



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Förekomst av *Giardia intestinalis* i svenska mjölkbesättningar

Ronny Larsson

Uppsala

2010

Examensarbete inom veterinärprogrammet

ISSN 1652-8697
Examensarbete 2011:4

SLU
Sveriges lantbruksuniversitet

Förekomst av *Giardia intestinalis* i svenska mjölkbesättningar

Ronny Larsson

Handledare: Camilla Björkman, Institutionen för kliniska vetenskaper
Biträdande handledare: Charlotte Silverlås, Institutionen för kliniska vetenskaper
Examinator: Bernt Jones, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2010
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper
Kurskod: EX0239, Nivå AXX, 30hp

Nyckelord: Giardia; intestinalis; prevalens; nötkreatur, kor, kalvar.

Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2011:4

INNEHÅLL

SAMMANFATTNING	5
SUMMARY	5
INLEDNING	6
SYFTE	6
LITTERATURÖVERSIKT	6
Nomenklatur	6
Biologi	7
Epidemiologi.....	8
Åldersprevalens	8
Utsöndringsintensitet	9
Prevalens	10
Prevalens i Sverige.....	11
Smittkälla	11
Riskfaktorer	11
Genotyper hos nötkreatur.....	12
Giardia hos människa.....	13
Giardia som zoonos	13
Klinisk bild	14
Diagnostik	15
Direktutstryk	15
Flotation och koncentration	15
Immunologiska metoder	16
PCR.....	16
Behandling	16
Behandling vid ospecifik kalvdiarré	17
Profylax.....	17

MATERIAL OCH METODER	18
Urval	18
Diagnostik	18
Statistiska metoder	19
RESULTAT	19
DISKUSSION.....	23
LITTERATURFÖRTECKNING.....	26
Elektroniska dokument	31

SAMMANFATTNING

Syftet med denna studie var att undersöka förekomsten av *Giardia intestinalis* hos kor och kalvar i 13 konventionella och 13 ekologiska mjölkbesättningar i sydöstra Sverige. I varje besättning togs träckprover från nio till tio kor (n=259) och fem till tio icke avvanda kalvar (n=220) som analyserades med ELISA. 25 av 26 besättningar hade minst ett positivt djur, vilket tyder på ubiquitär förekomst av parasiten. *Giardia* var betydligt vanligare hos unga djur, med endast en positiv (0,4 %) av 259 provtagna kor, medan totalt 44 % (97/220) av kalvarna var infekterade. Yngsta positiva kalven var sex dagar gammal. Högst andel infekterade kalvar sågs under tredje och fjärde levnadsveckan (77 %), med fortsatt förhållandevis hög prevalens fram till avvänjning. Ingen statistisk signifikant skillnad i prevalens sågs mellan kalvar beroende på produktionsform, inhysning eller besättningsstorlek (antal icke avvanda kalvar per besättning). *Giardia*-positiva kalvar var statistiskt signifikant äldre än negativa. Kalvar i konventionella besättningar var signifikant äldre än i ekologiska, men infekterade i samma utsträckning, vilket antyder att kalvar i ekologiska besättningar smittas tidigare, kanske beroende på längre tid hos kon, eller gruppställning vid yngre ålder. Kalvar i gruppbox var signifikant äldre än kalvar i ensambox. Positiva kalvar i gruppbox var dock inte signifikant äldre än positiva i ensambox, vilket kan bero på att kalvar smittas tidigare vid gruppställning. Resultaten visar att *Giardia* är ubiquitär i svenska konventionella och ekologiska mjölkbesättningar, med hög prevalens hos kalvar i ung ålder, och låg prevalens hos kor.

SUMMARY

The purpose of this study was to investigate the prevalence of *Giardia intestinalis* in cows and calves in 13 conventional and 13 organic dairy herds in southeastern Sweden. Fecal samples were collected from nine to ten cows (n=259) and five to ten suckling calves (n=220) in each herd, and analyzed by ELISA. 25 of 26 herds had at least one positive animal, suggesting that the parasite is ubiquitous. *Giardia* was more common in young animals, with only one positive (0.4%) out of 259 sampled cows, while a total of 44% (97/220) of sampled calves were infected. The youngest positive calf was six days old. The highest percentages of infected calves were seen during the third and fourth week of life (77%), with continued relatively high prevalence rates until weaning. No statistically significant difference in prevalence was seen among calves in conventional and organic herds, single and group pens, or regarding herd size (number of suckling calves per herd). *Giardia* positive calves were significantly older than negative. Calves in conventional herds were significantly older than in organic herds, but infected to equal extent, suggesting that calves in organic herds are infected earlier. The reason for this might be that they're housed together with the cow for a longer period of time, or because they're kept in groups from a younger age. Calves in group pens were significantly older than calves in single pens, but positive calves in group pens were not significantly older than the positive calves in single pens. The results show that *Giardia* is ubiquitous in Swedish conventional and organic dairy herds, with high prevalence in young calves, and low prevalence in cows.

