

## Förbättrad kryptosporidiediagnostik hos kalv ger bättre rådgivning

Charlotte Axén (fd Silverlås), VMD, Bitr. statsveterinär. Enheten för Djurhälsa och Antibiotikafrågor, SVA  
Camilla Björkman, Professor, Avd. för idisslarmedicin och epidemiologi, Inst. för kliniska vetenskaper, SLU  
Kerstin de Verdier, VMD, Bitr. statsveterinär. Enheten för Djurhälsa och Antibiotikafrågor, SVA

---

### Bakgrund

#### *Diarré orsakad av kryptosporidier*

Diarré är det vanligaste infektiösa sjukdomskomplex som drabbar icke avvanda kalvar. Orsaken kan vara såväl virus som bakterier eller parasiter. *Cryptosporidium parvum* är en encellig parasit som tillsammans med rotavirus bedöms vara den vanligaste orsaken till diarré hos svenska kalvar [1]. Symptom ses oftast vid en till tre veckors ålder och kan vara kraftiga med vattentunna diarréer, anorexi, nedsatt allmäntillstånd och uttorkning. *C. parvum* är dock inte den enda kryptosporidiearten hos nötkreatur - även *C. bovis*, *C. ryanae* och *C. andersoni* är vanligt förekommande. Alla tre arterna anses vara apatogena, men detta bygger till stor del på att de utomlands oftast förekommer hos avvanda kalvar och vuxna nötkreatur där klinisk kryptosporidiosis inte ses. Utländska studier pekar på att *C. parvum* är den dominerande arten hos kalvar upp till två månaders ålder, med en förekomst på minst 80 % hos kryptosporidiepositiva kalvar [2-7]. I ett svenskt doktorandprojekt dominerade däremot *C. bovis* hos kalvar upp till två månaders ålder, med en förekomst på 74 %, medan *C. parvum* endast förekom i 20 % av artbestämda prover [8]. Dessutom kunde *C. bovis* påvisas i ett antal diarréprover [8]. Därmed väcktes frågan hur patogen *C. bovis* kan vara för icke avvanda kalvar, och hur vanligt förekommande den i så fall var i besättningar med diarréproblematik. Kryptosporidieinfektioner kan vara ett stort gissel i en besättning. Infektionsdosen är mycket låg (1-100 oocystor (ägg)) och en kalv kan under infektionens förlopp utsöndra miljarder oocystor. Oocystorna är mycket tåliga i miljön och mot olika desinfektionsmedel och det finns inget effektivt läkemedel. Ett högt smittryck kan därför snabbt byggas upp och bibehållas, och förebyggande åtgärder är av största vikt för att minska smittrycket. *C. parvum* kan också infektera och orsaka sjukdom hos människa, varför det finns en risk för zoonotisk smitta. Generellt behöver dock inte djurägare, anställda och veterinärer oro sig för att bli smittade, utan den stora riskgruppen är människor som inte regelbundet hanterar kalvar.

#### *Kalvpaketet och kryptosporidiediagnostik*

Enheten för Djurhälsa och Antibiotikafrågor (DOA) vid SVA och Nöthälsovården vid Svenska Djurhälsovården AB (SvDHFV) har ett samarbete kallat "kalvpaketet" där både diarré- och luftvägsproblematik kan utredas. Besättningar kan ansluta sig till lilla eller stora paketet hos SvDHFV och får då hjälp med provtagningar och rådgivning runt aktuell problematik. Prover skickas tillsammans med den s.k. kalvremissen till DOA för analys av totalprotein (TP) som avspeglar kalvens upptag av maternella antikroppar från råmjölk, bakterier, virus och/eller parasiter utifrån symptom och ålder på kalven. Avseende kryptosporidier görs rutindiagnostik med direktutstryk av träck på objektglas, som sedan färgas med immunfluorescerande antikroppar mot kryptosporidier och avläses i mikroskop. På så sätt kan man avgöra om kalven utsöndrar kryptosporidier, men det går inte att bedöma vilken art man hittat. Detta beror på att flertalet kryptosporidiearter har nästan identiskt utseende, oocystorna är ~4.5-5.5 µm i diameter. *C. andersoni* är den enda art som är lätt att skilja från övriga arter hos nötkreatur då dess oocystor är ~7.5 x 5 µm.

