

Projekttitel: Kalks effekt på kryptosporidier och kalvhälsa – ett fältförsök

Projektnummer: V1430019

Rapportens författare: Camilla Björkman & Catarina Svensson

Bakgrund

Kvigkalvarna är mjölkbesättningens framtid och att de är friska är en av hörnstenarna för en hållbar mjölkproduktion. En av de vanligaste sjukdomarna hos unga kalvar är diarré [1, 2]. Diarréer är speciellt vanligt förekommande under kalvarnas första tre veckor kan orsaka uttorkning och nedsatt aptit. Kalvar med diarré kan växa sämre under en tid och ibland är tarmskadorna så allvarliga att det leder till varaktigt sämre tillväxt [3]. Kalvdiarré är dock en sjukdom som till stor del kan förebyggas genom goda och väl fungerande skötselrutiner.

Den encelliga parasiten *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) är en vanlig orsak till kalvdiarré i Sverige och utomlands [4, 5]. Parasitens livscykel omfattar olika utvecklingsstadier i tarmcellerna hos infekterade individer. Så småningom utsöndras den med avföringen som mikroskopiska så kallade oocystor, som är det smittsamma stadiet av parasiten. Under sjukdomsfasen utskiljer en kalv miljontals oocystor och kan på så sätt sprida infektionen såväl inom besättningen som till omgivningen. Oocystorna är mycket tåliga i stallmiljö och okänsliga mot traditionella desinfektionsmedel (t.ex. Virkon) i de doser som vanligtvis rekommenderas ur hälsosynpunkt. Kombinationen låg infektionsdos, hög utsöndring och hög tålighet i miljön gör att ett högt infektionstryck snabbt kan byggas upp och bidra till att kalvsjukligheten blir hög [6]. Dessa förutsättningar innebär också att kalvdiarréproblem relaterade till kryptosporidios är särskilt svåra att åtgärda under praktiska fältförhållanden. Förutom att *C. parvum* påverkar kalvhälsan negativt så är det en zoonos, d.v.s. smittan kan spridas från djur till människor [7].

Släckt kalk och dess effekt på kryptosporidier

Kalk höjer pH kraftigt och torr släckt kalk används ibland som desinfektionsmedel mot bakterier och virus. Det har också visats att släckt kalk i vattenlösning i viss mån har en avdödande effekt på kryptosporidier [8]. Torr släckt kalk är billigt och strös lätt ut på underlaget. Om det fungerar för att avdöda kryptosporidier skulle djurägarna ha ett enkelt och effektivt sätt att desinficera kalvboxarna, och minska smittrycket i besättningar med kryptosporidie-orsakade diarréproblem hos kalvarna. Ännu finns inga studier gjorda på effekten av kalk på kryptosporidier i stallmiljö. En svensk studie (SLF H1150243) visar dock att torr släckt kalk har en avdödande effekt på kryptosporidier i laboriemiljö. Oocystor placerades på objektglas och plywoodplattor som sedan beströks med släckt kalk i olika koncentrationer som fick verka under 1-48 timmar. Kalkkoncentrationen och exponeringstiden hade var för sig betydelse för överlevnaden, men exponeringstiden var det som hade störst effekt. När 100 gram kalk/m² fick verka under 16 timmar överlevde mindre än 3 % av oocystorna [9].

Med en referens om kalks effekt på oocystor i vattenlösning och de preliminära resultaten från ovanstående studie som grund har vi, i samverkan med Gård och Djurhälsan, rekommenderat två besättningar med långvariga kalvdiarréproblem orsakade av *C. parvum*, och där 90-100% av kalvarna insjuknade de första levnadsveckorna, att prova att strö kalvboxarna med släckt kalk som komplement till de åtgärder man tidigare vidtagit och som inte lett till bättre kalvhälsa. I båda besättningarna såg man en minskning av antalet insjuknade kalvar och upplevde även att diarrén blir mindre kraftig. Detta indikerar att torr släckt kalk har en avdödande effekt på kryptosporidier i stallmiljö. Resultaten behövde dock styrkas med en kontrollerad studie.