INLEDNING

Giardia intestinalis är en ubikvitär intestinal flagellat som påvisats i många delar av världen (Xiao, 1994). Den infekterar åtskilliga ryggradsdjur, däribland de flesta däggdjursarter (Adam, 2001; O'Handley & Olson, 2006), och har länge associerats med diarré hos människa och husdjur (Kirkpatrick, 1987; Kulda & Nohynkova, 1978; Zajac, 1992; Thompson *et al.*, 1993). Hos människa är smittan ofta vattenburen och drabbar främst unga i utvecklingsländer (Islam, 1990). I Sverige ses infektionen framför allt hos turister hemkomna från utvecklingsländer, men även som daghemssmitta hos barn (SMI, 2010). Diagnosen ställs vanligen genom påvisande av cystor, det infektiösa stadiet av parasiten, i avföring.

Giardia intestinalis är en vanligt förekommande parasit hos nötkreatur (O'Handley & Olson, 2006). Tidigaste fynden gjordes i Sydafrika, Österrike och Italien (refererad i Xiao *et al.*, 1993). Studier under 1980-talet visade en högre prevalens hos lantbrukets djur än hos människor och sällskapsdjur, vilket medförde oro för dess patogenicitet och potential som zoonos (Xiao, 1994).

Sjukdomspanoramats hos icke avvanda kalvar består till största delen av infektionssjukdomar (SVA, 2010). Diarré är tillsammans med luftvägslidande de vanligaste och viktigaste orsakerna till morbiditet och mortalitet hos kalv (Heath, 1992), och orsakas primärt av infektiösa agens (Tzipori, 1981). Ofta är det saminfektioner, där rotavirus, coronavirus, *Cryptosporidium*, *Escherichia coli* F5+ och *Salmonella* spp. anses vara de viktigaste patogenerna (Reynolds *et al.*, 1986; Smith, 2009; Snodgrass *et al.*, 1986; Tzipori, 1981).

I svenska besättningar domineras smittpanoramats av rotavirus och *Cryptosporidium*. Coronavirus och *E. coli* F5+ är mer sporadiska fynd (SVA, 2010). *Giardia intestinalis* finns hos svenska nötkreatur, men endast en studie är gjord rörande förekomsten av parasiten (Björkman *et al.*, 2003).

SYFTE

Syftet med studien var att undersöka hur vanlig *Giardia intestinalis* är hos kor och kalvar i svenska konventionella och ekologiska mjölkbesättningar, med avseende på ålder, besättningsstorlek, produktions- och inhysningsform.

LITTERATURÖVERSIKT

Nomenklatur

Genus *Giardia* är flagellater tillhörande fylum *Sacromastigophora*, subfylum *Mastigophora*, ordning *Diplomonadorida* (Taylor, 2007). Antalet arter är under diskussion (Bowman, 2005), men utifrån formen på mediankroppen, sedd i ljusmikroskop, har tre arter identifierats: *G. intestinalis* (syn. *duodenalis*, *lamblia*, *enterica*; värd: däggdjur) (O'Handley & Olson, 2006); *G. muris* (värd: möss); *G. agilis* (värd: amfibier) (refererad i Adam, 2001). Ytterligare tre arter har identifierats genom elektronmikroskopisk undersökning: *G. ardae* (värd: häger)

(Erlandsen *et al.*, 1990); *G. psittaci* (värd: papegojfåglar) (Erlandsen & Bemrick, 1987); *G. microti* (värd: sork) (Feely, 1988).