#### *Syfte*

Syftet med denna studie var att visa fördelningen av kryptosporidiearter hos unga kalvar med diarré samt klargöra vilka subtyper av *C. parvum* och *C. bovis* som förekommer och också jämföra patogeniciteten hos de två arterna. Resultaten användas för att bedöma om diagnostiken för kryptosporidieinfektion hos diarrékalvar behövde fördjupas för att avgöra en

infektions kliniska relevans. Ett ytterligare syfte var att få ett underlag för bättre information och rådgivning till veterinärer och djurägare angående kryptosporidiernas roll för kalvhälsan och förebyggande åtgärder.

## **Material och metoder**

### ***Urval av prover och besättningar***

I studien ingick alla diarréprover som skickades via kalvremissen med förfrågan om kryptosporidier från 30 mars 2010 till 29 mars 2012. När proverna registrerats skickades ett frågeformulär avseende aktuell diarréproblematik ut till besättningen. Om prover inkom upprepade gånger från samma besättning skickades ett nytt frågeformulär om det gått minst en månad sedan senaste provtagningen eller om djurägaren inte besvarat det tidigare utskickade formuläret. Provtagna kalvars ålder samt data om besättningsstorlek, besättningstyp (mjölk, kött/diko, kött/förmedlingskalvar) och symptombild registrerades om detta framgick på remissen. Proverna bedömdes med avseende på färg och konsistens och skickades sedan för analys enligt vad som begärts på remissen. Rutindiagnostik av kryptosporidier görs vid Enheten för Virologi, Immunologi och Parasitologi (VIP) vid SVA. Så mycket som möjligt av varje prov sparades undan för eventuell utökad analys.

### ***Utökad analys inklusive DNA-analyser***

Om träck fanns sparad renades och koncentrerades positiva prover genom saltflotation [9]. Därefter färgades en liten mängd (30 µl) av det renade provet med immunfluorescerande antikroppar mot kryptosporidier (CryptoCel, Cellabs Australien) på objektglas och mängden oocystor räknades i fluorescensmikroskop. Därmed kunde utsöndringsgraden (oocystor per gram träck (OPG)) beräknas. När kryptosporidier påvisades i renade prover utfördes DNA-analys. Artbestämning gjordes med PCR och sekvensering av 18S rRNA-genen och subtypning med PCR och sekvensering av GP60-genen. Av de arter som går på nötkreatur kan enbart *C. parvum* analyseras med GP60-analys, men även prover som inte innehöll *C. parvum* enligt 18S rRNA-analysen kördes i GP60-analys då det därmed ger möjlighet att detektera blandinfektion med denna art. För att konfirmera monoinfektion respektive blandinfektion analyserades prover som innehöll *C. bovis* senare åter för 18S rRNA med en kompletterande klyvning (RFLP), en metod som gör det möjligt att klargöra om prover innehåller mer än en kryptosporideart. Erhållna DNA-sekvenser analyserades och jämfördes med sekvenser deponerade i GenBank för artbestämning, subtypsbestämning och undersökning av eventuella avvikelser/mutationer.

### ***Övriga patogener och totalprotein***

Resultat från eventuella ytterligare analyser som genomförts vid den aktuella provtagningen användes också, så att det framgick om de kryptosporidiepositiva kalvarna varit individuellt positiva för andra patogener (*Escherichia coli*, *Giardia*, *Eimeria*) eller om rotavirus, coronavirus (BCV) eller salmonella påvisats i besättningen (proverna poolas så analysen görs på besättningsnivå). Även genomsnittliga TP-halter per besättning beräknades om sådana data fanns tillgängliga.

### ***Frågeformulär***

Frågeformuläret var avsett att ge en bedömning av sjukdomsbilden i de besättningar som ingick i studien. Formuläret innehöll, förutom frågor om besättningsdata (ägare och PPN, besättningsstorlek, mjölk- eller köttproduktion, KRAV eller inte), frågor avseende kalvarnas hälsa, t.ex. hur stor andel av kalvarna som drabbades av diarré, genomsnittlig ålder när sjukdomen bryter ut, symptombild och hur de behandlades. Om ett formulär besvarats upprepade gånger jämfördes svaren med varandra. Svaren jämfördes också med den

veterinära bedömningen om en sådan gjorts på remissen för att fylla ut eventuella kunskapsluckor.