Målsättning

Målet med denna studie var att undersöka om släckt kalk är effektivt för att sänka smittrycket av kryptosporidier i besättningar med omfattande diarréproblem hos kalvarna.

Material och metoder

Mjölkkobesättningar rekryterades till studien med hjälp av veterinärer hos Växa Sverige. För att en besättning skulle vara aktuell att ingå krävdes att besättningen hade pågående kalvdiarréproblem, att minst 20 % av besättningens kalvar fick diarré före 3 veckors ålder och att diarréproblemet pågått i minst 2 månader. Kryptosporidier skulle ha påvisats och bedömts vara en viktig orsak till sjukdomsproblemen. Vidare skulle de nyfödda kalvarna hållas i enkalvsbox i 2-4 veckor innan de flyttades vidare till gruppbox. Dessutom skulle kalvavdelningen ha en sådan utformning att kalvboxarna kunde grupperas i en försöks- respektive försöksdel och att man inte använde släckt kalk, Stalosan eller liknande medel för desinfektion av kalvavdelningen. Ägarna till tänkbara försöksbesättningar intervjuades om gårdens djurhantering och kalvhälsoproblem med hjälp av ett för detta ändamål utformat frågeformulär. Innan det slutligen bestämdes om en besättning skulle ingå, togs träckprover från fem kalvar under 3 veckors ålder och analyserades med avseende på *Cryptosporidium* spp, rotavirus och coronavirus. Endast besättningar där *Cryptosporidium* spp men inget rotavirus och coronavirus påvisades accepterades.

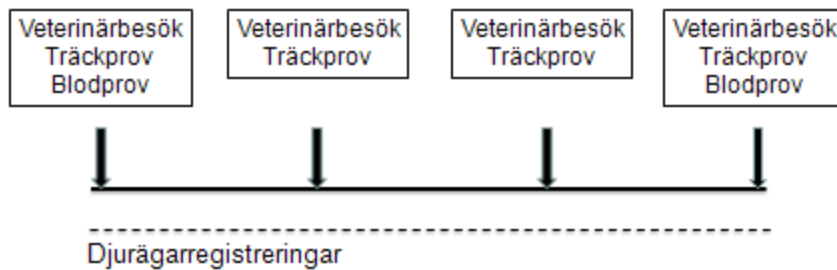
Fyra besättningar ingick i studien och varje besättning deltog under 6-7 månader. Under denna tid besöktes de av veterinär varannan månad, det vill säga fyra gånger. Vid det första besöket gjordes en noggrann genomgång av diarréproblemets omfattning och de utfodrings- och rengöringsrutiner som användes i kalvavdelningen. I samråd gjorde veterinär och djurägare en plan över hur kalvboxarna skulle grupperas för att bilda en försöks- respektive kontrolldel samt hur kalvarna skulle sättas in i de aktuella boxarna. Vilken del som sedan användes som kontroll- respektive försöksdel hölls dock okänt för veterinären.

Under försökets gång användes släckt kalk som desinfektion av enkalvsboxarna/hyddorna i försöksdelen. När boxarna rengjorts enligt ordinarie rutiner i besättningen strödde djurägaren släckt kalk på golv och väggar och lät kalken verka i minst 24 timmar. Innan en ny kalv sattes in borstades det mesta av kalken på väggarna ner på golvet och varefter boxen/hyddan ströddes med halm. I den andra hälften av boxarna får boxarna stå tomma under motsvarande tid efter rengöringen men utan att kalk tillförs (kontrollgrupp).

