

Ett kommersiellt tillgängligt cELISA-test för *F. hepatica* tillverkas av Bio-X Diagnostics (Bio-X Diagnostics 2017). Testet utförs på en mikropatta med 96 brunnar. Hälften av brunnarna är sensibiliserade med en specifik polyklonal antikropp mot *F. hepatica*. Antikroppen binder till koproantigen som finns i träcken. Därefter appliceras en specifik monoklonal antikropp riktat mot *F. hepatica*-antigen som är kopplad till biotin. Sedan appliceras en peroxidas-kopplad avidin som är specifik för biotin varefter ett kromogen (tetramethylbenzidine) appliceras (se figur 2). Om *F. hepatica* är närvarande i provet kommer konjugaten vara

bundna till varandra och en enzymreaktion omvandlar kromogenet från färglöst till blått. Slutligen tillsätts en stopplösning och resultatet läses av i form av optisk densitet (OD) i en spektrofotometer. Resterande hälften av brunnarna används som negativa kontroller (Bio-X Diagnostics 2017).



Figur 2. Författarens illustration av de olika komponenterna och dess bindningar till varandra vid ett positivt cELISA-test.

Det råder konsensus i litteraturen att det tröskelvärde för optisk densitet (OD cut-off nivå) som rekommenderas av tillverkaren i cELISA-kit är för högt för att på ett exakt sätt kunna identifiera skillnaden mellan positiva och negativa prover (Kelley *et al.* 2021). Därför finns det flera studier där man provat att använda olika tröskelvärden för att identifiera positiva prover (se referenser Kelley *et al.* 2021).

2.5.3 Polymerase chain reaction

Den molekylära metoden polymerase chain reaction (PCR) kan användas för att diagnostisera *F. hepatica* och har visat potential inom området (Arifin *et al.* 2016). I en studie gjord av Kozak *et al.* (2008) kunde positiva PCR-resultat hos får ses åtta veckor efter infektionstillfället vid analys av träck och alla djur som deltog i studien var positiva med PCR innan ägg kunde detekteras mikroskopiskt. Liknande resultat sågs även i en studie av Le *et al.* (2012). Waseem *et al.* (2012) jämförde PCR och FEC på träck från får och getter. 4,5 % av proverna från får testade positivt med PCR medan FEC var positivt i 3,5 % av samma prover. Motsvarande siffror för get var 3,5 % respektive 2 %.

PCR baseras på kopiering (amplifiering) av genetiskt material för detektion av små mängder deoxyribonukleinsyra (DNA) (Alvarez *et al.* 2014). I metoden används ett enzym som kallas DNA-polymeras. Det som vanligen används vid

PCR är Taq-DNA (Khehra *et al.* 2024). Taq-DNA isoleras ur bakterien *Thermus aquaticus* och används tack vare dess värmeteroleranta egenskaper. För utförande av PCR krävs ett primerpar som binder till båda sidor om en specifik DNA-sekvens. Proceduren börjar med att provet hettas upp till 95 °C, vilket bryter vätebindningarna mellan basparen och separerar de två DNA-strängarna. Sedan sänks temperaturen för att primrarna ska binda till det enkelsträngade DNA:t. Temperaturen höjs sedan och DNA-polymeras bygger upp nytt identiskt dubbelsträngat DNA med hjälp av nukleotider. Denna procedur upprepas flera gånger, vilket resulterar i en stor mängd identiska DNA-sekvenser (Khehra *et al.* 2024). I realtids-PCR läses en fluorescerande signal av, som är proportionell till mängden DNA i provet, med hjälp av ett PCR-instrument (Godfrey 2009).

2.5.4 Andra diagnostiska metoder

Ytterligare metoder som kan användas som diagnostiska hjälpmedel, men som inte utvärderas i denna studie, är bland annat detektion av antikroppar eller antigen i serum eller mjölk samt andra blodanalyser. Antikroppar kan detekteras i blod eller mjölk hos djur som är eller har varit infekterade med *F. hepatica* (Fairweather 2011; Gordon *et al.* 2012; Alvarez *et al.* 2014; Munita *et al.* 2019). Nackdelen är att det, vid ett positivt testresultat, inte går att avgöra om djuret har en pågående infektion eller om djuret nyligen har genomgått infektionen, eftersom antikroppar kan finnas kvar i blodet exempelvis efter lyckad behandling (Fairweather 2011; Gordon *et al.* 2012; Alvarez *et al.* 2014; Munita *et al.* 2019). Genom detektion av antikroppar kan diagnos ställas som tidigast 3–5 veckor efter infektionstillfället (Mezo *et al.* 2004; Novobilsky *et al.* 2012b). Vissa lamm kan ha antikroppar innan betesperioden påbörjats, vilket beror på passiv överföring från seropositiva tackor via kolostrum (Novobilský *et al.* 2012a).

Antigen från *F. hepatica* har även visats kunna detekteras i blod från 1 vecka efter infektionstillfället med ett ELISA-test baserat på polyklonala antikroppar. I kontrast till serumantikroppar, minskar antigen i serum snabbt efter en lyckad avmaskning (Alvarez *et al.* 2014).

Genom blodanalys kan även GLDH och GGT mätas och ökade nivåer av dessa leverenzymmer är en indikation på leverskada (Gordon *et al.* 2012; Alvarez *et al.* 2014). Även blodparametrar som visar anemi, eosinofili och hypoalbuminemi kan relateras till infektion med *F. hepatica* och vara av diagnostiskt värde (Fairweather 2011). Inga av nämnda blodparametrar är specifika för fasciolos och blodprovssvar bör därför kombineras med annan diagnostik innan diagnos fastställs (Gordon *et al.* 2012).

Ytterligare en molekylär diagnostisk metod är loop-mediated isothermal amplification (LAMP) som specifikt kan identifiera *F. hepatica* och som har visat sig vara mer sensitiv än den konventionella PCR-metoden (Alvarez *et al.* 2014).

2.6 Behandling med avmaskningsmedel

En viktig del i kontrollen av *F. hepatica* är korrekt behandling av drabbade besättningar. Avmaskning bör i huvudsak ske i besättningar med problem och där diagnosen har bekräftats (Björk & König 2013; Howell & Williams 2020). I Sverige finns tre substanser registrerade, triklabendazol, albendazol och klosantel, för användning till djur och olika läkemedlen är verksamma mot olika livsstadier av parasiten (Fass Djurläkemedel 2024a, b, c). En korrekt dosering av läkemedel är viktigt för att uppnå önskad effekt och undvika utveckling av läkemedelsresistens (Howell & Williams 2020).

I norra Europa, där djur infekteras under sensommaren, är den mest effektiva tidpunkten för avmaskning under sen höst eller vinter (Howell & Williams 2020). Behandlingen bör ges några veckor efter installation. Om djuren behandlas vid rätt tidpunkt räcker ofta en behandling årligen. Avmaskning kan även utföras på våren innan djuren släpps ut på bete för att undvika att betet kontamineras av ägg från flundror som övervintrat i djuren (Howell & Williams 2020).

Triklabendazol är en unik benzimidazol som har effekt mot alla stadier av *F. hepatica*, från 2 veckor efter infektionstillfället (Howell & Williams 2020). Triklabendazol är det enda läkemedlet för behandling akut fasciolos som kan uppstå vid migration av omogna larver (Howell & Williams 2020; Novobilský *et al.* 2012a). Därmed är det extra viktigt att undvika onödig användning samt välja andra läkemedel i den mån det går (Fairweather 2011). Det finns flera rapporter om en utbredd resistens mot triklabendazol i Europa, vilket är extra problematiskt för fårbesättningar då fåren har hög risk att utveckla akut fasciolos (Howell & Williams 2020).

Även albendazol är en benzimidazol men som endast har effekt mot vuxna flundror, från 10 veckor efter infektionstillfället (Howell & Williams 2020). Enligt Fass Djurläkemedels webbsida (2024b) är doseringen av albendazol 5 mg/kg medan internationella rekommendationer ligger på 7,5 mg/kg. I ett samarbetsprojekt mellan Gård & Djurhälsan och SLU år 2011 jämfördes effekten av dessa två doser, och slutsatsen var att enbart den högre dosen gav önskad effekt (Novobilský *et al.* 2012a).

Ett annat läkemedel verksamt mot *F. hepatica* är klosantel som tillhör gruppen salicylanilider (Fass Djurläkemedel 2024c). Klosantel har effekt mot både vuxna flundror och sena larvstadier, från 7–8 veckor efter infektionstillfället (Howell & Williams 2020). Rapporter om viss resistensutveckling finns både för albendazol och klosantel (Novobilský & Höglund 2015; Novobilský *et al.* 2012b).

2.7 Profylaktiska åtgärder

F. hepatica kan även förebyggas genom att dika ut eller stängsla av runt sankmarker, minska betestrycket eller införa växelbete med en mindre känslig djurart

(Fairweather 2011; Novobilský *et al.* 2012a). En god betesplanering där man inte låter fåren beta på sankmarker under sensommaren, från slutet av augusti, motverkar också att djur smittas och betet kontamineras med flundrans ägg. Ett alternativ är att överväga att ställa in djuren tidigare på säsongen (Novobilský *et al.* 2012a). Vid inköp av nya djur bör man efterfråga status för stora leverflundran i den säljande besättningen samt behandla djur som är köpta från riskbesättningar i karantän (Fairweather 2011; Novobilský *et al.* 2012a).

3. Material och metod

3.1 Urval av besättningar

Under februari 2024 skickades ett upprop ut till fårbesättningar som var kunder inom Gård & Djurhälsan i Skåne, Halland och Västra Götaland och där djurägarna uppmanades att skicka in träckprover som undersöktes gratis för *F. hepatica*. Totalt valde 42 besättningar att delta och varje besättning skickade in tre separata träckprover från tackor till Vidilab från mitten av februari till mitten av mars 2024.

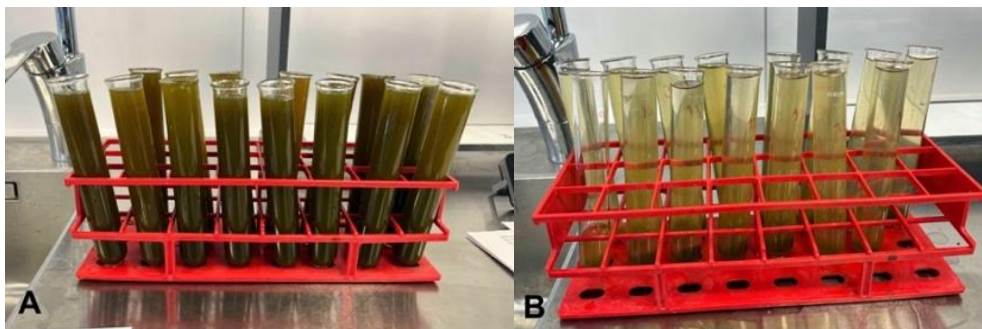
I september 2024 uppmanades samma djurägare att skicka in nya träckprover, helst från samma tackor som undersöktes tidigare eller från tackor från samma djurgrupp. Av dessa var det 26 djurägare som skickade in nya prover. För att få maximalt antal prover till undersökningen av koproantigen valdes ytterligare 31 träckprover ut från 23 besättningar som skickats till Vidilab under hösten. Dessa prover inkom till Vidilab från mitten av september till mitten av oktober och kom från södra och mellersta Sverige. Totalt inkluderades 105 samlingsprover från 65 olika besättningar i undersökningen.

3.2 Enkätstudie

I september skickades en enkät ut till de 42 besättningar som deltagit i studien under våren. I enkäten ställdes frågor om besättningarnas rutiner för träckprovtagning och avmaskning samt tidigare historik av *F. hepatica* i besättningen (se bilaga 1).