Med hjälp av olika molekylärbiologiska metoder klassificeras sedan *Giardia intestinalis* i genotyper (eng. Assemblages, betecknas med bokstäverna A-G) och subgenotyper (betecknas med efterföljande siffra; AI, AII, BIII, BIV *etc.*) (Cacciò *et al.*, 2005; Thompson & Monis 2004). Genotyp A och B har återfunnits hos många olika däggdjur, medan andra grupper är mer värdspecifika (Tabell 1). Genotyp E, som även kallas boskapstypen, är fylogenetiska nära släkt med genotyp A, men har ännu inte återfunnits hos människa.

Tabell 1. Genotyper av *Giardia intestinalis* och hos vilka arter de har påträffats. Se referenser i tabellens fotnot

Genotyp	Värd
A	människa, primater, hund, katt, nötkreatur, svin, häst, gnagare, andra vilda däggdjur
B	människa, primater, hund, katt, häst, nötkreatur, får
C	hund, katt
D	hund, katt, svin
E	hovdjur (nötkreatur, får, get, gris, häst <i>etc.</i>) katt
F	katt
G	råtta

(Appelbee *et al.*, 2003; Bowman, 2009; Cacciò *et al.*, 2005; Hamnes, 2008; Hopkins *et al.*, 1997; Langkjaer *et al.*, 2006; Monis *et al.*, 2003; O'Handley *et al.*, 2000; Thompson & Monis, 2004; Traub *et al.*, 2005).

Hädanefter kommer *Giardia intestinalis* benämnas endast som *Giardia*.

Biologi

Giardia har en direkt livscykel, och alternerar mellan två levnadsstadier (O'Handley & Olson, 2006, Appelbee *et al.*, 2003). Den rörliga trofozoiten är 12-15 µm lång, formad som en vattendroppe, bilateralt symmetrisk, med en sugkopp på ena sidan för infästning på tunntarmslemhinnan, där den lever icke-invasivt (Hamnes, 2008). Trofozoiten innehåller två kärnor med varsin Feulgen-negativ nukleol. I ljusmikroskop ser den därför ut som en "tennisracket med ögon". Andra subcellulära strukturer är två smala axonem, fyra par *flagella* och ett par mediankroppar (Bowman, 2009). Trofozoiten förökar sig genom binär fission (asexuell delning) i tarmlumen.

Trofozoiterna omvandlas till cystor vid lätt alkaliskt pH (7,8) och kontakt med galla. Cystan är 14 µm i diameter, har fyra kärnor, och är omgiven av en vägg med ett inre membran- och ett yttre filamentskikt. Filamenten består av glykolyserade protein som skydd mot miljöfaktorer, såsom enzymer i tarmen. Cystan utsöndras med avföringen, och är infektiös omedelbart (Adam, 2001). Den

överlever temperaturer mellan 0-60°C samt klorering av dricksvatten, men är känslig för uttorkning (SMI, 2010).

Cystan är oftast det som observeras i en infekterad individs avföring. Trofozoiter kan också återfinnas i avföring, i synnerhet vid diarré (hög passagehastighet), men är inte infektiösa och dör kort efter att ha lämnat värden (Bowman, 2009). Man tror att vätejoner i magsyran eller bikarbonat tillsammans med digestionsenzymer i tarmen gör att cystan kläcks ("excysterar") till en excyzoit som delar sig två gånger och bildar fyra trofozoiter (Adam, 2001; Bernander *et al.*, 2001; O'Handley & Olson, 2006). *Giardia* kan inte föröka sig utanför värdjuret (SMI, 2010).