### **Statistisk bearbetning**

För statistisk bearbetning användes Stata 11 (1985–2009 Statacorp LP, College Station, Texas, USA). Beroende på de olika variabelernas utformning användes  $\chi^2$ -test, Fisher's exact test eller Mann–Whitney test för att undersöka eventuella samband.

## **Resultat**

### **Inkluderade prover och besättningar**

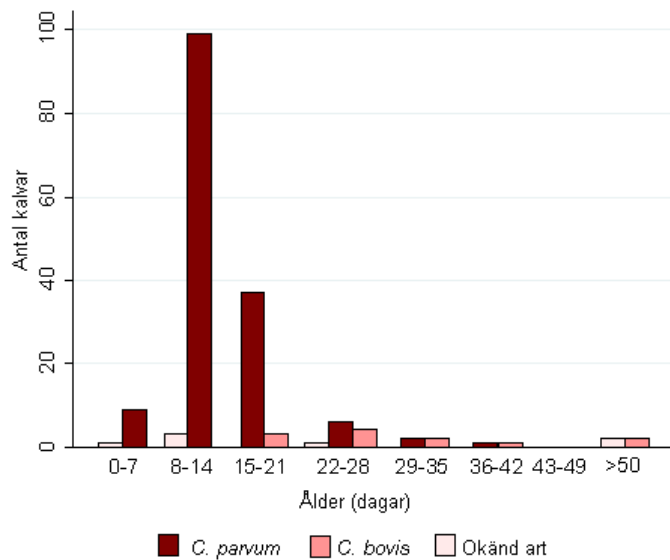
Totalt inkom 268 remisser med förfrågan om kryptosporidier på 782 träckprover under studieperioden. Ytterligare 29 träckprover med förfrågan om andra patogener och 125 TP-prover ingick i dessa remisser. Proverna kom från 192 olika besättningar och som mest skickades prover vid sex tillfällen från samma besättning. Rutindiagnostiken bedömde 242 (31 %) prover från 91 (49 %) besättningar som kryptosporidiepositiva. I besättningar som skickade in prover mer än en gång påvisades oocystor vid ett till tre tillfällen.

### **Utökade analyser inklusive DNA-analys**

Av de 242 proverna fanns tillräckligt med träck från 218 prover för att göra utökade analyser. 198 prover från 82 besättningar bedömdes som positiva efter koncentration och rening. Resterande 20 prover räknades/bedömdes som falskt positiva. Kryptosporidieart kunde bestämmas i 191 av 198 prover. 178 av dessa (93 %) innehöll *C. parvum*, 6 innehöll *C. bovis* och 7 hade blandinfektioner med *C. parvum*/*C. bovis*. Subtyp kunde bestämmas på 171 av de 178 prover där *C. parvum* påvisats, samt i fem prover med blandinfektion. Alla prover innehöll subtyper från de zoonotiska subtypfamiljerna (SF) IIa eller IIb. Totalt påvisades 27 subtyper, varav 16 bedömdes som nya eftersom de innehöll sekvenskillnader jämfört med sekvenser som redan fanns i GenBank. Den vanligast förekommande subtypen var IIaA16G1R1. Med undantag för tre besättningar, där två subtyper konstaterades, kunde bara en subtyp påvisas när mer än ett prov från samma besättning analyserades. Vid statistisk analys räknades kalvar med blandinfektion med i gruppen *C. bovis*-infekterade kalvar, eftersom *C. bovis* var den dominerande kryptosporidie-arten (den som gett resultat på 18S rRNA-sekvensering). När analyser avseende subtyper gjordes räknades de med som *C. parvum*. På grund av det stora antalet subtyper och få isolat inom varje subtyp gjordes analyserna istället på SF-nivå.

Ålder hade registrerats för 173 av de 198 kryptosporidiepositiva kalvarna. Infektion var vanligast vid 1-3 veckors ålder (Figur 1) och den äldsta infekterade kalven var 90 dagar gammal.