3.3 Sedimentation

Från varje besättning analyserades minst ett träckprov som samlingsprov från tre djur enligt de rutiner som används på Vidilab (Vidilab AB 2021). Två g träck per djur togs från tre individer (6 g per prov totalt) och mixades med stavmixer tillsammans med 84 ml vatten i en bägare. Provvätskan silades genom en dubbel gasväv, så att större partiklar avlägsnades, och hölldes upp i ett provrör. Överflödig provvätska sparades för PCR-analys. Provröret fick sedan stå i 20 minuter. Därefter aspirerades överfasen med hjälp av en vattensug från vattenytan tills 2–3 cm av provvätskan återstod i provröret. Provröret fylldes sedan med vatten ända upp. Det här steget upprepades cirka fyra gånger med 20 min mellanrum tills provet var tillräckligt rent för avläsning och hela processen tog ca 2–3 timmar (se figur 3). Vätska sögs då från vattenytan tills 2–3 cm av provvätskan återstod med hjälp av vattensug (Vidilab AB 2021).

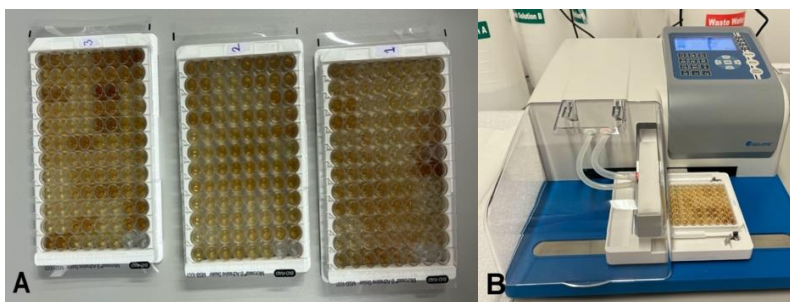


Figur 3. Bild A visar nyligen satta prover. Bild B visar prover som snart är klara för avläsning. Foto: Matilda Felländer

Den slutliga provvätskan blandades i provröret och hälldes upp i en petriskål med några droppar diskmedel. Provet lästes av under ett vanligt ljusmikroskop med 40X förstoring. Resultatet uttrycktes som positivt eller negativt för förekomst av ägg från *F. hepatica*. På en arbetsdag analyserades som mest ca 10 prover åt gången med sedimentation.

3.4 Koproantigen enzyme-linked immunosorbent assay

Påvisande av koproantigen gjordes med Bio-X Diagnostics ELISA-kit (BIO K 201 - Monoscreen AgELISA *Fasciola hepatica* / indirect sandwich, double wells). Förberedelse och utförande av analys tog två dagar. Första dagen förbereddes spädningar bestående av cirka 0,7 g träck, taget från tre tackor i samma besättning, och 2 ml buffert. Några prover analyserades även som enskilda prover med 0,7 g träck från en tacka per prov. De spädda proverna centrifugerades i 10 minuter på 1000 g, varpå överfasen från varje prov samlades upp i separata rör. Proverna förvarades i kyl vid 4 °C över natt. Proceduren utfördes enligt Bio-X Diagnostics instruktionsblad (Bio-X Diagnostics 2017), men enstaka förändringar i proceduren gjordes: i analysen användes i majoriteten av proverna 0,7 g träck från tre individer istället för 0,5 g från en individ som instruktionen föreslog och förberedda prover inkuberades över natten i kylskåp.



Figur 4. Bild A visar cELISA mikroplattor med provmaterial. Bild B visar en ELISA mikroplatt-tvätt. Foto: Matilda Felländer

Andra dagen slutfördes analysen med cELISA. För analys användes en mikropatta med plats för 47 prover och 1 kontroll, tvättlösning, lösning med biotin-konjugerade antikroppar för *F. hepatica*, avidin-peroxidas, kromogenlösning (tetramethylbenzidine) och stopplösning. Under utförandet av analysen följdes instruktionen strikt från Bio-X Diagnostics instruktionsblad (Bio-X Diagnostics 2017) där mikropattorna tvättades mellan varje tillsatt konjugat (se figur 4). Efter slutförd procedur lästes OD-värdena av i alla brunnar på mikropattan med hjälp av en spektrofotometer vid 450 nm filter. I Excel beräknades optiska densiteter i procent för varje prov (se bilaga 3) och de bedömdes som positiva eller negativa baserat på två olika tröskelvärden. De tröskelvärden som användes var det rekommenderade tröskelvärdet från cELISA-kitet på 8 % samt ett lägre tröskelvärde baserat på vad man använt i tidigare studier på 2 %. Hela analysen med cELISA tog 5–6 timmar att utföra.

3.5 Polymerase chain reaction

Den överflödiga provvätskan från sedimentationen förbereddes för DNA extraktion genom att centrifugeras i 706g i 5 min. Sedan aspirerades överfasen. Mättad saltlösning tillsattes till provet, det blandades väl och centrifugeras vid 706g i 5 min. Överfasen aspirerades. Sedan tillsattes PBS, det blandades väl och centrifugeras vid 400g i 1 min. Överfasen aspirerades. PBS tillsattes och provet hantades på samma sätt ytterligare två gånger. Efter den sista omgången centrifugeras inte provet utan fick stå för att sedimenteras i 20 min (se figur 5). Överfasen aspirerades och 1000 µl av det sedimenterade materialet överfördes till bead-betingrör innehållande tungstenskulor.



Figur 5. Prover under förberedelse för DNA extraktion. Foto: Matilda Felländer

Under utförandet följdes Vidilabs rutiner för PCR-analys (Vidilab AB 2024). För att extrahera DNA användes en metod som kallas bead-beting. Proverna centrifugeras vid 2000g i 1 min. Överfasen aspirerades och därefter tillsattes lyseringsbuffert. Lock sattes på och plattan kördes i Tissuelyser II och skakades vid 30 Hz i 2x1 min. Proverna centrifugeras vid 2000g i 1 min. Sedan tillsattes Proteinase

K och nya lock sattes på plattorna. Proverna vortexades och inkuberades i värmeblock vid 90 °C i 10 min. Proverna centrifugerades sedan vid 2000g i 1 min (Vidilab AB 2024).

Med hjälp av labbrobot TANbread 4800 extraherades DNA från proverna (Vidilab AB 2024). 300 µl av proverna överfördes till extraktionsplattor och spetsar applicerades i roboten. Plattorna sattes in i roboten varefter programmet kördes (Vidilab AB 2024).

En mastermix gjordes genom att tillsätta PerFeCta ThoughMix med MQ type 1 vatten och primer-probemix (Vidilab AB 2024). Röret vortexades väl. 22 µl mastermix tillsattes till brunnarna på en PCR platta. Sedan överfördes 3 µl DNA-prov till varje brunn på PCR-plattan. Positiv DNA-kontroll tillsattes som positiv kontroll och vatten tillsattes som negativ kontroll. Plattan förseglades sedan med en plastfilm och placerades i qPCR-instrument (Vidilab AB 2024). Proverna bedömdes som positiva eller negativa baserat på kurvorna från qPCR-instrument (se figur 6). Extraktion av DNA och PCR-analys för med plats för 48 prover tog ca 5-6 timmar.



Figur 6. qPCR-instrument under pågående analys.

Foto: Matilda Felländer

3.6 Statistisk analys

Alla provsvar och svar från den utskickade enkäten sammanställdes i Microsoft Excel. Överensstämmelsen mellan de olika diagnostiska testerna beräknades med hjälp av Cohens kappa och formeln $\kappa = \frac{p_o - p_e}{1 - p_e}$. I formeln står p_o för ”observed” och är andelen provsvar som observerats stämma överens mellan två tester, medan p_e står för ”expected” och är den hypotetiska sannolikheten för en slumpmässig överensstämmelse mellan testerna (DATAtab 2024).

4. Resultat

4.1 Sedimentation

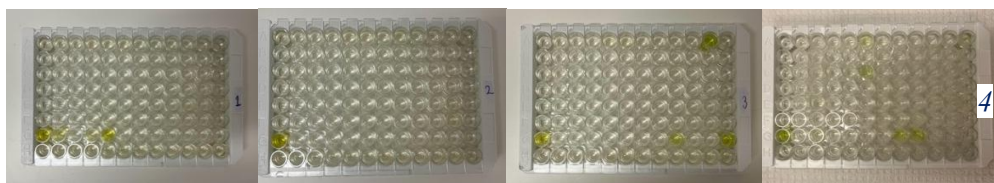
Totalt analyserades 105 samlingsprover under vår och höst med sedimentationsmetoden. Varje samlingsprov innehöll träck från tre individer och proverna var samlade från 65 olika besättningar. I de undersökta proverna påvisades ägg från *F. hepatica* i tolv prover från elva besättningar (se bilaga 2). Samtliga av dessa prover bedömdes som positiva (se tabell 1).

4.2 Koproantigen enzyme-linked immunosorbent assay

Proverna som analyserades med cELISA bedömdes på två olika tröskelvärden, 2 % respektive 8 %. Alla prover som analyserades med sedimentationsmetoden analyserades även med cELISA. Vid bedömning på 8 % var 8 prover positiva. Vid bedömning på 2 % var 24 prover positiva (se tabell 1). Färgomslaget på mikropatlarna kan ses i figur 7.

28 av de 58 samlingsproverna som analyserades på hösten kördes även som 83 individuella träckprover i cELISA. På 8 % bedömdes fyra som positiva, varav två ingick i positiva samlingsprov. De andra två proverna som var positiva vid individuell analys ingick i negativa samlingsprov. Vid bedömning av de individuella träckproverna på 2 % var 26 positiva, varav alla utom tre även ingick i positiva samlingsprov (se bilaga 2).

På en av mikropatlarna (mikroplatta 3) var OD-värdet för den positiva kontrollen 0,708, vilket anses vara för lågt enligt tillverkaren som menar att det bör vara över 0,800 för att klara kvalitetskontrollen. Därmed uppstod en risk att ett fåtal prover felaktigt kan ha bedömts som positiva och resultatet från mikroplatan bör därför tolkas med viss försiktighet (se bilaga 3).



Figur 7. Bilderna visar de cELISA mikropatlarna som användes till alla testade prover. Brunn G1 är positiv kontroll. För OD-värden i individuella brunnar se bilaga 3 Foto: Matilda Felländer

4.3 Polymerase chain reaction

Totalt analyserades 78 samlingsprover med PCR under vår och höst. Av dessa var nio prover positiva där DNA från *F. hepatica* kunde identifieras (se tabell 1). På grund av brist på resurser kunde inte alla prover analyseras med PCR, därav begränsades PCR-undersökningen till endast 78 prover jämfört med 105 prover för sedimentation och cELISA.

Tabell 1. Visar antalet positiva och negativa samlingsprover under vår, höst och totalt för sedimentation, cELISA med tröskelvärde på 2 % respektive 8 % samt PCR.