Epidemiologi

En individ kan infekteras genom direkt fekal-oral överföring eller via intag av kontaminerat foder eller vatten (Buret *et al.*, 1990; Olson *et al.*, 1997a; Ruest *et al.*, 1998). *Giardia* är vanlig hos nötkreatur. Incidenser på upp till 100 % hos både mjölk- och köttkalvar har rapporterats i många länder (Huetink *et al.*, 2001; O'Handley *et al.*, 1999; Ralston *et al.*, 2003; Santín *et al.*, 2009; Xiao & Herd, 1994a). Flera författare har visat att *Giardia* är vanligast hos unga djur (Buret *et al.*, 1990; Deshpande & Shastri, 1981; Maddox-Hyttel *et al.*, 2006; Olson *et al.*, 1997b; Quílez *et al.*, 1996; Wade *et al.*, 2000b; Xiao, 1994; Xiao & Herd, 1994a), och att prevalensen minskar med ökande ålder (Hamnes *et al.*, 2006; Quílez *et al.*, 1996; Wade *et al.*, 2000a, b). Taminelli *et al.* (1989) observerade en prepatensperiod på 7-8 dagar vid experimentell infektion på kalv. Både naturlig och experimentell infektion har i regel ett kroniskt förlopp, med persisterande och intermittent cystutsöndring i upp till månader efter den initiala smittan (Buret *et al.*, 1990; Gasser *et al.*, 1987; O'Handley *et al.*, 1999; Ralston *et al.*, 2003; Taminelli *et al.*, 1989; Xiao & Herd, 1994a; Xiao *et al.*, 1993). Primärinfektion sker oftast tidigt i livet. I fältstudier har cyster påträffats i träck från fyra till fem dagar gamla kalvar (Wade *et al.*, 2000b; Xiao & Herd, 1994a). Cystutsöndring vid denna låga ålder representerar dock troligen inte en aktiv infektion, med tanke på prepatensperioden, utan orsakas sannolikt av tarmpassanter (O'Handley & Olson, 2006). I en studie från USA sågs första utsöndring vid elva dagars ålder (Xiao *et al.*, 1993). I Kanada noterade O'Handley *et al.* (1999) första utsöndring i genomsnitt vid 32 dagars ålder.

Åldersprevalens

Den ålder där prevalensen är som högst varierar från ungefär 4-20 veckor i olika studier. Två långtidsstudier från Nordamerika och Australien följde kalvar med upprepad träckprovtagning från födsel till avvänjning respektive till två års ålder. Resultaten visade att mjölkdjur hade högst prevalens vid fyra till fem veckors ålder (Becher *et al.*, 2004; Santín *et al.*, 2009). I en kanadensisk långtidsstudie, där kalvar följdes under tre månader, såg man att *Giardia* var vanligast hos sex till åtta veckor gamla kalvar (Coklin *et al.*, 2010). En spansk studie av Castro-Hermida *et al.* (2006) visade istället högst risk för infektion hos en till fem månader gamla kalvar. Liknande resultat har visats i Norge, där tre till fyra månader gamla kalvar hade högst prevalens (Hamnes *et al.*, 2006), och i Nordamerika, där tre studier såg högst prevalens vid ungefär tre månaders ålder

(O'Handley *et al.*, 1999; Olson *et al.*, 1997a; Trout *et al.*, 2004, 2005), och en studie hos två till fem månaders ålder (Wade *et al.*, 2000b).

På en holländsk mjölkgård med kalvdiarréproblem fanns *Giardia* hos alla ålderskategorier (neonatala till vuxna), med högst prevalens hos fyra till fem månader gamla kalvar (Huetink *et al.*, 2001). Hos kalvar under en månads ålder var *Giardia* ovanlig, med bara en positiv kalv (21 dagar gammal) av 112 provtagna. I denna besättning separerades kalven från kon direkt efter kalvning och placerades sedan i ensambox utomhus, utan direktkontakt med andra kalvar, fram till avvänjning. Ensamboxarna rengjordes med hett vatten i högtryckstvätt och stod sedan tomma i minst en vecka innan en ny kalv sattes in. I studien nämnd ovan av O'Handley *et al.* (1999), med högst prevalens hos tremånaderskalvar, användes liknande inhysning i ensamboxar, utan kontakt med andra djur.

Utsöndringsintensitet

Utsöndringsintensiteten brukar anges som antal cystor per gram träck. Generellt inträffar tidpunkten för högsta utsöndringsintensitet strax före eller ungefär i samma ålder som högsta prevalensen. Två nordamerikanska studier visar att utsöndringsintensiteten är som högst vid två till fyra veckors ålder (Xiao & Herd, 1994a; Olson *et al.*, 1997a). I den ena av dessa fortsatte nivån ligga högt fram avvänjning vid sju veckors ålder då kalvarna även flyttades till gruppbox, i vissa fall kvarstod dock utsöndringsnivån under lång tid (Xiao & Herd, 1994a). I tre studier från Nordamerika, Holland och Spanien såg man däremot högst intensitet först vid tre till fem månaders ålder (Castro-Hermida *et al.*, 2006; Huetink *et al.*, 2001; O'Handley *et al.*, 1999). De studier med högst intensitet i höga åldrar hade också högst prevalens i samma ålderskategori vilket kan tyda på att infektionen generellt debuterar senare i dessa studier, med senare klimax i utsöndringsintensitet som följd. Ralston *et al.* (2003) visade i en långtidsstudie, där köttkalvar provtogs en gång varje vecka fram till avvänjning, att utsöndringsintensiteten hos den enskilde kalven var som högst vid provtagningsstillfället en vecka efter första observerade utsöndring. I långtidsstudien av O'Handley *et al.* (1999), där mjölkkalvar provtogs upp till tre månaders ålder, visade att intensitetsnivån istället var konstant från första utsöndring till slutet av studietiden. Skillnaden i dessa utsöndringsmönster förklarade Ralston *et al.* (2003) med en trolig skillnad i immunitet mellan kött- och mjölkkalvar. Möjligen kan också olika skötselrutiner och genotyper påverka.