Specifika resultat från statistiska tester återfinns i Tabell 1 nedan. Kalvar infekterade med *C. parvum* var signifikant yngre och utsöndrade mer oocystor (högre OPG) än kalvar infekterade med *C. bovis* (Figur 1, Tabell 1). Det var även en tendens till högre utsöndring hos kalvar infekterade med SF IIa. Färg och konsistens på träcken hade registrerats för 197 av 198 kryptosporidiepositiva prover. Gul färg var signifikant associerat med *C. parvum*-infektion, men det var ingen konsistensskillnad på träck från *C. parvum*- och *C. bovis*-infekterade kalvar. SF II var vanligare i prover med vattentunn konsistens, medan färg på träcken var oberoende av SF.



**Figur 1:** Ålder på kryptosporidiepositiva kalvar, fördelat på art

**Tabell 1.** Karakteristika för provtagna kalvar och träckprov

Variabel	Cryptosporidium-positiva				Statistiskt test (df) <sup>a</sup>
	Alla	<i>C. parvum</i>	<i>C. bovis</i>	Okänd art	
Ålder, dagar median; spann	11; 2-75 (n=173)	11; 6-42 (n=154) <sup>c</sup>	24.5; 14-75 (n=12) <sup>c</sup>	13; 2-70 (n=7)	MW: -5.5 <sup>c</sup> , P < 0.001
Oocystor (OPG) median; spann	5.6 x 10 <sup>6</sup> ; 100-11 x 10 <sup>7</sup> (n=198)	6.8 x 10 <sup>6</sup> ; 100 -11 x 10 <sup>7</sup> (n=178) <sup>d,e</sup>	350,700; 500-5.2 x 10 <sup>6</sup> (n=13) <sup>d</sup>	50,100; 100-3.2 x 10 <sup>7</sup> (n=7) <sup>e</sup>	MW 4.4 <sup>d</sup> , P < 0.001 MW 3.7 <sup>e</sup> , P < 0.001
Träckfärg, n (% i kolumn) <sup>b</sup>					
Gul	159 (80.7)	147 (83.1) <sup>f</sup>	7 (53.8) <sup>f</sup>	5 (71.4)	F <sup>f</sup> , P ≤ 0.05
Annan	38 (19.3)	30 (16.9) <sup>f</sup>	6 (46.2) <sup>f</sup>	2 (28.6)	
Träckkonsistens, n (% i kolumn) <sup>b</sup>					
Vattentunn	97 (49.2)	90 (50.8)	4 (30.8)	3 (42.9)	F, P > 0.05
Krämig / lös	100 (50.8)	87 (49.2)	9 (69.2)	4 (57.1)	
<b>Per <i>C. parvum</i> subtypfamilj</b>	<b>IIa</b>	<b>IIb</b>			
Oocystor (OPG) median; spann	8.2 x 10 <sup>6</sup> ; 100-11 x 10 <sup>7</sup> (n=136)	5.2 x 10 <sup>6</sup> ; 500-7.6 x 10 <sup>7</sup> (n=40)			MW 1.9, P = 0.06
Träckfärg, n (% i kolumn) <sup>b</sup>					
Yellow (%)	109 (80.7)	35 (87.5)			F, P > 0.05
Other (%)	26 (19.3)	5 (12.5)			
Träckkonsistens, n (% i kolumn) <sup>b</sup>					
Vattentunn	75 (55.6)	15 (37.5)			χ <sup>2</sup> =4.0 (1), P>0.05
Krämig / lös	60 (44.4)	25 (62.5)			

<sup>a</sup> df=frihetsgrader, MW=Mann-Whitney test, F=Fisher's exact test; <sup>b</sup> Data saknas för ett prov

<sup>c-f</sup> Celler med identiska bokstäver skiljer sig signifikant från varandra enligt det statistiska test som anges i högra kolumnen

### ***Andra patogener och totalprotein***

Ingen av de sex kalvarna infekterade med *C. bovis* hade diagnosticerats individuellt med någon annan diarrépatogen. En av kalvarna kom dock från en BCV-positiv besättning. Fem av kalvarna med *C. parvum*/*C. bovis*-infektion var även infekterade med *Eimeria* och en med *Giardia*. Utöver kryptosporidier diagnosticerades en till fyra diarrépatogener i 77 av de 82 kryptosporidieinfekterade besättningarna (Tabell 2).