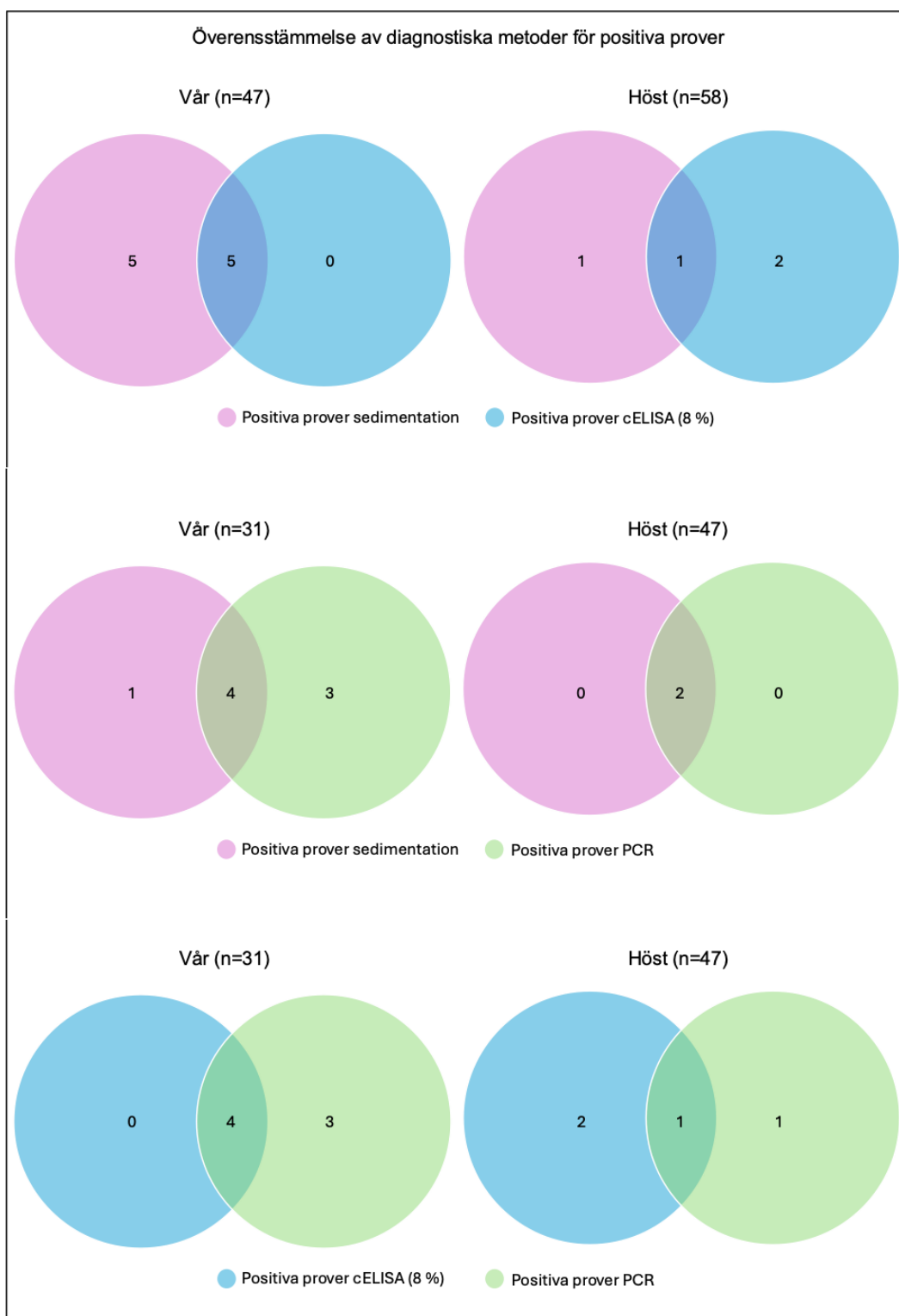
	Vår		Höst		Totalt	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
Sedimentation	10	37	2	56	12	93
cELISA (8 %)	5	42	3	55	8	97
cELISA (2 %)	9	38	15	43	24	81
PCR	7	24	2	45	9	69

4.4 Jämförelse av diagnostiska metoder

Vid jämförelse för överensstämmelse av provresultatet för de olika metoderna användes Cohens kappa. För sedimentation och cELISA med tröskelvärde på 8 % var $\kappa = 0,56$, vilket bedöms som en måttlig överensstämmelse. Vid jämförelse av sedimentation och cELISA med tröskelvärde på 2 % var $\kappa = -0,02$, vilket betyder att överensstämmelsen är obefintlig. När PCR jämfördes med cELISA på 8 % var $\kappa = 0,61$ och det indikerar en stark överensstämmelse. Vid PCR jämfört med cELISA på 2 % var i stället $\kappa = 0,34$ och indikerar en svag överensstämmelse. Starkast överensstämmelse sågs mellan PCR och sedimentation där $\kappa = 0,72$ (se tabell 2). Antalet positiva prover som identifierades av respektive metod samt hur provsvaren stämde överens med varandra presenteras i figur 8.

Tabell 2. Visar κ -värdet beräknat med Cohens kappa vid jämförelse av överensstämmelsen mellan de olika diagnostiska metoderna samt bedömningen av detta värde.

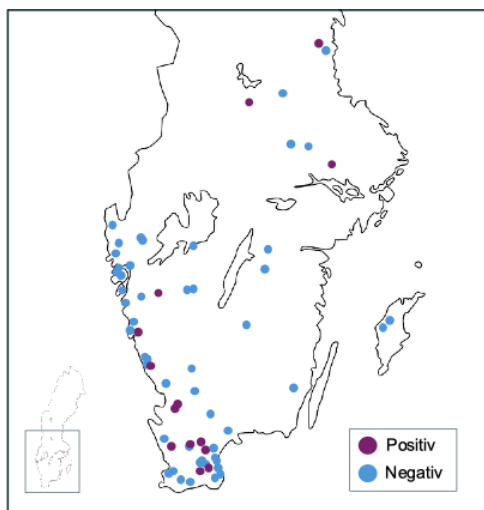
	κ -värde	Överensstämmelse
Sedimentation jfr. cELISA (8 %)	0,56	Måttlig
Sedimentation jfr. cELISA (2 %)	-0,02	Ingen
cELISA (8 %) jfr. PCR	0,61	Stark
cELISA (2 %) jfr. PCR	0,34	Svag
Sedimentation jfr. PCR	0,72	Stark



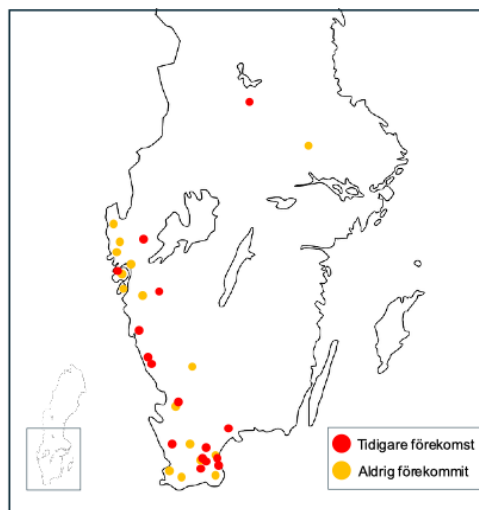
Figur 8. Venndiagrammen visar överensstämmelsen mellan de olika diagnostiska metoderna under våren och hösten 2024. Siffrorna i cirkelarna anger antalet positiva prover med den specifika diagnostiska metoden. Siffran där cirkelarna överlappar anger antalet positiva prover som identifierades av båda metoderna. Det totala antalet prover som testats med båda metoderna anges som n.

4.5 Geografisk spridning

De besättningar som testade positivt för *F. hepatica* befann sig framför allt i Skåne, Halland och Västra Götaland samt ett enstaka i mellersta Sverige (se figur 9). En liknande geografisk spridning kunde ses för de besättningar som angett i enkätstudien att de någon gång tidigare fått diagnosen *F. hepatica* i besättningen (se figur 10).



Figur 9. Kartan visar den geografiska spridningen för positiva och negativa besättningar utifrån resultatet för sedimentation, PCR och cELISA med tröskelvärde på 8 %.

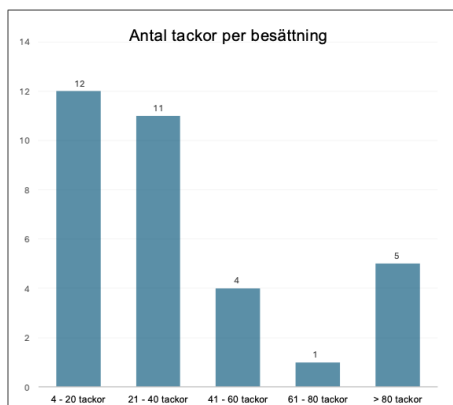


Figur 10. Kartan visar den geografiska spridningen för besättningar som angett respektive ej angett att de haft tidigare förekomst av *F. hepatica* i besättningen i enkätstudien.

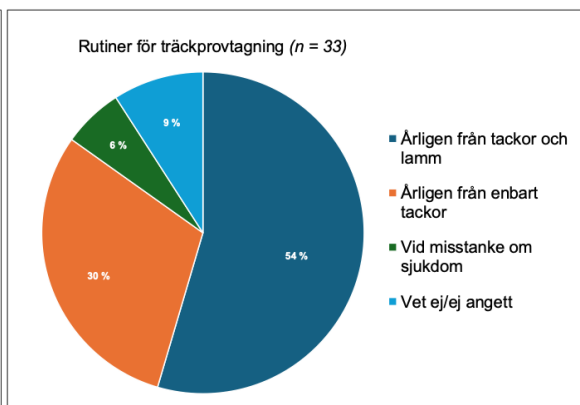
4.6 Enkätstudie

Totalt svarade 33 av 42 lantbrukare med fårbesättningar på enkäten, vilket gav en svarsfrekvens på 79 %. Besättningarna var av olika storlekar från fyra till 500 tackor, i genomsnitt var det 57 tackor per besättning. Det var vanligare med mindre besättningar på <40 tackor (se figur 11).

Sammanlagt 85 % av besättningarna angav att de rutinmässigt tog träckprov för grundanalys (ej *F. hepatica*) från fåren. 54 % angav att de årligen tog träckprov från både tackor och lamm medan 30 % angav att de endast tog träckprover årligen från tackorna. 6 % tog träckprover oregelbundet, vid misstanke om sjukdom (se figur 12).



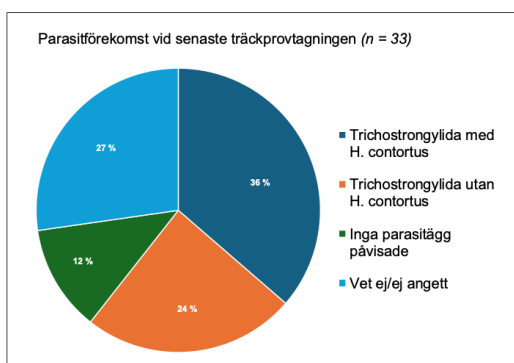
Figur 11. Diagrammet visar antalet tackor i de besättningar som deltog i enkätstudien.



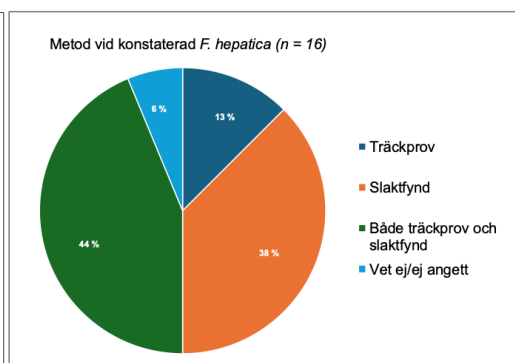
Figur 12. Diagrammet visar vilka rutiner för träckprovtagning de olika fårbesättningarna som deltog i studien tillämpar.

Lantbrukarna fick även svara på vad som hittades vid senaste träckprovtagningen i besättningen. 36 % angav att fåren haft trichostrongylida ägg med förekomst av *Haemonchus contortus*, 24 % trichostrongylida ägg utan förekomst av *H. contortus* samt 12 % svarade att inga parasitägg kunnat påvisas i träckprovet (se figur 13).

Av de som deltog i enkätstudien angav 16 besättningar att de haft tidigare förekomst av *F. hepatica* vid minst ett tillfälle. Den geografiska spridningen för dessa besättningar kan ses i figur 10. Av dessa angav 38 % att diagnosen *F. hepatica* ställts enbart vid slakt, 13 % hade fått diagnosen ställd genom enbart träckprovtagning och 44 % hade fått diagnos ställd med både träckprovtagning och slaktfynd (se figur 14).



Figur 13. Diagrammet visar vilka parasiter som förekommit i de olika besättningarna vid den senaste träckprovtagningen.

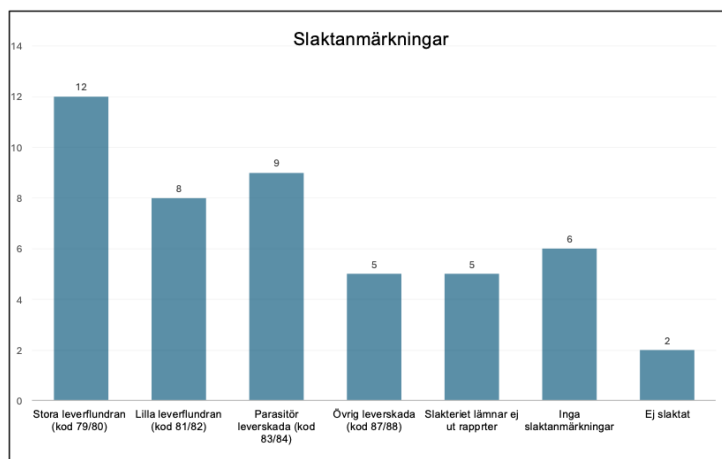


Figur 14. Diagrammet visar vilken metod som använts vid konstaterande av *F. hepatica* i de besättningar där parasiten förekommit tidigare.