Prevalens

Giardia är vitt spridd och har rapporterats från Europa, Asien, Afrika, Nordamerika, Sydamerika, Oceanien och Antarktis (Hamnes, 2008).

Prevalensen hos unga kalvar varierar mellan olika studier (Tabell 2).

Tabell 2. Kalvprevalens i ett urval av studier

Land	Ålder (veckor)	Prevalens	Referens
Danmark	0-4	61 %	Maddox-Hyttel <i>et al.</i> , 2006
Spanien	0-6	14 %	Quílez <i>et al.</i> , 1996
USA	1-7	44 %	Trout <i>et al.</i> , 2004
Belgien	0-10	22 %	Guerden <i>et al.</i> , 2008
Kanada	2-10	57 %	O'Handley <i>et al.</i> , 2000
Australien	2-10	58 %	O'Handley <i>et al.</i> , 2000
Spanien	6-16	38 %	Quílez <i>et al.</i> , 1996
USA	0-24	20 %	Wade <i>et al.</i> , 2000b
Kanada	0-24	31 %	Olson <i>et al.</i> , 1997b
Kanada	0-24	73 %	Olson <i>et al.</i> , 1997a
Danmark	4-48	43 %	Maddox-Hyttel <i>et al.</i> , 2006

Även prevalensen hos kor varierar. Tre studier från Danmark (Langkjaer *et al.*, 2006), Spanien (Castro-Hermida *et al.*, 2007) och USA (Trout *et al.*, 2007) visar prevalens på 20-27 %, medan Wade *et al.* (2000b) och Quílez *et al.* (1996) såg 0,2 % respektive 2 %, i USA respektive Spanien.

På besättningsnivå varierar rapporterna mellan 46-100 % infekterade, där de allra flesta ser prevalenser på nära 100 % (Tabell 3).

Tabell 3. Besättningsprevalens i ett urval av studier

Land	Prevalens (n)	Referens
Danmark	100 % (50/50)	Maddox-Hyttel <i>et al.</i> , 2006
Kanada	100 % (26/26)	Olson <i>et al.</i> , 1997 a, b
Kanada	46 % (231/505)	Ruest <i>et al.</i> , 1998
Kanada	100 % (9/9)	Appelbee <i>et al.</i> , 2003
Norge	93 % (127/136)	Hamnes <i>et al.</i> , 2006
Spanien	53 % (16/30)	Quílez <i>et al.</i> , 1996
Spanien	93 % (56/60)	Castro-Hermida <i>et al.</i> , 2006
USA	70 % (76/109)	Wade <i>et al.</i> , 2000b
USA	100 % (14/14)	Trout <i>et al.</i> , 2004

Prevalens i Sverige

Giardia har tidigare rapporterats i Sverige (SWEPAR, 2001). Björkman *et al.* (2003) visade i en kalvdiarréstudie att hälften av provtagna mjölkbesättningar hade minst en positiv kalv. Av 270 provtagna kvigkalvar, upp till 90 dagars ålder, 146 med diarré och 124 utan, var 71 (26 %) positiva, i 14 av fallen tillsammans med andra tarmpatogener (*Cryptosporidium* och rotavirus). En svensk prevalensstudie på får visade att 19 av 28 undersökta svenska fårbesättningar var positiva för *Giardia* (Ljungström *et al.*, 2001).