TP varierade från 39 till 87 g/L (median 56 g/L) i individuella prov och 46 till 70.5 g/L (median 56.5 g/L) på besättningsnivå.

**Tabell 2.** Förekomst av olika diarrépatogener i 82 kryptosporidieinfekterade besättningar med diarréproblem

Antal besättningar	kryptosporidier	<i>Giardia</i> <sup>a</sup>	<i>E. coli</i> F5+	Rotavirus	<i>Eimeria</i> spp.	BCV <sup>b</sup>
<b>82</b>						
5	X					
1	X	X				
4	X			X		
28	X				X	
10	X	X			X	
3	X		X		X	
20	X			X	X	
8	X	X		X	X	
1	X		X	X	X	
1	X	X			X	X
1	X	X		X	X	X

<sup>a</sup> Analysen kan inte efterfrågas, men inkluderas automatiskt när analys för kryptosporidier görs

<sup>b</sup> Bovint Coronavirus

### ***Frågeformuläret***

Frågeformuläret hade besvarats för 52 (63.4 %) av de kryptosporidiepositiva besättningarna. Alla frågor var dock inte besvarade av alla djurägare. Likaså hade ett antal djurägare kryssat för flera alternativ på en del frågor, vilket gjorde att variablernas värden blev överlappande och de kunde inte analyseras. Alla 52 djurägare hade angett att diarrésjuka kalvar (variation 1–100 %) gavs vätskeersättning att dricka, via sond eller via dropp, och i 26 besättningar angavs att alla diarrésjuka kalvar gavs vätskeersättning. Det var ingen signifikant skillnad i andelen kalvar som gavs vätskeersättning i besättningar där enbart *C. parvum*, enbart *C. bovis* eller både *C. parvum* och *C. bovis* påvisats (median 82 % (10–100 %, n = 44); median 100 % (25–100 %, n = 4) och median 20 % (20–100 %, n = 3); MW= 0.2–0.4, P > 0.05).

Totala andelen klavar som getts vätskeersättning och andelen kalvar som erbjudits vätskeersättning att dricka skiljde inte mellan SF Iia och SF Iid, men det var en tendens att forcerad vätskeersättning (sond, dropp) var mer vanlig i besättningar med SF Iid (median 5 % (0–100 %, n = 36) vs. median 0 % (0–20%, n = 10); MW= 1.8, P = 0.07).

## Diskussion

Det viktigaste fyndet var att *C. parvum* är den klart dominerande kryptosporidiearten hos diarrésjuka kalvar i besättningar med diarréproblematik, vilket stämmer med vad som rapporterats i utländska studier [5-7, 10, 11]. Resultaten är däremot motsatta de i tidigare svenska studier [8], där *C. bovis* har dominerat. Här har dock provtagningen riktats mot diarrésjuka kalvar från besättningar med diarréproblematik, medan de tidigare studierna i större grad representerar den genomsnittliga kalvpopulationen. Resultaten visar också att även om kryptosporidieinfekterade kalvar i Sverige generellt inte utgör en stor risk för zoonotisk överföring, så utgör infekterade kalvar i diarrébesättningar en stor risk.

Det faktum att *C. parvum*-infekterade kalvar var yngre än *C. bovis*-infekterade kalvar indikerar att *C. parvum* är den första arten som infekterar nyfödda kalvar i besättningar där *C. parvum* finns, alternativt att om infektion med båda arterna sker ungefär samtidigt kommer *C. parvum* att dominera. *C. parvum* var absolut vanligast mellan en och tre veckors ålder och detekterades inte med 18S rRNA-analys efter 42 dagars ålder utan förekom därefter bara som sekundär art (*C. bovis* dominerade). Därför kan kalvens ålder användas för att bedöma en kryptosporidieinfektions kliniska relevans.

Eftersom *C. parvum* är en primärpatogen analyserades inte eventuella saminfektioner med andra patogener för dessa kalvar, utan bara för de kalvar som var infekterade med *C. bovis*. Hos de sex kalvar som hade *C. bovis* men inte var saminfekterade med *C. parvum* påvisades inte heller några andra patogener, vilket liksom i tidigare svenska studier [8] indikerar att denna art kan vara primärt patogen. Fynden av upp till fyra andra patogener i kryptosporidieinfekterade besättningar konfirmerar att diarrésjukdom hos kalvar har en komplex etiologi som behöver betänkas när diarréproblem utreds.