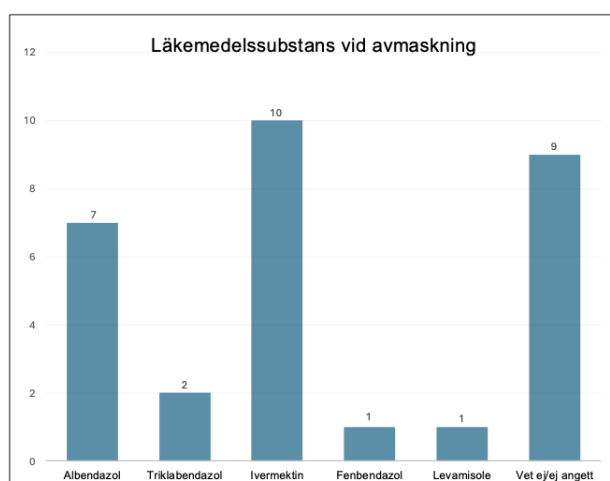
Flera besättningar angav att de tidigare fått slaktanmärkningar med olika koder som kan kopplas till parasiter i mag-tarmkanalen. Stora leverflundran (kod 79/80), lilla leverflundran (kod 81/82), parasitär leverskada (kod 83/84) och övrig lever-

skada (kod 87/88) förekom i olika grad. Fem besättningar svarade att det nuvarande slakteriet inte lämnar ut några rapporter om slaktfynd till lantbrukaren (se figur 15).

Totalt 82 % av besättningarna angav att de avmaskat sina djur mot någon form av parasiter under år 2024. Majoriteten hade enbart avmaskat mot trichostrongylida maskar. Det var fem besättningar som hade avmaskat djuren mot *F. hepatica*, varav 1 besättning fortfarande testade positivt för *F. hepatica* under hösten. Lantbrukarna fick även ange vilken läkemedelssubstans som de använt vid avmaskning. Det vanligaste läkemedlet var ivermektin som hade använts i tio besättningar. Sju besättningar hade använt albendazol, två hade avmaskat med triklabendazol, en med fenbendazol och en med levamisole (se figur 16). 21 % av de undersökta besättningarna angav att de tog uppföljande träckprover efter behandling för att kontrollera behandlingsresultatet.



Figur 15. Diagrammet visar olika slaktanmärkningar som förekommit i de olika besättningarna.



Figur 16. Diagrammet visar användningen av olika läkemedelssubstanser vid avmaskning hos de besättningar som deltog i enkätstudien.

5. Diskussion

Det huvudsakliga målet med undersökningen var att jämföra överensstämmelsen mellan cELISA, sedimentation och PCR vid diagnostik av *F. hepatica*. Vid jämförelse av sedimentation och cELISA med tröskelvärde på 8 % visar resultatet en måttlig överensstämmelse ($\kappa = 0,56$). Totalt sex prover som testade positivt vid sedimentation var negativa med cELISA (8 %), medan två prover som var positiva med cELISA (8 %) var negativa efter sedimentation (se figur 8 och bilaga 2). Arifin *et al.* (2016) gjorde en liknande studie för att jämföra bland annat FEC med cELISA och såg, liksom i den här studien, en positiv korrelation mellan de båda undersökningsmetoderna. Det råder ingen tvekan om att sedimentation och cELISA stämmer överens till viss del, men det finns också egenskaper hos de olika diagnostiska metoderna som kan skilja resultaten åt.

En orsak till att cELISA var positiv medan sedimentation var negativ på vissa prover skulle kunna vara tidpunkten för provtagning. Ägg från *F. hepatica* utsöndras tidigast 10–12 veckor efter infektionstillfället (Mezo *et al.* 2004 se Zimmerman *et al.* 1982; Munita *et al.* 2019). Då djuren i första hand exponeras under sensommaren (Höglund *et al.* 2014), är det mindre troligt att flundrorna hunnit para sig och börjat utsöndra ägg i de djur som testas under hösten. Just det här mönstret identifierades även i denna studie då de träckprover som var positiva med cELISA (8 %) och negativa med sedimentation hittades under hösten. Gordon *et al.* (2012) visar, i kontrast, att cELISA och FEC blev positiva vid samma tidpunkt i en studie gjord på får i Skottland. Författarna förklarar resultatet med att låggradiga infektioner (<5 flundror) kan ge ett försenat positivt provsvar med cELISA men medger samtidigt att upprepade provtagningar under en kortare period skulle krävas för säkrare resultat (Gordon *et al.* 2012). En ytterligare förklaring till ett negativt resultat med sedimentation skulle kunna vara att *F. hepatica* utsöndrar ägg intermittent, vilket i sin tur leder till en risk att missa ägg med sedimentation om djuren provtas vid ett enstaka tillfälle (Fairweather 2011; Gordon *et al.* 2012; Alvarez *et al.* 2014; Kahl *et al.* 2023).

I Gård & Djurhälsans FarmStat-rapport från 2021 beskrivs även förekomsten av *F. hepatica* i träckprover per kvartal hos svenska fårbesättningar. Under det tredje kvartalet registrerades 0 % förekomst av positiva besättningar, vilket kan förklaras med *F. hepaticas* typiska livscykel. Högst förekomst av positiva besättningar var i kvartal 2 på 11 % (Gård & Djurhälsan 2021). Liknande resultat sågs även i den här studien, då de flesta positiva besättningarna hittades under våren medan få besättningar var positiva under hösten.

En annan aspekt är att flera prover var positiva vid sedimentation men negativa på cELISA (8 %). Detta finns inte beskrivet i litteraturen då cELISA generellt anses känsligare än sedimentation och kan detektera låga nivåer antigen i träcken

(Mezo et al. 2004). En möjlig förklaring till detta är att cELISAn i den här studien analyserades som samlingsprov för att på ett så korrekt sätt som möjligt kunna spegla hur träckprover rutinmässigt analyseras på labb och jämföras med sedimentationen. Enligt metodbeskrivningen för Bio-X Diagnostics ELISA-kit bör träcken testas individuellt (Bio-X Diagnostics 2017), vilket frångicks i den här studien och sannolikt ökade risken för falskt negativa provsvar. Enligt den egna studien där några prover analyserades individuellt i kombination med att de även analyseras som samlingsprov sågs ett tydligt samband där individuella prover som var svagt positiva blev negativa i samlingsprovet (se bilaga 2). Detta samband är en möjlig förklaring till den sämre överensstämmelsen mellan sedimentation och cELISA som observerades.

Något som stack ut från resultatet var att de prover som bedömts som positiva genom cELISA med tröskelvärde på 2 % gav fler positiva svar på hösten än på våren. Överensstämmelsen mellan cELISA (2 %) och sedimentationen var obefintlig och överensstämmelsen mellan cELISA (2 %) och PCR var svag. Resultatet pekar på att ett tröskelvärde på 2 % troligen är olämpligt och risken för falskt positiva svar framstår som hög. I motsats till detta beskriver Palmer *et al.* (2014) användandet av ett specifikt anpassat OD-tröskelvärde till får där de bedömt prover som positiva vid 23 % av kittets rekommenderade tröskelvärde och med detta uppnått 100 och 99 % sensitivitet respektive specificitet. I många tidigare studier finns en bristande konsekvens i användandet av olika tröskelvärden, därmed är det svårt att jämföra resultatet (Kelley *et al.* 2021).

Vid PCR undersökning var det några fler prover som var positiva för *F. hepatica* jämfört med vid sedimentation (se figur 8 och bilaga 2). När Arifin *et al.* (2016) genomförde en liknande studie konstaterades FEC med sedimentation ha högre sensitivitet än PCR. Författarna menar att resultatet kan bero på proceduren som användes för extraktion av DNA av träckproverna innan analys. Tidigare studier har visat på en god sensitivitet för PCR (Robles-Pérez *et al.* 2013). I den här studien var överensstämmelsen bättre ($\kappa = 0,72$) mellan de två metoderna. Liknande resultat kunde ses av Waseem *et al.* (2012) som jämförde PCR och FEC på träck från får och getter. Där var 4,5 % av prover från får positiva med PCR medan FEC var positivt i 3,5 % av samma prover. Motsvarande siffror för get var 3,5 % respektive 2 % (Waseem *et al.* 2012).

Överensstämmelsen mellan PCR och cELISA med tröskelvärde på 8 % bedömdes också som stark ($\kappa = 0,61$). Totalt fyra prover var positiva med PCR men negativa med cELISA (8 %), medan två prover som var positiva med cELISA (8 %) men negativa med PCR (se figur 8 och bilaga 2). Även här är en möjlig förklaring till de negativa PCR-resultaten att cELISA även fångar upp infekterade djur innan infektionen är patent (Kozak *et al.* 2008). Båda proverna som var positiva med cELISA (8 %) men negativa på PCR sågs under hösten, vilket stärker denna förklaring med tanke på att *F. hepatica* företrädesvis inflektar djuren under sen-sommaren (Höglund *et al.* 2014).

Arifin *et al.* (2016) tog upp en intressant teori om att *F. hepaticas* DNA möjligtvis distribueras bättre i träck från nötkreatur än i träck från får på grund av olika konsistens hos de olika djurslagen. I studien testade man träck från båda djurslagen och kom fram till att PCR och LAMP bara blev positiva i prover från nötkreatur (Arifin *et al.* 2016). Problemet med distribution äggen och de antigen som finns i träck från får skulle eventuellt även kunna vara applicerbart som felkälla i den här studien, vilket i så fall kan vara en förklaring till varför de olika diagnostiska metoderna gav olika resultat då material till de olika analyserna togs från olika delar av samma träckprov.

En ytterligare anledning till att prover var positiva vid sedimentation men sedan negativa vid både cELISA och PCR skulle kunna vara förväxling med ägg från *Caliphoron/Paramphistomum* som har en liknande morfologi på äggen som *F. hepatica* (Wenzel *et al.* 2019). Våmflundror förekommer hos idisslare i Storbritannien och västra Europa (Huson *et al.* 2017), men förekomsten i Sverige sannolikt aldrig undersökt och därmed fortfarande oklar.

Under utförandet av denna studie konstaterades det även att de olika diagnostiska metoderna var olika tidskrävande. Sedimentation tog längst tid per analyserat prov. PCR och cELISA var ungefär lika tidskrävande och fördelen med dessa metoder var att en större mängd prover kunde analyseras samtidigt. Sedimentation var däremot den billigaste metoden då den inte kräver några speciella instrument förutom mikroskop. PCR är sannolikt den dyraste metoden då det krävs flera avancerade instrument både för DNA-extraktion och själva PCR-analysen.

Den geografiska utbredningen för de besättningar som testades positivt samt de som angett att de haft tidigare förekomst av *F. hepatica* stämmer bra överens med vad litteraturen säger. Man vet sedan tidigare att *F. hepatica* är överrepresenterad i sydvästra Sverige och Västra Götaland (Reneby & Jonasson 2024). En ökad förekomst i mellersta Sverige i närtid finns dokumenterad (Reneby & Jonasson 2024) och bekräftas av den här studien. Med tanke på *F. hepaticas* förmåga att anpassa sig i miljön och i kombination med klimatförändringarna är det möjligt att man kan förvänta sig ytterligare spridning av parasiten inom de närmsta åren (Fairweather 2011; Fox *et al.* 2011).

Av de besättningar som deltog i enkätstudien hade den genomsnittliga besättningen 57 tackor. Enligt Jordbruksverket låg snittet i Sverige på 31,7 tackor och baggar per besättning år 2023 (Jordbruksverket 2023). Svenska fårbesättningar är generellt fortfarande relativt små. Detta är positivt ur perspektivet att det blir mer kontakt mellan människa och det individuella djuret samt tid för att observera djuret (Stafford & Gregory 2008), vilket ger större chans att upptäcka sjukdom och behandla i tid.