Registrering och provtagning

Djurägarna fick färdiga försöksprotokoll (kalvkort) att fylla i för varje kalv som föddes under studiens gång. På kalvkortet noterade djurägaren kalvens identitetsnummer, födelsedatum, datum när den flyttades från kon till kalvboxen och om den placerades i försöks- eller kontrollavdelningen. Vidare registrerades om kalven fick diarré, hur gammal den var när diarrén först upptäckts, antal sjukdomsdagar, eventuell påverkan på aptit och allmäntillstånd, eventuell behandling samt om kalven dog eller avlivades som ett resultat av diarré. Om kalven dog eller avlivades p.g.a. av annan orsak samt datum när den flyttades till gruppbox registrerades också

Vid samtliga veterinärbesök gjorde veterinären en förenklad klinisk undersökning av alla kalvar upp till 4 veckors ålder. Avföringens konsistens graderades och dehydreringsgrad registrerades. Dessutom gjordes en hullbedömning av alla 2-4 och 6-8 veckor gamla kalvar vid besöket. Då togs också träck- och blodprover enligt figuren nedan. Veterinären och djurägaren gick tillsammans igenom hälsoläget hos kalvarna och de registreringar som gjorts sedan det förra besöket.



Träckprover togs från fem kalvar yngre än 21 dagar i vardera behandlingsgrupp (försök och kontroll) för påvisande av kryptosporidier och eventuella andra diarréagens. Blodprover togs från fem kliniskt friska 2-7 dagar gamla kalvar för analys av totalprotein (TP) som ett mått på passiv immunitet.

Laboratorieanalyser

Samtliga träckprover analyserades med avseende på förekomst av kryptosporidier, och oocystorna räknades [10]. Proverna lämnades till SVA där de analyseras med avseende på förekomst av rotavirus och coronavirus. Samtliga kryptosporidie-positiva prover från veterinärbesök 1 och 4 undersöktes vidare med molekylärbioologiska metoder för att identifiera kryptosporidieart och *C. parvum* subtyp. För att identifiera vilken art det var undersöktes 18S rRNA-genen [11] och gp60-genen undersöktes för att fastställa *C. parvum* subtyp [12]. Blodproverna analyseras med refraktometer för totalprotein (TP).

Databearbetning

De olika registrerade hälsoparametrarna och förekomst av kryptosporidier jämfördes mellan försöks- och kontrollgrupp med olika statistiska metoder. Besättning inkluderades i samtliga analyser som slump effekts-variabel (random effect variable). Kön inkluderades till en början som oberoende variabel men då det visat sig att den hade mycket liten påverkan på resultaten så uteslöts den. Ras och Inhysningssystem (box eller hydda) uteslöts också då de var associerade med Besättning.

Eventuella samband mellan kalkbehandling och de binära variabelerna Ålder vid diarré (ja/nej) baserat på djurägarnas registreringar samt Ålder vid diarré (ja/nej), Allmäntillstånd (nedsatt/ej nedsatt) och Dehydrering (ja/nej) baserade på veterinärernas observationer undersöktes med logistisk regression. Samma metod användes också för att undersöka Oocystor ≥ 50 OPG och "Oocystor $\geq 45,000$ OPG.

De kontinuerliga variabelerna Ålder vid insjuknande och Sjukperiod baserade på djurägarnas observationer undersöktes med generella linjära modeller (general linear models, GLM).

Variabeln Svårighet är baserad på djurägarens observationer och har tre kategorier; 1= diarré men ingen påverkan på allmäntillstånd eller aptit, 2= diarré och nedsatt allmäntillstånd eller nedsatt aptit och 3= diarré, nedsatt allmäntillstånd och nedsatt aptit. Analysen utfördes med en så kallad Proportional odds model (POM).

Etiskt godkännande

Etiskt godkännande för studien beviljades av Regionalt Etisk granskningsråd i Uppsala (Referensnummer C159/14).

Resultat

De fyra besättningar som ingick i studien hade 150-332 kor och medelavkastningen ar 9.000 - 11.960 kg energikorrigerad mjölk/år. I alla besättningarna hade kalvdiarréproblem som pågått under flera år. Djurägarna uppskattade att sjukligheten hos de 0-60 dagar gamla kalvarna varit 33-100 % under de senaste 6 månaderna. Vid de intervjuer som genomfördes innan projektstarten framkom att kalvarna vanligtvis var tillsammans med sina mödrar upp till ett dygn innan de flyttades enkalsboxar inomhus eller enkalshyddor utomhus (två besättningar hade enkalsboxar inomhus, en hade enkalshyddor utomhus och en hade både boxar och hyddor). Vid 2-4 veckors ålder flyttades de vidare till gruppbox (Tabell 1).