En kalv anses ha tagit upp tillräckligt med antikroppar från råmjölken om TP är minst 55 g/L [12]. Våra resultat indikerar därmed att råmjölksrutiner kan vara en del av diarréproblematik hos kalvar, eftersom hälften av besättningarna hamnade under detta värde när ett genomsnitt räknades ut.

Mängden oocystor i ett prov påverkas av när under infektionens förlopp provet tagits, och individuella prover utgör därför en osäker källa till hur patogenen är. När ett stort antal prover analyseras tillsammans är det dock lättare att göra en bedömning [13]. *C. parvum*-prover innehöll högre oocystnivåer än *C. bovis*-prover, vilket understryker att den förra arten har en högre patogenicitet än den senare. Den gula träckfärg som var associerad med *C. parvum*-infektion kan spegla den tid när kalven är infekterad, dvs. när mjölk är den dominerande födan, eftersom färgen ändras när proportionen grovfoder och kraftfoder ökar. Gul träckfärg har även tidigare associerats med kryptosporidieinfektion [14].

Det finns ett stort antal *C. parvum*-subtyper. Dessa bestäms av skillnader i GP60-genen och nya rapporteras frekvent. I den här studien identifierades 27 subtyper, varav 16 inte har rapporterats tidigare. Med tre undantag identifierades bara en subtyp per undersökt besättning, vilket indikerar ett stabilt klonalt mönster i *C. parvum*-populationen. Detta innebär att smitta mellan besättningar, med blandning av subtyper, inte verkar förekomma i stor utsträckning. Detta mönster har tidigare identifierats i regioner med slutna besättningar [11, 15-17]. I områden med frekvent flytt av djur mellan besättningar ses vanligen ett mindre antal subtyper, men flera subtyper per besättning [7, 15, 18]. En av besättningarna med två subtyper var en förmedlingsbesättning, och resultatet är därför inte förvånande. Den ökande storleken på mjölkbesättningar i Sverige innebär sannolikt en ökad förflyttning av djur, vilket kan komma att påverka subtyps-mönstret.

Den högre förekomsten av SF IIa (136 prover jmf 40 prover för IId, Tabell 1) kan indikera högre patogenicitet eller helt enkelt en bättre anpassning till värdjuret. SF IIa har dominerat i ett antal studier från olika delar av världen [7, 8, 11, 15, 16, 18-22]. Skillnad i patogenicitet har rapporterats för *C. hominis*, där SF Id men inte Ia, Ie eller If var associerad med diarré [23]. I denna studie var SF IIa signifikant associerad med vattentunn diarré jämfört med SF IId, och det var en tendens mot högre oocystnivåer hos kalvar med SF IIa.

Proverna med blandinfektion skulle ha kunnat räknas som en egen grupp vid den statistiska analysen, men placerades i *C. bovis*-gruppen av tre orsaker: **1)** *C. bovis* var den dominerande arten enligt 18S rRNA-analysen. **2)** Eftersom det inte RFLP inte användes för prover som gav utslag för *C. parvum* primärt är det okänt om *C. bovis* fanns i mindre mängd i några av de proven, och denna grupp kan också innehålla prover med blandinfektion. **3)** En analys av ålder och utsöndringsnivåer jämförde dessa prov med de som hade ren *C. bovis*-infektion.

Saltflotationsmetoden möjliggör detektion av infektion redan vid utsöndringsnivåer på 50-100 OPG [9]. Metoden är känsligare än mikroskopi på färgade direktutstryk, vilket gjorde det möjligt att sälla bort eventuella falska positiva prover (även annat, ex pollen, kan fluorescera, och då är det lättare att missbedöma ett direktutstryk). I rutindiagnostiken utförs analysen av ett flertal personer, medan oocysträkningen på de renade proverna i denna studie utförts av en och samma person, vilket ger ett mer konsekvent resultat. Känsligheten på rutindiagnostikens metod med direktutstryk och infärgning är inte fastställd men våra resultat visar att den är mindre känslig än vår koncentrationsmetod och att det finns risk för falskt positiva prover. Rutindiagnostiken är dock tillräckligt känslig för att bedöma kliniskt relevanta prover. De prover som ansågs som negativa av rutindiagnostiken analyserades inte vidare eftersom rutindiagnostiken är fullt tillräcklig för att upptäcka kliniskt relevanta prover, medan saltflotationen även kan plocka upp subkliniska infektioner, vilket vi inte var intresserade av.