Enligt Gård & Djurhälsan är rekommendationen att provta tackor innan betessläpp och att sedan följa lammen med flera träckprover under betesperioden (König 2024). Majoriteten av lantbrukarna som deltog i enkätstudien hade goda rutiner för träckprovtagning. De flesta tog prover från både tackor och lamm eller

bara tackor årligen. Beskrivna rekommendationer gäller framför allt för provtagning för rundmaskar, nematoder. Provtagning för *F. hepatica* görs vanligtvis inte rutinmässigt utan rekommenderas i samband med att besättningen fått slaktanmärkningar eller att man misstänker att djuren har drabbats (Lindqvist 2019). Det kan även vara en trolig anledning till att diagnosen *F. hepatica* oftare ställs genom slaktfynd och att det var mindre vanligt att få diagnosen från träckprovtagning i de besättningar som tidigare haft förekomst av *F. hepatica*. Träckprovtagning för *F. hepatica* är en enkel metod för att påvisa parasiten i ett tidigt skede och kan bidra till att bromsa smittspridning om djuren avmaskas. Detta skulle i högre grad än vad som sker idag kunna implementeras som rutin i riskområden.

Enligt FarmStat-rapporten 2023 hade 89 % av fårbesättningarna förekomst av trichostrongylida maskägg, varav 50 % även hade förekomst av *H. contortus* någon gång under 2023 (Reneby & Jonasson 2024). Bortsett från de besättningar som ej angett provsvaret från sina senaste träckprover i enkätstudien, stämmer resultatet väldigt väl överens med statistiken som presenterades i FarmStat-rapporten 2023. En intressant iakttagelse är även att cirka $\frac{1}{4}$ av lantbrukarna verkade ha dålig koll på vilka parasiter som förekom i besättningen samt att cirka $\frac{1}{3}$ inte visste vilket läkemedel de avmaskat sina djur med.

Resultatet för de slaktanmärkningar som förekommit i de besättningar som deltog i enkätstudien skiljer sig kraftigt mot vad som anses vara genomsnittet i Sverige. I FarmStat-rapporten 2023 presenteras lilla leverflundran (kod 81/82) som den vanligaste slaktanmärkningen hos får och förekom hos hela 28 % av slaktade får under 2023 (Reneby & Jonasson 2024). Rapporter om lilla leverflundran var drygt sju gånger vanligare än rapporter om parasitär leverskada (kod 83/84). Förekomsten av stora leverflundran (kod 78/80) samt övrig leverskada (kod 87/88) var så pass låg att den inte presenterades bland de vanligaste slaktanmärkningarna (Reneby & Jonasson 2024). I kontrast, angav flertalet av de lantbrukare som deltog i enkätstudien att de haft slaktanmärkningar för stora leverflundran (kod 79/80). En eventuell förklaring till detta skulle kunna vara att de som svarat på enkäten i själva verket angav om de någonsin tidigare haft slaktanmärkningar för stora leverflundran. Detta jämfört med Farmstat-rapporten som var en sammanställning av data endast från 2023. En ytterligare orsak kan vara att de lantbrukare som någon gång har fått anmärkningen stora leverflundran troligtvis kommer komma ihåg det eftersom det är en viktig orsak till ohälsa i fårbesättningen, medan andra slaktanmärkningar, av mindre patogen betydelse, lätt glöms bort. Ett skevt urval för denna typ av undersökning kan troligtvis också ligga till grund för resultatet, eftersom inbjudan till att vara med i undersökningen endast skickats ut till besättningar som låg i riskområde för *F. hepatica*.

I enkäten identifierades även problemet med att vissa slakterier inte lämnar ut rapporter om besiktningsfynd, något som Novobilský *et al.* (2012a) tidigare poängterat. Detta leder till problem i övervakningen av sjukdomen men också

problem för de enskilda lantbrukarna vars djur får vänta längre på behandling innan problemet upptäcks.

En majoritet av de som deltog i enkätstudien hade avmaskat sina djur mot trichostrongylida maskar. Den vanligaste läkemedelssubstansen som användes var ivermektin. Liknande data har även konstaterats i andra studier, i en svensk enkätstudie gjord av Halvarsson *et al.* (2022) avmaskade 59 % av fårbesättningar med ivermektin. Ivermektin har god effekt vid avmaskning av trichostrongylida inklusive *H. contortus* (González *et al.* 2009), det anses därmed rimligt att denna är utbredd använd bland fårbesättningar. Även albendazol var populärt som avmaskningsmedel bland besättningarna och användes även av flera besättningar som inte hade förekomst av *F. hepatica*. Albendazol är verksamt mot ett brett spektrum av parasiter men är också ett av få läkemedel som vid förhöjd dos även är verksamt mot *F. hepatica* (Fass Djurläkemedel 2024b). Med tanke på att man börjat se tecken på resistensutveckling hos *F. hepatica* mot albendazol (Novobilský *et al.* 2012b) skulle dess effekt kunna bevaras bättre genom en mer sparsam användning och korrekt dosering.

Av de som deltog i enkätstudien och avmaskat djuren mot *F. hepatica* var det endast en besättning som fortfarande var positiv under hösten när uppföljande träckprover analyserades. Av intresse är att denna besättning hade avmaskat djuren med triklabendazol. Resistensutvecklingen för triklabendazol har den senaste tiden blivit mer utbredd i Europa (Howell & Williams 2020). Därmed kan man spekulera i att detta skulle kunna vara en orsak till den misslyckade behandlingen. Effekten av triklabendazol har dock aldrig blivit undersökt på ett systematiskt vis i Sverige.

Klosantel är enligt litteraturen ett bra alternativt läkemedel för behandling av *F. hepatica* med effekt mot både vuxna flundror och vissa larvstadier (Howell & Williams 2020). Trots det visar enkätsvaren att ingen besättning använt sig av läkemedlet vid behandling av *F. hepatica*. På den svenska marknaden finns läkemedlet i form av ett kombinationspreparat som även innehåller ivermektin (Fass Djurläkemedel 2024c). Dock finns det bara registrerat för nötkreatur, vilket förklarar varför det inte har använts i fårbesättningarna.

Resultatet från enkätstudien visade även att endast ett fåtal besättningar (21 %) hade tagit uppföljande träckprover efter avmaskning i år för att kontrollera behandlingsresultatet. Det är allmänt rekommenderat utföra denna typ av behandlingskontroll cirka vart annat år, särskilt om besättningen har återkommande högt EPG och förekomst av *H. contortus* (Gustafsson & Höglund 2019). Uppföljande träckprover är ett första steg till att kunna fånga upp eventuella resistensproblem i besättningen och då även kunna genomföra en mer utförlig resistensunderökning samt vidta åtgärder (Gustafsson & Höglund 2019).

6. Slutsats

Sammanfattningsvis, de tre diagnostiska metoderna som undersökts för diagnos av *F. hepatica* i denna studie har en överensstämmelse, men denna begränsas av att testerna har olika förmåga att detektera parasiten i olika situationer. Både litteraturen och den utförda undersökningen pekar på att det finns en potential för användning av cELISA för kommersiell diagnostik, särskilt vid detektion av tidiga infektioner. Då fler prover testat positivt med sedimentation än med cELISA (8 %) finns en risk för falskt negativa provsvar vid enbart användning av cELISA vid analys av samlingsprover, vilket tyder på att det sannolikt inte är aktuellt att ersätta sedimentation och PCR med cELISA. cELISA skulle snarare kunna användas som ett komplement i diagnostiken. För ökad sensitivitet och specificitet med cELISA skulle ytterligare undersökningar kring OD-tröskelvärden för bedömning av prover behövas.

Vidare kunde studien även konstatera att lantbrukares rutiner kring träckprovtagning och avmaskning varierar beroende på besättningen men hos en majoritet av de som medverkat är rutinerna i enlighet med de rekommendationer som finns. Då provtagning för *F. hepatica* vanligtvis inte görs rutinmässigt är det något som, i högre grad än vad som sker idag, skulle kunna implementeras som rutin i riskområden.

Referenser

- Alvarez, R.C.A., Jex, A.R., Gasser, R.B. & Scheerlinck, J.Y. (2014). Techniques for the diagnosis of *Fasciola* infections in animals: room for improvement. *Advances in Parasitology*, 85, 65–107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800182-0.00002-7>
- Arifin, M.I., Höglund, J. & Novobilský, A. (2016). Comparison of molecular and conventional methods for the diagnosis of *Fasciola hepatica* infection in the field. *Veterinary Parasitology*, 232, 8–11. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.11.003>
- Beesley, N.J., Caminade, C., Charlier, J., Flynn, R.J., Hodgkinson, J.E., Martinez-Moreno, A., Martinez-Valladares, M., Perez, J., Rinaldi, L. & Williams, D.J.L. (2017). *Fasciola* and fasciolosis in ruminants in Europe: Identifying research needs. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65 (Suppl 1), 199. <https://doi.org/10.1111/tbed.12682>
- Bernhard, M. & Rockström, U. (2024). Tolka din slaktavräkning - Får & Lamm. Gård & Djurhälsan, 12 juni. <https://www.gardochdjurhalsan.se/tolka-din-slaktavrakning-far-lamm/> [2024-10-24]
- Bio-X Diagnostics (2017). ELISA kit for antigenic diagnosis of *Fasciola hepatica*. [Labbinstruktion]. Bio-X Diagnostics. <https://www.biox.com/en/bio-k-201-monoscreen-agelisa-fasciola-hepatica-indirect-sandwich-double-wells-p-257/> [2024-06-24]
- Björk, A.H. & König, U. (2013). *Stora leverflundran hos får*. [Broschyr]. Gård och djurhälsan. https://www.gardochdjurhalsan.se/wp-content/uploads/2019/06/131028_far_leverflundrebroschyr.pdf [2024-06-27]
- Bloemhoff, Y., Forbes, A., Danaher, M., Good, B., Morgan, E., Mulcahy, G., Sekiya, M. & Sayers, R. (2015). Determining the prevalence and seasonality of *Fasciola hepatica* in pasture-based dairy herds in Ireland using a bulk tank milk ELISA. *Irish Veterinary Journal*, 68 (1), 16. <https://doi.org/10.1186/s13620-015-0042-5>
- Boray, J.C. (1969). Experimental fascioliasis in Australia. *Advances in Parasitology*, 7, 95–210. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60435-2](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60435-2)
- Collyer, J. (2024). *Fasciola hepatica*: can the coproantigen ELISA replace the faecal egg sedimentation test? *Veterinary Evidence*, 9 (4). <https://doi.org/10.18849/ve.v9i4.698>
- DATAtab (2024). *Cohen's Kappa*. <https://datatab.net/tutorial/cohens-kappa> [2024-11-21]
- Fairweather, I. (2011). Reducing the future threat from (liver) fluke: realistic prospect or quixotic fantasy? *Veterinary Parasitology*, 180 (1–2), 133–143. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.034>
- Fass djurläkemedel (2024a). *Triclamox*. <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20080709000017> [2024-12-09]

- Fass djurläkemedel (2024b). *Valbazen*.
<https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19851108000014> [2024-12-09]
- Fass djurläkemedel (2024c). *Closamectin*.
<https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=20100302000020> [2024-12-09]
- Fox, N.J., White, P.C.L., McClean, C.J., Marion, G., Evans, A. & Hutchings, M.R. (2011). Predicting impacts of climate change on *Fasciola hepatica* risk. *PLOS ONE*, 6 (1), e16126. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016126>
- Godfrey, T.E. (2009). Chapter 16 - Intraoperative molecular staging using real-time polymerase chain reaction. I: Tubbs, R.R. & Stoler, M.H. (red.) *Cell and Tissue Based Molecular Pathology*. Churchill Livingstone. 153–163.
<https://doi.org/10.1016/B978-044306901-7.50021-3>
- González, C.A., Sahagún Prieto, A.M., José Diez Liébana, M., Martínez, N.F., Vega, M.S. & Vieitez, J.J.G. (2009). The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *The Veterinary Journal*, 179 (1), 25–37.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.011>
- Gordon, D.K., Zadoks, R.N., Stevenson, H., Sargison, N.D. & Skuce, P.J. (2012). On farm evaluation of the coproantigen ELISA and coproantigen reduction test in Scottish sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology*, 187 (3), 436–444. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.02.009>
- Gustafsson, K. & Höglund (2019). *Mer om resistent parasiter*. Gård & Djurhälsan.
<https://www.gardochdjurhalsan.se/nationellt-ansvar/projekt/avslutade-projekt-far/mer-om-resistent-parasiter/> [2024-11-28]
- Gård & Djurhälsan (2021). *FarmStat-rapporten 2021*. Gård & Djurhälsan.
<https://www.gardochdjurhalsan.se/wp-content/uploads/2023/02/9140-farmstat-rapporten-2021-slutlig.pdf> [2024-12-09]
- Halvarsson, P., Gustafsson, K. & Höglund, J. (2022). Farmers' perception on the control of gastrointestinal parasites in organic and conventional sheep production in Sweden. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 30, 100713.
<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100713>
- Howell, A.K. & Williams, D.J.L. (2020). The epidemiology and control of liver flukes in cattle and sheep. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36 (1), 109–123. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.12.002>
- Huson, K.M., Oliver, N.A.M. & Robinson, M.W. (2017). Paramphistomosis of ruminants: An emerging parasitic disease in Europe. *Trends in Parasitology*, 33 (11), 836–844. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.07.002>
- Höglund, J., Dahlström, F., Engström, A., Hessle, A., Jakubek, E.-B., Schnieder, T., Strube, C. & Sollenberg, S. (2010). Antibodies to major pasture borne helminth infections in bulk-tank milk samples from organic and nearby conventional dairy herds in south-central Sweden. *Veterinary Parasitology*, 171 (3), 293–299.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.002>