Totalt föddes 422 kalvar i de fyra besättningarna under den tid studien pågick, varav 20 uteslöts antingen därför att kalvkorten var ofullständigt ifyllda eller för att det inte varit någon tomperiod innan kalven placerades i boxen/hyddan. Således inkluderades 402 kalvar varav 196 var inhysta i försöksboxar eller -hyddor (hädanefter benämnda försöksboxar) och 206 i kontrollboxar eller -hyddor (hädanefter benämnda kontrollboxar).

Djurägarnas registreringar på kalvkorten i de olika besättningarna presenteras i Tabell 2. Diarré noterades hos totalt 214 (53 %) kalvar; samma andel både hos kalvar som stått i kalkade och okalkade boxar. Medelåldern hos kalvarna när diarré först upptäcktes var 8.3 dagar och diarrén varade i snitt 3.9 dagar (median 3 dagar).

Den uppskattade åldern vid insjuknande var signifikant högre hos kalvar i försöksboxarna än hos kalvar i kontrollboxarna; 9,7 dagar +/- 1,3 jämfört med 8,2 dagar +/- 1,3 ($p < 0,001$). Det var ingen skillnad mellan grupperna när det gäller övriga djurägarregistrerade variabler nämligen 'Diarré, Sjukperiod och Svårighet (Tabell 3). Det var inte någon skillnad mellan grupperna i de kliniska fynd som registrerades av veterinärerna (Tabell 4)

Avföringsprover togs från 95 kalvar. *Cryptosporidium*-positiva prover återfanns i alla fyra besättningar och vid samtliga provtagningstillfällen. *Cryptosporidium* spp påvisades i 79 (83 %) prover och oocystnivån i de positiva proverna varierade mellan 50 och 126×10^6 OPG, med ett medianvärde på 52.350 OPG. Det var ingen skillnad mellan försöks- och kontrollgrupp när det gäller förekomst av oocystor varken på oocyst-nivå ≥ 50 OPG eller ≥ 45.000 OPG (Tabell 5).

När samtliga *Cryptosporidium*-positiva prover från första och sista provtagningen undersöktes med molekylärbiologiska metoder så var *C. parvum* den art som dominerade (45/52 prover; 87 %). Två olika *C. parvum* subtyper identifierades; IIAA16G1R1 i tre besättningar och IIAA16G1R1b_variant i en besättning. Det var bara en subtyp som återfanns i besättningen och samma subtyp återfanns vid den första och sista provtagningen.

Rotavirus påträffades vid enstaka tillfällen i alla besättningar, och i både försöks-och kontrolldjur. Coronavirus påträffades inte.

Totalproteinvärdena var i snitt 58,5 g/l (46-70 g/l, SEM=6.81), och skiljde sig inte mellan första och sista provtagningen. ($p > 0,05$).

Diskussion

I denna studie fann vi ingen skillnad i andelen kalvar som fick diarré mellan de som inhysts i enkalvsboxar/-hyddor som behandlats med släckt kalk och boxar/hyddor som inte behandlats. Dock var kalvarna i de kalkbehandlade boxarna/hyddorna 1,5 dygn äldre när de fick diarré vilket är en tydlig indikation på att smittrycket var lägre i de kalkade boxarna.

Den nyfödda kalven behöver få i sig tillräckligt med antikroppar från råmjölken för att förebygga sjukdom. Totalproteinvärdet i blodserum kan användas som ett mått på kalvens råmjölksupptag och bör vara över 55 g/l [13]. Även om medelvärdet var högre än så vid både första och sista provtagningen har samtliga besättningar individer med lägre totalproteinvärde vilket indikerar att bristande råmjölksupptag kan vara en del av diarréproblematiken. I dessa besättningar där smittrycket är högt vore det önskvärt att totalproteinnivån hos de unga kalvarna var >65 g/l.