### **Slutsatser**

*C. parvum* är den dominerande kryptosporidiearten på kalvar med diarré i besättningar med diarréproblematik, vilket står i skarp kontrast till kryptosporidieinfektioner på kalvar i allmänhet i Sverige. Därför behöver artbestämning inte inkluderas i rutindiagnostiken för att vi ska kunna bedöma den kliniska relevansen av en kryptosporidieinfektion hos en diarrésjuk kalv.

Dominansen av *C. parvum*, särskilt i perioden när klinisk kryptosporidios är vanligast förekommande och högre OPG stödjer att denna art är mer patogen än *C. bovis*. Den möjliga patogena potentialen hos *C. bovis* är dock värd vidare utredning. Högsta ålder för när analys av kryptosporidier hos diarrékalvar är värd att göra kan minskas från två månader till sex veckor.

Zoonosrisken vid kontakt med kryptosporidieinfekterade kalvar i besättningar med diarréproblematik är stor, men risken gäller människor som inte rutinmässigt hanterar kalvar.

Eftersom *C. parvum* är den art som framför allt orsakar problem behöver inte hänsyn till eventuella olika symtom eller smittorisk för olika arter bedömas vid rådgivning. Att åldersspannet för när infektionen är viktig verifierats för svenska kalvar ger också veterinärerna ett bättre redskap för klinisk bedömning utifrån kalvens ålder.

## Publikationer

**Silverlås, C., Bosaeus-Reineck, H., Näslund, K., Björkman, C.** Is there a need for improved *Cryptosporidium* diagnostics in Swedish calves? *International Journal for Parasitology* 43 (2013) 155–161

Data är under bearbetning för ytterligare en publikation avseende kryptosporidier och övriga diarrépatogener i relation till varandra. Denna publikation kommer även att inkludera de besättningar som ej efterfrågade kryptosporidier under studietiden, för att vi ska kunna göra en bedömning av hur problematiken skiljer sig (utifrån efterfrågade analyser och på remissen angiven symptombild). Artikeln är tänkt för *Acta Vet Scand*

## Övrig resultatförmedling till näringen

**Charlotte Silverlås**, Kerstin de Verdier, Camilla Björkman: Is there a need for improved *Cryptosporidium* diagnostics in Swedish calves? Muntlig presentation vid konferensen Apicowplexa, Lissabon 25-28 oktober 2012. Proceedings finns på usb-minne

**Björkman** och Silverlås: Djurhälso- & utfodringskonferensen i Uppsala 21-22 augusti 2012

**Charlotte Silverlås** förmedlade resultaten vid SVAs projektråd i oktober 2012, där olika aktörer i produktionsdjursnäringen, bl. a Svenska Djurhälsovården, deltar

**Charlotte Silverlås** inkluderade även resultaten i ett föredrag vid SMI i november 2012. Föredraget handlade om kryptosporidier och nötkreatur samt zoonosrisker

Information angående resultaten förmedlas kontinuerligt till praktiserande veterinärer som ringer SVA eller Idisslarmedicin vid SLU för rådfrågning om kalvar och diarréproblem.