- Höglund, J. & Johansson, B. (2020). *Betesburna parasiter hos nötkreatur i ekologisk produktion*. [Broschyr]. Jordbruksverket.
<https://www.sva.se/media/5elatrvy/artikel-betesburna-parasiter-hos-n%C3%B6tkreatur-i-ekologisk-produktion.pdf> [2024-06-25]
- Höglund, J., Novobilský, A. & Gustafsson, K. (2014). *Forskning om stora leverflundran hos snäckor, får och nötkreatur*. Gård & Djurhälsan, 1 december.
<https://www.gardochdjurhalsan.se/forskning-om-stora-leverflundran-hos-snackor-far-och-notkreatur/> [2024-06-26]
- Jacobs, D., Fox, M., Gibbons, L. & Hermonsilla, C. (2016). *Principles of Veterinary Parasitology*. Wiley Blackwell.
- Jordbruksverket (2023). *Lantbrukets djur i juni 2023 Slutlig statistik*. [text].
<https://jordbruksverket.se/om-jordbruksverket/jordbruksverkets-officiella-statistik/jordbruksverkets-statistikrapporter/statistik/2024-01-31-lantbrukets-djur-i-juni-2023-slutlig-statistik> [2024-11-27]
- Kahl, A., von Samson-Himmelstjerna, G., Helm, C.S., Hodgkinson, J., Williams, D., Weiher, W., Terhalle, W., Steuber, S. & Krücken, J. (2023). Coproscopical diagnosis of patent *Fasciola hepatica* infections in sheep - A comparison between standard sedimentation, FLUKEFINDER® and a combination of both. *Veterinary Parasitology*, 319, 109956. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.109956>
- Kelley, J.M., Stevenson, M.A., Rathinasamy, V., Rawlin, G., Beddoe, T. & Spithill, T.W. (2021). Analysis of daily variation in the release of faecal eggs and coproantigen of *Fasciola hepatica* in naturally infected dairy cattle and the impact on diagnostic test sensitivity. *Veterinary Parasitology*, 298, 109504.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109504>
- Khehra, N., Padda, I.S. & Swift, C.J. (2024). Polymerase Chain Reaction (PCR). I: *StatPearls*. StatPearls Publishing.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663/> [2024-10-23]
- Kozak, M., Garbacewicz, A. & Wedrychowicz, H. (2008). The performance of a PCR assay for the detection of *Fasciola hepatica* DNA in fecal samples. *Wiadomości Parazytologiczne*. Supplement, 54.
<http://agro.icm.edu.pl/agro/element/bwmeta1.element.agro-fcd19cf3-267f-497e-a430-7d405bd72c0e> [2024-10-23]
- König, N.A. (2024). *Våra bästa betestips*. Gård & Djurhälsan.
<https://www.gardochdjurhalsan.se/vara-basta-betestips/> [2024-11-27]
- Le, T.H., Nguyen, K.T., Nguyen, N.T.B., Doan, H.T.T., Le, X.T.K., Hoang, C.T.M. & De, N.V. (2012). Development and evaluation of a single-step duplex PCR for simultaneous detection of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* (Family Fasciolidae, Class Trematoda, Phylum Platyhelminthes). *Journal of Clinical Microbiology*, 50 (8), 2720. <https://doi.org/10.1128/JCM.00662-12>
- Lindqvist, L.K. (2019). *Har dina djur stora leverflundror?* Gård & Djurhälsan. 28 oktober. <https://www.gardochdjurhalsan.se/har-dina-djur-stora-leverflundror/> [2024-11-28]
- Mezo, M., González-Warleta, M., Carro, C. & Ubeira, F.M. (2004). An ultrasensitive capture ELISA for detection of *fasciola hepatica* coproantigens in sheep and cattle

- using a new monoclonal antibody (MM3). *Journal of Parasitology*, 90 (4), 845–852. <https://doi.org/10.1645/GE-192R>
- Munita, M.P., Rea, R., Martinez-Ibeas, A.M., Byrne, N., Kennedy, A., Sekiya, M., Mulcahy, G. & Sayers, R. (2019). Comparison of four commercially available ELISA kits for diagnosis of *Fasciola hepatica* in Irish cattle. *BMC Veterinary Research*, 15 (1), 414. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2160-x>
- Novobilský, A., Averpil, H.B. & Höglund, J. (2012b). The field evaluation of albendazole and triclabendazole efficacy against *Fasciola hepatica* by coproantigen ELISA in naturally infected sheep. *Veterinary Parasitology*, 190 (1–2), 272–276. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.06.022>
- Novobilský, A., Christensson, D. & König, U. (2012a). Stora leverflundran i fokus runt mötesbordet. *Svensk veterinärtidning*. (14), 26–30. <https://www.sva.se/media/z03a0b3v/stora-leverflundran-svt14-2012.pdf> [2024-06-26]
- Novobilský, A. & Höglund, J. (2015). First report of closantel treatment failure against *Fasciola hepatica* in cattle. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 5 (3), 172. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2015.07.003>
- Palmer, D., Lyon, J., Palmer, M. & Forshaw, D. (2014). Evaluation of a copro-antigen ELISA to detect *asciola hepatica* infection in sheep, cattle and horses. *Australian Veterinary Journal*, 92 (9), 357–361. <https://doi.org/10.1111/avj.12224>
- Relf, V., Good, B., Hanrahan, J.P., McCarthy, E., Forbes, A.B. & deWaal, T. (2011). Temporal studies on *Fasciola hepatica* in *Galba truncatula* in the west of Ireland. *Veterinary Parasitology*, 175 (3), 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.010>
- Reneby, A. (2022). *FarmStat-rapporten 2022*. Gård & Djurhälsan. <https://www.gardochdjurhalsan.se/wp-content/uploads/2022/06/9140-FarmStat-rapporten-2022-JUNI-SLUTLIG.pdf> [2024-12-09]
- Reneby, A. & Jonasson, A. (2024). *FarmStat-rapporten 2023*. Gård & Djurhälsan. https://www.gardochdjurhalsan.se/wp-content/uploads/2024/01/9140-FarmStat-rapporten-2023_SLUTVERSION_v3.pdf [2024-06-27]
- Robles-Pérez, D., Martínez-Pérez, J.M., Rojo-Vázquez, F.A. & Martínez-Valladares, M. (2013). The diagnosis of fasciolosis in feces of sheep by means of a PCR and its application in the detection of anthelmintic resistance in sheep flocks naturally infected. *Veterinary Parasitology*, 197 (1–2), 277–282. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.05.006>
- Stafford, K. & Gregory, N. (2008). Implications of intensification of pastoral animal production on animal welfare. *New Zealand Veterinary Journal*, 56 (6), 274–280. <https://doi.org/10.1080/00480169.2008.36847>
- SVA (2024). *Stora leverflundran hos får*. Statens veterinärmedicinska anstalt. <https://www.sva.se/amnesomraden/djursjukdomar-a-o/stora-leverflundran-hos-far/> [2024-06-25]
- Thienpont, D., Rochette, F. & Vanparijs, O.F.J. (2003). *Diagnosing Helminthiasis by Coprological Examination*. 3rd edition. Janssen Animal Health.

- Vidilab AB (2021). *Sedimentation av stora trematodägg*. [Metodbeskrivning]. Vidilab AB.
- Vidilab AB (2024). *PCR för påvisande av DNA från Strongylus vulgaris*. [Metodbeskrivning]. Vidilab AB.
- Waseem, S., Khalid, M., Rashid, M., Waqar, A., Ijaz, M., Ahmad, R., Khan, M. & Sabir, A. (2012). Prevalence and molecular diagnosis of Fasciola hepatica in sheep and goats in different districts of Punjab, Pakistan. *Pakistan Veterinary Journal*, 32, 535–538. https://www.researchgate.net/profile/Waseem-Shahzad/publication/287534992_Prevalence_and_Molecular_Diagnosis_of_Fasciola_hepatica_in_Sheep_and_Goats_in_Different_Districts_of_Punjab_Pakistan/links/56f11a6a08aea9fd53a87dd8/Prevalence-and-Molecular-Diagnosis-of-Fasciola-hepatica-in-Sheep-and-Goats-in-Different-Districts-of-Punjab-Pakistan.pdf
- Wenzel, C., Küchler, A., Strube, C. & Knubben-Schweizer, G. (2019). Paramphistomidosis - an overview on epidemiology and clinical signs. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, 47 (3), 184–191. <https://doi.org/10.1055/a-0880-6381>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Stora leverflundran är en parasit som lever i gallgångarna i levern och har förmågan att infektera en rad däggdjur. Parasitens livscykel sker genom att ägg kommer ut med träck från djuren på betet. Där kläcks äggen till larver som sedan infekterar sötvattenslevande snäckor som agerar som mellanvärd. Parasitens huvudvärd är ofta idisslare som får i sig infektionsdugliga larver på betet. Stora leverflundran gynnas av ett milt och fuktigt klimat och den förekommer framför allt i Sveriges södra delar. En ökad spridning av parasiten kan förväntas till följd av klimatförändringar som orsakar varmare temperaturer och mildare vintrar. Får är extra känsliga för infektion och besättningar där parasiten förekommer kan drabbas av akut sjuka djur, nedsatt produktion och ekonomiska förluster.

Idag ställs diagnos oftast genom att parasiten påvisas hos djuren vid slakt eller genom träckprovtagning där parasitägg påvisas genom en metod som kallas sedimentation. En annan metod som brukar användas kallas PCR och bygger på identifiering av parasitens DNA i träcken. En tredje metod som finns är koproantigen-ELISA, vilken baseras på identifiering av specifika proteiner som utsöndras från parasiten i träcken. Koproantigen-ELISA brukar mest användas inom forskning, men har enligt litteraturen hög potential för ytterligare användning inom området. Syftet med denna studie är att jämföra sedimentation, PCR och cELISA som metoder för att ställa diagnosen stora leverflundran hos får. Ett ytterligare syfte är att med hjälp av en enkätstudie undersöka lantbrukares rutiner kring träckprovtagning och avmaskning samt undersöka tidigare historik av stora leverflundran i deras besättningar.

För utförande av undersökningen samlades träckprover in från totalt 65 fårbesättningar. Proverna analyserades med sedimentation, PCR och koproantigen-ELISA för förekomst av stora leverflundran. Provsvaren från de olika diagnostiska metoderna jämfördes sedan med hjälp av en statistisk metod som kallas Cohens kappa, vilket gjorde det möjligt att jämföra de olika metodernas överensstämmelse. Resultatet visar en stark överensstämmelse mellan sedimentation och PCR samt mellan PCR och koproantigen-ELISA. Överensstämmelsen mellan sedimentation och koproantigen-ELISA är måttlig. Från den genomförda undersökningen, i kombination med tidigare litteratur inom området, dras slutsatsen att användning av koproantigen-ELISA har god potential, särskilt som ett komplement till annan diagnostik och för att hitta infektioner tidigt. Emellertid föreligger det en risk att prover felaktigt testas negativt vid användning av koproantigen-ELISA, vilket tyder på att det sannolikt inte är aktuellt att ersätta de redan etablerade metoderna med koproantigen-ELISA.