Resultaten i denna studie stöder slutsatsen av Zintl och medarbetare [8] att även om kalkbehandling minskar mängden oocystor i strömmaterial så är det inte något snabbt sätt att bli av med dem. För att behandlingen ska ha effekt så måste den upprepas vid flera tillfällen och under en längre tid.

Besättningarna som ingick i denna studie hade olika rutiner för hur ofta enkalvsboxarna rengjordes och hur det gick till. Inredningen i kalvboxarna påverkade också möjligheten till en effektiv rengöring.

Nyligen publicerades en japansk rapport om hur man lyckosamt sanerat en besättning som haft svåra kalvdiarréproblem med kalvar som dog under 10 års tid [14]. Man tömde kalvstallet, bytte ut alla väggar mellan kalvboxarna och gjorde noggrant rent flera gånger med kokande vatten. Därefter strök man med släckt kalk upplöst i vatten (kalkmjölk). Två år senare hade inga ytterligare kalvar dött och man hade inte detekterat *C. parvum* trots upprepad provtagning.

C. parvum förekommer i många nötbesättningar och enskilda fynd av kalvar med *C. parvum* i låga nivåer behöver inte innebära att kalvarna blir sjuka om man lyckas hålla smittrycket nere. I en studie där man experimentellt infekterade kalvar med *C. parvum* undersöktes om det finns något samband mellan antalet oocystor i träcken och förekomst av kliniska symtom [15]. De drog slutsatsen att 45.000 OPG kan användas för att särskilja klinisk kryptosporidios och subklinisk infektion. Den metod vi använde är så känslig att den ger utslag redan på 50 OPG. I bearbetningen använde vi oss av både 50 OPG och 45.000 OPG för att bättre tolka våra resultat. Det kan vara värt att notera att de metoder som vanligtvis används för att påvisa kryptosporidieinfektion, t.ex. i Kalvpaketet, har en betydligt lägre känslighet vilket gör att en kalv måste utsöndra stora mängder innan det ger utslag i testen. Detta tillsammans med att man provtar ett flertal kalvar i en grupp underlättar när man bedömer den kliniska betydelsen av positiva och negativa provsvar.

Det finns ett stort antal olika subtyper *C. parvum*. Dessa bestäms av skillnader i den s.k. GP60-genen. Den subtyp, IIAA16G1R1, som vi hittade i tre av besättningarna är den vanligaste i Sverige både hos kalvar [5] och hos människor. Den har visats vara associerad med flera sjukdomsutbrott hos människor, bl.a. ett som år 2013 inträffade hos veterinärstudenter [16]. Den andra subtypen, kallad IIAA16G1R1b_variant, är ovanligare och påvisades i Sverige först under försommaren 2015 när det inträffade två kryptosporidieutbrott i samband med kosläpp <https://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/statistikdatabaser-och-visualisering/sjukdomsstatistik/cryptosporidiuminfektion/arsrapporter-och-kommentarer/2015/>. Sekvensen är publicerad i GenBank (KT895368.1).

Publikationer och presentationer

- Projektet finns upplagt på institutionen kliniska vetenskapers webbsida <https://www.slu.se/institutioner/kliniska-vetenskaper/forskning/not-och-mjolk/>
- Det presenterades på Växas vårmöte (2015) under rubriken Kryptosporidieinfektion hos kalvar.
- Björkman C & Svensson C. (2017) Can disinfection with slaked lime help control cryptosporidiosis in calves? Abstract accepterat för posterpresentation på 4th International Meeting on Apicomplexa in Farm Animals, 11-14 October 2017 - Madrid, Spain. Tyvärr fick jag sent förhinder att delta i konferensen så postern kunde inte visas.
- Manuskript under bearbetning. Björkman C, von Brömssen C, Troell K & Svensson C. Can disinfection with slaked lime help control cryptosporidiosis in calves?