## Referenser

1. Björkman C, Svensson C, Christensson B, de Verdier K: ***Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden.** *Acta Vet Scand* 2003, **44**(3-4):145-152.
2. Broglia A, Reckinger S, Caccio SM, Nockler K: **Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in Germany.** *Vet Parasitol* 2008, **154**(1-2):8-13.
3. Brook EJ, Anthony Hart C, French NP, Christley RM: **Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* subtypes in cattle in England.** *Vet J* 2009, **179**(3):378-382.
4. Fayer R, Santin M, Trout JM: **Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations.** *Vet Parasitol* 2007, **145**(3-4):260-266.
5. Plutzer J, Karanis P: **Genotype and subtype analyses of *Cryptosporidium* isolates from cattle in Hungary.** *Vet Parasitol* 2007, **146**(3-4):357-362.
6. Santín M, Trout J, Xiao L, Zhou L, Greiner E, Fayer R: **Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves.** *Vet Parasitol* 2004, **122**:103-117.
7. Trotz-Williams LA, Martin DS, Gatei W, Cama V, Peregrine AS, Martin SW, Nydam DV, Jamieson F, Xiao L: **Genotype and subtype analyses of *Cryptosporidium* isolates from dairy calves and humans in Ontario.** *Parasitol Res* 2006, **99**(4):346-352.
8. Silverlås C: ***Cryptosporidium* Infection in Dairy Cattle - Prevalence, species distribution and associated management routines.** *PhD thesis.* Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences; 2010.
9. Andersson S: **Kryptosporidieinfektion hos nötkreatur - Utvärdering av en ny metod för påvisande av subklinisk infektion.** *Master of Veterinary Medicine thesis.* Swedish University of Agricultural Sciences; 2004.



10. Langkjaer RB, Vigre H, Enemark HL, Maddox-Hyttel C: **Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from pigs and cattle in Denmark.** *Parasitol* 2006, **89**(11):1-12.
11. Thompson HP, Dooley JS, Kenny J, McCoy M, Lowery CJ, Moore JE, Xiao L: **Genotypes and subtypes of *Cryptosporidium* spp. in neonatal calves in Northern Ireland.** *Parasitol Res* 2007(100):619-624.
12. Radostits OM: **The principles of control of infectious diseases of calves under 30 days of age.** In: *XXI World Buiatrics Congress 4-8 Dec 2000; Punta del Este, Uruguay; 2000.*
13. Santín M, Trout JM: **Livestock.** In: *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis.* 2 edn. Edited by Fayer R, Xiao L. Boca Raton: CRC Press; 2008: 450-484.
14. Sanford SE, Josephson GK: **Bovine Cryptosporidiosis: Clinical and Pathological Findings in Forty-two Scouring Neonatal Calves.** *Can Vet J* 1982, **23**(12):343-347.
15. Brook E, Hart CA, French N, Christley R: **Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp. infection in young calves.** *Vet Parasitol* 2008, **152**(1-2):46-52.
16. Misić Z, Abe N, Ng J, Pavlasek I, Ryan U: **Subtype analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates from calves on farms around Belgrade, Serbia and Montenegro, using the 60 kDa glycoprotein gene sequences.** *Parasitol* 2006, **37**(5):1-8.
17. Soba B, Logar J: **Genetic classification of *Cryptosporidium* isolates from humans and calves in Slovenia.** *Parasitology* 2008, **135**(11):1263-1270.
18. Peng MM, Wilson ML, Holland RE, Meshnick SR, Lal AA, Xiao L: **Genetic diversity of *Cryptosporidium* spp. in cattle in Michigan: implications for understanding the transmission dynamics.** *Parasitol Res* 2003, **90**(3):175-180.
19. Alves M, Xiao L, Antunes F, Matos O: **Distribution of *Cryptosporidium* subtypes in humans and domestic and wild ruminants in Portugal.** *Parasitol Res* 2006, **99**(3):287-292.
20. Alves M, Xiao L, Sulaiman I, Lal AA, Matos O, Antunes F: **Subgenotype analysis of *Cryptosporidium* isolates from humans, cattle, and zoo ruminants in Portugal.** *J Clin Microbiol* 2003, **41**(6):2744-2747.
21. Wu Z, Nagano I, Boonmars T, Nakada T, Takahashi Y: **Intraspecies polymorphism of *Cryptosporidium parvum* revealed by PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) and RFLP-single-strand conformational polymorphism analyses.** *Appl Environ Microbiol* 2003, **69**(8):4720-4726.
22. Xiao L, Zhou L, Santin M, Yang W, Fayer R: **Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in eastern United States.** *Parasitol Res* 2007, **100**(4):701-706.
23. Cama VA, Ross JM, Crawford S, Kawai V, Chavez-Valdez R, Vargas D, Vivar A, Ticona E, Navincopa M, Williamson J *et al*: **Differences in clinical manifestations among *Cryptosporidium* species and subtypes in HIV-infected persons.** *J Infect Dis* 2007, **196**(5):684-691.