Vidare undersöktes lantbrukares rutiner kring träckprovtagning och avmaskning samt besättningarnas tidigare historik av stora leverflundran med en enkät-

studie. Resultatet visar att lantbrukarna har en generellt god kännedom om parasitläget i besättningarna samt att rutinerna hos en majoritet av de som medverkat är i enlighet med de rekommendationer som finns avseende träckprovtagning och avmaskning.

Tack

Jag vill tacka min handledare Johan Höglund samt biträdande handledare Giulio Grandi och Katarina Gustafsson för det stöd och feedback de bidragit med under arbetets gång. Jag vill även rikta ett stort tack till Bitte Ljungström och Mikael Juremalm för att jag fått utföra stora delar av det laborativa arbetet på Vidilab i Enköping med stöd av stipendiet i Mask-Olles minne. Till sist vill jag också tacka alla de djurägare som ställt upp och skickat in träckprover samt svarat på enkäten.

Bilagor

Bilaga 1

Frågor enkätundersökning

Sida 1 - Fråga 1: Djurägarens namn

Sida 1 - Fråga 2: Hur många tackor finns i besättningen?

Sida 2 - Fråga 1: Tas normalt träckprov i din besättning?

Sida 2 - Fråga 2: Om ja, hur ofta tas träckprov i besättningen?

Sida 2 - Fråga 3: Om ja, vad hittades vid senaste träckprovtagningen?

Sida 3 - Fråga 1: Har stora leverflundran hittats i din besättning?

Sida 3 - Fråga 2: Om stora leverflundran hittats tidigare, hur konstaterades detta?

Sida 4 - Fråga 1: Vilka slaktanmärkningar har rapporterats i din besättning?

Sida 5 - Fråga 1: Har besättningen avmaskats i år?

Sida 5 - Fråga 2: Om ja, vilka parasiter avmaskades besättningen mot?

Sida 5 - Fråga 3: Om ja, vilket läkemedel användes vid avmaskning av djuren?

Sida 5 - Fråga 4: Har man tagit uppföljande träckprover för att kontrollera behandlingsresultat efter avmaskning?

Bilaga 2

Provsvår våren 2024

Djurägare	Sedimentation	cELISA samlingsprov (8 %)*	cELISA samlingsprov (2 %)*	PCR
1	Neg	Neg (1,0)	Neg (1,0)	Neg
2	Neg	Neg (0,9)	Neg (0,9)	-
3	Neg	Neg (0,3)	Neg (0,3)	Neg
4	Neg	Neg (-0,6)	Neg (-0,6)	-
5	Neg	Neg (-1,6)	Neg (-1,6)	Neg
6	Neg	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)	Neg
7	Neg	Neg (-7,2)	Neg (-7,2)	Pos
8	Neg	Neg (-1,3)	Neg (-1,3)	Neg
9	Pos	Neg (1,9)	Neg (1,9)	-
10	Pos	Neg (1,0)	Neg (1,0)	-
11	Neg	Neg (2,7)	Pos (2,7)	Neg
12	Neg	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg
13	-	-	-	-
14	Neg	Neg (0,5)	Neg (0,5)	Neg
15	Neg	Neg (-0,8)	Neg (-0,8)	Neg
16	Neg	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg
17	Neg	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	Neg
18	Neg	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg
19	Pos	Pos (13,6)	Pos (13,6)	Pos
20	Neg	Neg (-0,9)	Neg (-0,9)	-
21	Neg	Neg (4,6)	Pos (4,6)	Neg
22	Neg	Neg (-1,8)	Neg (-1,8)	Neg
23	Neg	Neg (0,5)	Neg (0,5)	Neg
24	Pos	Neg (-0,5)	Neg (-0,5)	Neg
25	Neg	Neg (0,4)	Neg (0,4)	Neg
26	Pos	Pos (44,0)	Pos (44,0)	Pos
27	Neg	Neg (-0,7)	Neg (-0,7)	Neg
28	Neg	Neg (-0,6)	Neg (-0,6)	Neg
29	Neg	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	-
30	Neg	Neg (1,0)	Neg (1,0)	-
31	Neg	Neg (-0,4)	Neg (-0,4)	-
32	Pos	Pos (13,9)	Pos (13,9)	Pos
33	Neg	Neg (-1,1)	Neg (-1,1)	Neg
34	Neg	Neg (0,8)	Neg (0,8)	Pos
35	Neg	Neg (0,9)	Neg (0,9)	-
36	Pos	Pos (32,8)	Pos (32,8)	-
37	Pos	Neg (1,3)	Neg (1,3)	-
38	Neg	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	-
39	Neg	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)	-
40	Pos	Neg (0,6)	Neg (0,6)	-
41	Neg	Neg (6,0)	Pos (6,0)	Pos
42	Neg	Neg (6,2)	Pos (6,2)	Neg
43	Neg	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg

Djurägare	Sedimentation	cELISA samlingsprov (8 %)*	cELISA samlingsprov (2 %)*	PCR
44	Pos	Pos (56,0)	Pos (56,0)	Pos
45	Neg	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg
46	Neg	Neg (0,1)	Neg (0,1)	-
47	Neg	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)	-
48	Neg	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg
49	-	-	-	-
50	-	-	-	-
51	-	-	-	-
52	-	-	-	-
53	-	-	-	-
54	-	-	-	-
55	-	-	-	-
56	-	-	-	-
57	-	-	-	-
58	-	-	-	-
59	-	-	-	-
60	-	-	-	-
61	-	-	-	-
62	-	-	-	-
63	-	-	-	-
64	-	-	-	-
65	-	-	-	-
66	-	-	-	-
67	-	-	-	-
68	-	-	-	-
69	-	-	-	-
70	-	-	-	-
71	-	-	-	-
72	-	-	-	-
73	-	-	-	-
74	-	-	-	-
75	-	-	-	-
76	-	-	-	-
77	-	-	-	-
78	-	-	-	-
79	-	-	-	-

*tröskelvärde som använts för bedömning av cELISA anges i parentes.

Provsvar hösten 2024

Djurägare	Sedimentation	cELISA samlingsprov (8 %)*	cELISA samlingsprov (2 %)*	PCR
1	Neg	Neg (3,9)	Pos (3,9)	Neg
2	Neg	Neg (3,7)	Pos (3,7)	Neg
3	Neg	Neg (3,0)	Pos (3,0)	Neg
4	Neg	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)	Neg
5	Neg	Neg (0,7)	Neg (0,7)	Neg
6	Neg	Neg (-0,7)	Neg (-0,7)	Neg
7	Neg	Neg (-0,4)	Neg (-0,4)	Neg
8	Neg	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	Neg
9	Neg	Neg (0,3)	Neg (0,3)	Neg
10	Neg	Pos (21,8)	Pos (21,8)	Neg
11	Neg	Neg (-3,3)	Neg (-3,3)	Neg
12	Neg	Neg (-3,4)	Neg (-3,4)	-
13	Neg	Neg (6,5)	Pos (6,5)	Neg
14	Neg	Neg (6,3)	Pos (6,3)	Neg
15	Neg	Neg (4,3)	Pos (4,3)	Neg
16	Neg	Neg (3,4)	Pos (3,4)	Neg
17	Neg	Neg (0,4)	Neg (0,4)	Neg
18	Neg	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)	Neg
19	Neg	Neg (0,1)	Neg (0,1)	Neg
20	Neg	Neg (0,4)	Neg (0,4)	Neg
21	Neg	Neg (0,5)	Neg (0,5)	Neg
22	Neg	Neg (0,1)	Neg (0,1)	Neg
23	Neg	Neg (-3,4)	Neg (-3,4)	Neg
24	Neg	Neg (-2,5)	Neg (-2,5)	Neg
25	Neg	Neg (-3,3)	Neg (-3,3)	Neg
26	Neg	Neg (0,2)	Neg (0,2)	Neg
27	-	-	-	-
28	-	-	-	-
29	-	-	-	-
30	-	-	-	-
31	-	-	-	-
32	-	-	-	-
33	-	-	-	-
34	-	-	-	-
35	-	-	-	-
36	-	-	-	-
37	-	-	-	-
38	-	-	-	-
39	-	-	-	-
40	-	-	-	-
41	-	-	-	-
42	-	-	-	-
43	-	-	-	-

Djurägare	Sedimentation	cELISA samlingsprov (8 %)*	cELISA samlingsprov (2 %)*	PCR
44	-	-	-	-
45	-	-	-	-
46	-	-	-	-
47	-	-	-	-
48	Neg	Pos (9,2)	Pos (9,2)	Neg
49	Neg	Neg (5,3)	Pos (5,3)	-
50	Neg	Neg (5,0)	Pos (5,0)	Neg
51	Neg	Neg (4,7)	Pos (4,7)	Neg
52	Neg	Neg (6,1)	Pos (6,1)	Neg
53	Neg	Neg (-0,6)	Neg (-0,6)	Neg
54	Neg	Neg (-1,5)	Neg (-1,5)	-
55	Neg	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)	Neg
56	Neg	Neg (-0,8)	Neg (-0,8)	-
57	Neg	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	Neg
58	Neg	Neg (-1,1)	Neg (-1,1)	-
59	Neg	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	Neg
60	Neg	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)	Neg
61	Pos	Neg (3,9)	Pos (3,9)	Pos
62	Neg	Neg (-8,7)	Neg (-8,7)	-
63	Neg	Neg (-2,3)	Neg (-2,3)	Neg
64	Neg	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)	-
65	Neg	Neg (-0,8)	Neg (-0,8)	Neg
66	Neg	Neg (-1,1)	Neg (-1,1)	Neg
67	Neg	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	Neg
68	Neg	Neg (0,2)	Neg (0,2)	Neg
69	Neg	Neg (0,2)	Neg (0,2)	Neg
70	Neg	Neg (0,5)	Neg (0,5)	-
71	Neg	Neg (0,2)	Neg (0,2)	-
72	Neg	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg
73	Neg	Neg (-6,0)	Neg (-6,0)	Neg
74	Neg	Neg (-5,5)	Neg (-5,5)	-
75	Neg	Neg (-5,2)	Neg (-5,2)	-
76	Neg	Neg (-6,3)	Neg (-6,3)	Neg
77	Neg	Neg (-5,5)	Neg (-5,5)	Neg
78	Neg	Neg (-7,4)	Neg (-7,4)	Neg
79	Pos	Pos (107,9)	Pos (107,9)	Pos

*tröskelvärde som använts för bedömning av cELISA anges i parentes.