Slutsatser (gällande nytta med råd till näringen)

Studien visar att kalkning av enkalvsboxar mellan kalvarna inte räcker som enskild åtgärd för att undvika kryptosporidios i besättningar med allvarliga kalvdiarréproblem. Att kalvarna i de kalkade boxarna insjuknade mer än ett dygn senare visar dock att åtgärden hade effekt på parasiterna även om den inte var tillräckligt effektiv för att minska smittrycket till en sådan nivå att kalvarna inte blev sjuka. Vi bedömer att det kan vara ett värdefullt komplement till andra åtgärder som rekommenderas för att åtgärda kalvdiarréproblem. Dessa inkluderar att optimera råmjölksrutinerna, att göra noggrant rent i boxen innan en ny kalv sätts in och låta boxen torra ordentligt mellan kalvarna. För att få bäst effekt av kalkningen bör kalken få verka längre än de 24 timmar som vi lyckades åstadkomma i denna studie.

Resultatförmedling till näringen

En längre sjukskrivning i projektgruppen har gjort att resultatbearbetningen försenats och nyligen avslutats. Därför har vi inte hunnit fram till att redovisa resultaten. Vi räknar dock med att presentera dem i Svensk Veterinärtidning och tidskriften Husdjur. I samband med projektstarten presenterades studien på Växas vårmöte 2015 (C. Björkman). Preliminära resultat har presenterats på lantbrukar- och veterinärdagar med fokus på kalvdiarré som anordnades under hösten 2017 av läkemedelsföretaget MSD (C. Svensson).

Referenser

1. Gulliksen, S.M., et al., *Calf health monitoring in Norwegian dairy herds*. Journal of Dairy Science, 2009. **29**(4): p. 1660-1669.
2. Svensson, C., et al., *Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases*. Preventive Veterinary Medicine, 2003. **58**: p. 179-197.
3. Radostits, O.M., et al., *Diseases of the newborn*, in *Veterinary Medicine*. 2007, W.B. Saunders Company Ltd: London. p. 127-160.
4. Blanchard, P.C., *Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea*. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 2012. **28**(3): p. 443-464.
5. Silverlås, C., et al., *Is there a need for improved Cryptosporidium diagnostics in Swedish calves?* International Journal for Parasitology, 2013. **43**: p. 155-161.
6. Santin, M. and J.M. Trout, *Livestock*, in *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*, R. Fayer and D. Xiao, Editors. 2008, Taylor and Francis Group: Boca Raton. p. 451-483.

7. Fayer, R. and L. Xiao, eds. *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. 2nd ed. 2008, CRC Press: Boca Raton. 560.
8. Zintl, A., et al., *Survival of Cryptosporidium parvum oocysts in the presence of hydrated lime* Veterinary Record, 2010. **166**(10): p. 297-300.
9. Oweson, C., *Släckt kalk som desinfektion mot kryptosporidier*. Slutrapport H1150243, 2013.
10. Silverlås, C., et al., *Prevalence and associated management factors of Cryptosporidium shedding in 50 Swedish dairy herds*. Preventive Veterinary Medicine, 2009. **90**: p. 242-253.
11. Santín, M., et al., *Prevalence and age-related variation of Cryptosporidium species and genotypes in dairy calves*. Veterinary Parasitology, 2004. **122**: p. 103-117.
12. Alves, M., et al., *Subgenotype analysis of Cryptosporidium isolates from humans, cattle, and zoo ruminants in Portugal*. Journal of Clinical Microbiology, 2003. **41**(6): p. 2744-2747.
13. Tyler, J.W., et al., *Detection of low serum immunoglobulin concentrations in clinically ill calves*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 1999. **13**: p. 40-43.
14. Matsuura, Y., et al., *Report of fatal mixed infection with Cryptosporidium parvum and Giardia intestinalis in neonatal calves*. Acta Parasitologica, 2017. **62**(1): p. 2104-220.
15. Operario, D.J., et al., *Correlation between diarrhea severity and oocyst count via quantitative PCR or fluorescence microscopy in experimental cryptosporidiosis in calves*. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2015. **92**(1): p. 45-49.
16. Kinross, P., et al., *Cryptosporidium parvum infections in a cohort of veterinary students in Sweden*. Epidemiology and Infection, 2015. **143**(13): p. 2748-2756.

Tabell 1. Bakgrundsinformation om 4 mjölkbesättningar insamlad via intervju innan besättningarna inkluderades i en studie om effekten av släckt kalk för att minska smittryck avseende *Cryptosporidium parvum*

	Besättning 1	Besättning	Besättning 3	Besättning 4
Antal årskor	332	222	150	165
Medelavkastning (kg energikorrigerad mjölk)	11960	9156	9000	10381
Tid som kalvar går med kon (timmar)	<5	4-12	24	5-12
Tillförselsätt samt mängd råmjölk (liter) vid första målet (tillförselsätt)	Ges av djurskötare; 2-4	Ges av djurskötare; 4-5	Ges av djurskötare; 2,5-3	Kalven diar eller ges av djurskötare; 3
Mängd råmjölk första dygnet utöver första givan (liter)	5	5-6	3	3
Antal dagar kalven får råmjölk eller övergångsmjölk (dagar)	>4	4	4	1.5-2
Typ av individuell inhysning	Boxar inomhus	Boxar inomhus och kalvhyddor utomhus	Kalvhyddor utomhus	Boxar inomhus
Tid i individuell inhysning (före flytt till gruppbox) (veckor)	1-2	2-3	1-2	3-4
Intervall mellan rengöringstillfällen av boxar/hyddor	Mellan varje kalv	Mellan varje kalv	Mellan varje kalv	7-9 dagar
Tomtid innan insättning av ny kalv (dagar)	2-3	2-3	7	≤ 1
Tidpunkt för tvättning (vatten) av boxar/hyddor	Snabbtvätt före insättning av varje ny kalv	1-2 ggr/år	Före insättning av varje ny kalv	1-2 ggr/år
Torktid efter tvätt			4-5 dagar	1 vecka
Årlig tvätt av boxar/hyddor	ja	nej	ja	ja
Användning av desinfektionsmedel i boxar/hyddor	nej	nej	nej	nej
Kalvdödighet 1-60 dagar – median senaste 12 månaderna (%)		0,6	7,6	8
Spädkalvsdiarré senaste 6 månaderna				
Förekomst (andel av kalvarna %)	100	33-50	50	50
Andel av kalvarna med diarré som har påverkat allmäntillstånd eller nedsatt aptit (%)	5-10	10	>25	>25
Tid med kalvdiarréproblem	14 år	Flera år	Flera år	Flera år
Var inhyses kalvarna när de insjuknar	enkalvsboxar	enkalvsboxar	Enkalvsboxar, ej hyddor	kalvningsbox
Ålder vid diarré	2-10 dagar	1,5-2 veckor	0-2 veckor	0-2 veckor

Tabell 2. Djurägarnas registreringar av 402 kalvar i fyra mjölkbesättningar i en studie om effekten av släckt kalk för att minska smittrycket avseende *Cryptosporidium parvum*

	Besättning 1		Besättning 2		Besättning 3		Besättning 4	
Tidsperiod	nov 2014 - maj 2015		dec 2014 – juni 2015		okt 2015 – maj 2016		dec 2015 – juni 2016	
Antal kalvar	155		112		67		68	
	Försöksgrupp ¹ (n=76)	Kontrollgrupp ¹ (n=79)	Försöksgrupp ¹ (n=50)	Kontrollgrupp ¹ (n=62)	Försöksgrupp ¹ (n=35)	Kontrollgrupp ¹ (n=32)	Försöksgrupp ¹ (n=35)	Kontrollgrupp ¹ (n=33)
Kön (tjur/kviga)	38/38	41/46	28/22	37/25	15/20	13/19	15/20	21/12
Diarré (nej/ja)	23/53	22/57	31/19	38/24	22/13	20/12	16/19	16/17
Ålder vid insjuknande, dagar (medel; CI)	7.13;6.58,7.68	6.37; 5.57,7.17	14.21; 11.70,16.72	11.33; 9.87, 12.79	9.23; 6.68,11.77	8.17; 6.44,9.90	9.00; 7.26,10.75	6.24; 4.13,8.34
Sjukperiod, dagar (median; 25%,75%)	3; 2,4	3; 2,4	5; 4,6	5; 4,10	4; 4,6	3; 2,6	2; 2,4	4; 2,7
<i>C. parvum</i> status I <200/≥200 OPG	2/14	1/12	3/10	4/12	1/10	2/8	3/6	0/7
<i>C. parvum</i> status II <45,000/≥45,000 OPG	6/10	10/3	5/8	6/10	6/5	2/8	7/2	3/4