Provsvär individuella prover cELISA hösten 2024

Djurägare	cELISA 1 (8 %)*	cELISA 1 (2 %)*	cELISA 2 (8 %)*	cELISA 2 (2 %)*	cELISA 3 (8 %)*	cELISA 3 (2 %)*
1	Neg (4,9)	Pos (4,9)	Neg (3,3)	Pos (3,3)	Neg (6,0)	Pos (6,0)
2	Neg (5,6)	Pos (5,6)	Neg (2,1)	Pos (2,1)	Neg (3,1)	Pos (3,1)
3	Neg (2,9)	Pos (2,9)	Neg (4,1)	Pos (4,1)	Neg (2,6)	Pos (2,6)
4	Neg (0,4)	Neg (0,4)	Neg (0,3)	Neg (0,3)	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)
5	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg (0,1)	Neg (0,1)
6	Neg (-0,5)	Neg (-0,5)	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)	Neg (0,0)	Neg (0,0)
7	Neg (0,4)	Neg (0,4)	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)	Neg (0,1)	Neg (0,1)
8	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg (2,9)	Pos (2,9)	Neg (0,7)	Neg (0,7)
9	Neg (3,4)	Pos (3,4)	Neg (0,5)	Neg (0,5)	Neg (0,4)	Neg (0,4)
10	Neg (-3,7)	Neg (-3,7)	Neg (7,4)	Pos (7,4)	Pos (64,4)	Pos (64,4)
11	Neg (-3,9)	Neg (-3,9)	Neg (-3,1)	Neg (-3,1)	Neg (-2,2)	Neg (-2,2)
12	Neg (-3,5)	Neg (-3,5)	Neg (-6,2)	Neg (-6,2)	-	-
13	Neg (4,0)	Pos (4,0)	Neg (4,7)	Pos (4,7)	Pos (10,4)	Pos (10,4)
14	Neg (3,2)	Pos (3,2)	Neg (1,8)	Neg (1,8)	Neg (2,3)	Pos (2,3)
15	Neg (4,5)	Pos (4,5)	Neg (2,6)	Pos (2,6)	Neg (4,8)	Pos (4,8)
16	Neg (3,2)	Pos (3,2)	Neg (3,5)	Pos (3,5)	Neg (2,7)	Pos (2,7)
17	Neg (-0,8)	Neg (-0,8)	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)
18	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg (-0,6)	Neg (-0,6)	Neg (-0,6)	Neg (-0,6)
19	Neg (0,3)	Neg (0,3)	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)
20	Neg (0,0)	Neg (0,0)	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)	Neg (-0,1)
21	Neg (0,7)	Neg (0,7)	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)	Neg (1,1)	Neg (1,1)
22	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)	Neg (0,9)	Neg (0,9)	Neg (0,3)	Neg (0,3)
23	Neg (-3,1)	Neg (-3,1)	Neg (-2,6)	Neg (-2,6)	Neg (-2,6)	Neg (-2,6)
24	Neg (-4,5)	Neg (-4,5)	Neg (-2,3)	Neg (-2,3)	Neg (-3,4)	Neg (-3,4)
25	Neg (-4,1)	Neg (-4,1)	Neg (-4,3)	Neg (-4,3)	Neg (4,2)	Pos (4,2)
26	Neg (0,5)	Neg (0,5)	Neg (0,2)	Neg (0,2)	Neg (-0,3)	Neg (-0,3)
27	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-
41	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-

Djurägare	cELISA 1 (8 %)*	cELISA 1 (2 %)*	cELISA 2 (8 %)*	cELISA 2 (2 %)*	cELISA 3 (8 %)*	cELISA 3 (2 %)*
44	-	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	-	-	-
47	-	-	-	-	-	-
48	-	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	-
54	-	-	-	-	-	-
55	-	-	-	-	-	-
56	-	-	-	-	-	-
57	-	-	-	-	-	-
58	-	-	-	-	-	-
59	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-
61	Neg (-7,4)	Neg (-7,4)	Pos (53,6)	Pos (53,6)	Neg (-7,6)	Neg (-7,6)
62	-	-	-	-	-	-
63	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-
65	-	-	-	-	-	-
66	-	-	-	-	-	-
67	-	-	-	-	-	-
68	-	-	-	-	-	-
69	-	-	-	-	-	-
70	-	-	-	-	-	-
71	-	-	-	-	-	-
72	-	-	-	-	-	-
73	-	-	-	-	-	-
74	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-
76	-	-	-	-	-	-
77	-	-	-	-	-	-
78	-	-	-	-	-	-
79	Pos (156,5)	Pos (156,5)	Neg (5,5)	Pos (5,5)	Neg (-0,2)	Neg (-0,2)

*tröskelvärde som använts för bedömning av cELISA anges i parentes.

Bilaga 3

OD-värden och beräkningar

Bilagan visar OD-värden för samtliga brunnar som analyserades på cELISA-plattorna. Beräkningar av värden som användes för att bedöma positiva och negativa prover finns också redovisade nedan. Nummer på blå bakgrund är OD skillnad (ΔOD) mellan de specifikt och de ospecifikt sensitiserade brunnarna. Nummer på lila bakgrund är OD uttryckt i procent, vilket beräknades genom att dividera ΔOD för varje prov med ΔOD för den positiva kontrollen. Positiv kontroll är i brunn G1.

Mikroplatta 1 2024-10-10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,119	0,123	0,107	0,136	0,116	0,137	0,1	0,106	0,107	0,105	0,117	0,105
B	0,079	0,073	0,073	0,075	0,078	0,08	0,079	0,074	0,077	0,076	0,075	0,079
C	0,075	0,081	0,079	0,076	0,082	0,073	0,075	0,077	0,078	0,081	0,075	0,079
D	0,076	0,077	0,076	0,077	0,075	0,074	0,075	0,076	0,085	0,086	0,076	0,079
E	0,07	0,077	0,07	0,082	0,091	0,083	0,115	0,081	0,085	0,114	0,079	0,106
F	0,074	0,073	0,071	0,081	0,093	0,083	0,086	0,074	0,082	0,079	0,074	0,102
G	1,114	0,346	0,079	0,211	0,79	0,09	0,083	0,084	0,09	0,08	0,081	0,087
H	0,098	0,125	0,117	0,136	0,136	0,124	0,123	0,115	0,112	0,115	0,117	0,15

Beräkningar mikroplatta 1

0,04	0,05	0,034	0,061	0,038	0,057	0,021	0,032	0,03	0,029	0,042	0,026
3,9	4,9	3,3	6,0	3,7	5,6	2,1	3,1	3,0	2,9	4,1	2,6
-0,001	0,004	0,003	-0,001	0,007	-0,001	0	0,001	-0,007	-0,005	-0	0
-0,1	0,4	0,3	-0,1	0,7	-0,1	0,0	0,1	-0,7	-0,5	-0,1	0,0
-0,004	0,004	-0,001	0,001	-0,002	0	0,029	0,007	0,003	0,035	0,005	0,004
-0,4	0,4	-0,1	0,1	-0,2	0,0	2,9	0,7	0,3	3,4	0,5	0,4
1,016	0,221	-0,038	0,075	0,654	-0,034	-0,04	-0,03	-0,022	-0,035	-0,04	-0,06
100,0	21,8	-3,7	7,4	64,4	-3,3	-3,9	-3,1	-2,2	-3,4	-3,5	-6,2

Mikroplatta 2 2024-10-10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,148	0,11	0,1	0,099	0,144	0,131	0,117	0,149	0,117	0,112	0,116	0,111
B	0,075	0,073	0,079	0,072	0,094	0,079	0,087	0,093	0,077	0,075	0,075	0,08
C	0,088	0,085	0,079	0,073	0,076	0,073	0,071	0,078	0,075	0,079	0,075	0,073
D	0,083	0,094	0,081	0,075	0,079	0,073	0,078	0,085	0,074	0,076	0,077	0,076
E	0,08	0,071	0,075	0,074	0,085	0,084	0,073	0,087	0,08	0,076	0,15	0,078
F	0,075	0,071	0,076	0,075	0,079	0,076	0,077	0,074	0,079	0,08	0,14	0,074
G	1,277	0,076	0,073	0,072	0,069	0,071	0,072	0,076	0,068	0,083	0,078	0,078
H	0,114	0,115	0,109	0,102	0,099	0,1	0,124	0,103	0,107	0,121	0,126	0,128

Beräkningar mikroplatta 2

0,073	0,037	0,021	0,027	0,05	0,052	0,03	0,056	0,04	0,037	0,041	0,031
6,3	3,2	1,8	2,3	4,3	4,5	2,6	4,8	3,4	3,2	3,5	2,7
0,005	-0,009	-0,002	-0,002	-0,003	0	-0,01	-0,01	0,001	0,003	-0	-0
0,4	-0,8	-0,2	-0,2	-0,3	0,0	-0,6	-0,6	0,1	0,3	-0,2	-0,3
0,005	0	-0,001	-0,001	0,006	0,008	-0	0,013	0,001	-0,004	0,01	0,004
0,4	0,0	-0,1	-0,1	0,5	0,7	-0,3	1,1	0,1	-0,3	0,9	0,3
1,163	-0,039	-0,036	-0,03	-0,03	-0,029	-0,05	-0,03	-0,039	-0,038	-0,05	-0,05
100,0	-3,4	-3,1	-2,6	-2,6	-2,5	-4,5	-2,3	-3,4	-3,3	-4,1	-4,3

Mikroplatta 3 2024-10-10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,09	0,111	0,093	0,093	0,13	0,124	0,098	0,098	0,106	0,105	1,055	0,113
B	0,064	0,071	0,068	0,064	0,066	0,067	0,067	0,065	0,077	0,071	0,088	0,075
C	0,075	0,069	0,063	0,064	0,067	0,063	0,062	0,062	0,094	0,072	0,066	0,068
D	0,079	0,078	0,065	0,069	0,07	0,064	0,064	0,066	0,07	0,086	0,068	0,067
E	0,06	0,061	0,058	0,061	0,06	0,061	0,069	0,072	0,065	0,076	0,065	0,068
F	0,057	0,06	0,06	0,066	0,061	0,068	0,07	0,071	0,064	0,073	0,064	0,068
G	0,208	0,071	0,057	0,057	0,063	0,058	0,062	0,067	0,427	0,061	0,065	0,778
H	0,09	0,108	0,091	0,089	0,109	0,112	0,101	0,101	0,096	0,108	0,111	0,111

Beräkningar mikroplatta 3

0,026	0,04	0,025	0,029	0,064	0,057	0,031	0,033	0,029	0,034	0,967	0,038
4,2	6,5	4,0	4,7	10,4	9,2	5,0	5,3	4,7	5,5	156,5	6,1
-0,004	-0,009	-0,002	-0,005	-0,003	-0,001	-0	-0	0,024	-0,014	-0	0,001
-0,6	-1,5	-0,3	-0,8	-0,5	-0,2	-0,3	-0,6	3,9	-2,3	-0,3	0,2
0,003	0,001	-0,002	-0,005	-0,001	-0,007	-0	0,001	0,001	0,003	0,001	0
0,5	0,2	-0,3	-0,8	-0,2	-1,1	-0,2	0,2	0,2	0,5	0,2	0,0
0,618	-0,037	-0,034	-0,032	-0,046	-0,054	-0,04	-0,03	0,331	-0,047	-0,05	0,667
100,0	-6,0	-5,5	-5,2	-7,4	-8,7	-6,3	-5,5	53,6	-7,6	-7,4	107,9

Mikroplatta 4 2024-05-22

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,0696	0,0603	0,0602	0,0674	0,0642	0,1994	0,0675	0,066	0,1489	0,088	0,0806	0,2
B	0,065	0,0682	0,0669	0,0726	0,0616	0,0719	0,0792	0,081	0,2164	0,063	0,063	0,07
C	0,0687	0,0671	0,0745	0,0597	0,0822	0,3706	0,0597	0,06	0,0736	0,062	0,0689	0,067
D	0,0792	0,0695	0,0652	0,0636	0,0696	0,0638	0,0616	0,069	0,0696	0,065	0,0608	0,073
E	0,0684	0,0892	0,0861	0,0664	0,0762	0,0655	0,0791	0,068	0,0635	0,061	0,1084	0,126
F	0,0703	0,0884	0,0806	0,0586	0,068	0,0699	0,0746	0,07	0,0799	0,062	0,0654	0,068
G	1,0062	0,0677	0,1332	0,0627	0,0751	0,068	0,0624	0,491	0,5957	0,062	0,0729	0,081
H	0,0705	0,0705	0,0735	0,0655	0,0692	0,0662	0,0669	0,079	0,0703	0,064	0,0699	0,068

Beräkningar mikroplatta 4

0,0046	-0,008	-0,0067	-0,0052	0,0026	0,1275	-0,012	-0,015	-0,068	0,0252	0,018	0,13
0,5	-0,8	-0,7	-0,6	0,3	13,6	-1,3	-1,6	-7,2	2,7	1,9	13,9
-0,0105	-0,002	0,0093	-0,0039	0,0126	0,3068	-0,002	-0,009	0,004	-0,002	0,008	-0,006
-1,12	-0,26	0,99	-0,42	1,35	32,79	-0,2	-0,91	0,43	-0,26	0,87	-0,59
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1
-0,2	0,09	0,59	0,83	0,88	-0,47	0,48	-0,16	-1,75	-0,14	4,6	6,21
0,9357	-0,003	0,0597	-0,0028	0,0059	0,0018	-0,005	0,412	0,5254	-0,002	0,003	0,012
100	-0,3	6,4	-0,3	0,6	0,2	-0,5	44	56,2	-0,2	0,3	1,3

Publicering och arkivering

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

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

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

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