¹Försöksgrupp = kalvar i enkalsboxar som gjorts rent, sprejats med släckt kalk och sedan lämnats tomma under minst 24 timmar; Kontrollgrupp = kalvar i enkalsboxar som gjorts rent och lämnats tomma under minst 24 timmar

Tabell 3. Jämförelse av olika sjukdomsparametrar registrerade av djurägare mellan kalvar inhysta i enkalvsboxar eller –hyddor som behandlats med slack kalk (Försöksgrupp) och kalvar som inhysts i obehandlade enkalvsboxar – hyddor (Kontrollgrupp). Besättning inkluderades i samtliga modeller som slumpeffekts-variabel (random effect variable)

Diarré	Antal kalvar	Uppskattad andel	OR	95% CI	p	Logistisk regression
Försöksgrupp	196	0.500	0.970	0.644 – 1.461	0.8834	
Kontrollgrupp	206	0.507				
Ålder vid insjuknande	Antal kalvar	Uppskattade dagar (medel)	SEM	t-värde	p	General linear model
Försöksgrupp	104	9.716	1.339	3.39	0.0008	
Kontrollgrupp	110	8.166	1.338			
Sjukperiod	Antal kalvar	Uppskattade log dagar (medel)	SEM	t-värde	p	General linear model
Försöksgrupp	95	1.234	0.160	-1.05	0.2933	
Kontrollgrupp	103	1.313	0.159			
Svårighet	Antal kalvar		OR	95% CI	P	Proportional odds model
Försöksgrupp	104		0.834	0.500 – 1.391	0.4844	
Kontrollgrupp	110					

Tabell 4. Jämförelse av kliniska fynd observerade av veterinär mellan kalvar inhysta i enkalvsboxar eller –hyddor som behandlats med slack kalk (Försöksgrupp) och kalvar som inhysts i obehandlade enkalvsboxar – hyddor (Kontrollgrupp). Besättning inkluderades i samtliga modeller som slumpeffekts-variabel (random effect variable)

Nedsatt allmäntillstånd	Antal kalvar	Uppskattad andel	OR	95% CI	p	Logistisk regression
Försöksgrupp	69	0.110	0.992	0.352 – 2.793	0.9873	
Kontrollgrupp	87	0.111				
Dehydrering	Antal kalvar	Uppskattad andel	OR	95% CI	p	Logistisk regression
Försöksgrupp	68	0.172	0.596	0.262 – 1.357	0.2157	
Kontrollgrupp	87	0.259				
Diarré	Antal kalvar	Uppskattad andel	OR	95% CI	p	Logistisk regression
Försöksgrupp	66	0.258	1.836	0.803 - 4.196	0.1487	
Kontrollgrupp	87	0.159				

Tabell 5. Jämförelse av förekomst av *Cryptosporidium spp* oocystor vid två lika nivåer mellan kalvar inhysta i enkalvsboxar eller –hyddor som behandlats med slack kalk (Försöksgrupp) och kalvar som inhysts i obehandlade enkalvsboxar – hyddor (Kontrollgrupp). Besättning inkluderades bägge modellerna som slump effekts-variabel (random effect variable)

<i>Oocystor</i> \geq 50 OPG	Antal kalvar	Uppskattad andel	OR	95% CI	p	Logistisk regression
Försöksgrupp	49	0.816	0.798	0.266 – 2.388	0.6832	
Kontrollgrupp	46	0.848				
<i>Oocystor</i> \geq 45.000 OPG	Antal kalvar	Uppskattad andel	OR	95% CI	p	Logistisk regression
Försöksgrupp	49	0.510	0.886	0.391 – 2.010	0.7701	
Kontrollgrupp	46	0.540				