Smittkälla

Ungdjur anses vara den viktigaste smittkällan för kalvar. Kalvhållningen i dagens mjölkbesättningar består ofta av kontinuerlig drift i otillräckligt rengjorda grupp- och ensamboxar, vilket leder till stor residualsmitta (Xiao *et al.*, 1993, Xiao & Herd, 1994a). I kombination med hög djurtäthet blir resultatet tidig smitta, hög prevalens, och hög utsöndringsintensitet (Xiao, 1994).

Kalvarna skiljs ofta tidigt från kon, vilket begränsar kontakten mellan dem. I en studie av Xiao *et al.* (1993) skiljdes kalvarna från kon omedelbart efter kalvning, men plockade ändå upp infektionen i ung ålder. Wade *et al.* (2000a) såg dock att kalvar av denna kategori löpte mindre risk för infektion, vilket indikerar att kon har betydelse som smittkälla.

Vuxna djur kan också utsöndra cystor, framförallt hondjur, men prevalensen och utsöndringsintensiteten är generellt lägre än hos ungdjur (Xiao, 1994). Studier har visat infektion hos kor (Langkjaer *et al.*, 2006; Olson *et al.*, 1997b; Buret *et al.*, 1990; Quílez *et al.*, 1996), tackor (Buret *et al.*, 1990; Xiao *et al.*, 1994b), ston (Xiao & Herd, 1994b), och suggor (Xiao *et al.*, 1994a). Hos häst debuterar infektionen vid högre ålder, och ston är i större utsträckning infekterade än kor, vilket tyder på att de har större betydelse för smittspridning (Xiao & Herd, 1994b). En peripartal ökning av cystutsöndring har setts hos tackor där prevalens samt utsöndringsintensitet varit mycket låga fyra veckor prepartum, för att stiga två veckor prepartum, och nå toppen vid lamning. Nivån sjönk sedan två veckor postpartum, för att återigen stiga med en ny topp fyra veckor postpartum, samtidigt som lammen utsöndrade som mest (Xiao *et al.*, 1994b). Författarna föreslog att en ökad nivå av immunsupprimerande hormon såsom prolaktin, progesteron och östrogen är anledningen till ökningen. Liknande utsöndringsmönster har setts hos dikor (Ralston *et al.*, 2003) och suggor (Xiao *et al.*, 1994a).

Smitta från miljön, inkluderat foder och vatten, diskuteras i de flesta studier. Indirekt smittöverföring via vektorer har också kommit på tal. Korsöverföring mellan djurslag har antytts förekomma i två studier, men dess epidemiologiska betydelse är oklar (Xiao, 1994).

Risikfaktorer

O'Handley *et al.* (2000) såg ingen skillnad i prevalens och utsöndringsintensitet hos kalvar beroende på inhysningsform (ensam-, gruppbox eller bete). Inte heller i den danska studien av Maddox-Hyttel *et al.* (2006) såg någon påverkan av inhysning.

Studier på människa och möss indikerar att immunstatus hos vuxna och tillgång på colostrum hos nyfödda har betydelse för att undvika infektion (Heyworth, 1992; Nayak *et al.*, 1987; Andrews & Hewlett, 1981). Hos mössen försvann skyddet av rå- och övergångsmjolk efter avvänjning (Andrews & Hewlett, 1981). Xiao *et al.* (1994b) visade dock att colostrumintag hos lamm inte skyddade mot infektion. Utsöndringsdynamiken hos dessa lamm skiljde sig heller inte åt om man flyttade djuren till en smittfri miljö efter erhållen infektion, för att minska möjligheten för återinfektion.

Tidpunkt under året har i flera studier fallit ut som riskfaktor, men resultaten pekar i olika riktningar. Xiao & Herd (1994a) såg högst prevalens under våren; Wade *et al.* (2000a) under sommaren. Xiao *et al.* (1993) sågs minskad prevalens och infektionsintensitet i utomhushyddor under sensommar vilket kan bero på värme och starkt solsken, då cystor är känsliga för uttorkning och solljusexponering (Zajac, 1992). I boxarna på stall kvarstod dock den höga prevalensen, kanske beroende på högre fuktighet och skydd från solsken. I Norge kunde Hamnes *et al.* (2006) se lägre prevalens hos kalvar under sommaren. Författaren argumenterade för att skillnaden kan ha berott på koncentrerade höstkalvningar och inomhushållning, vilket skulle ge högre beläggning och tätare djurkontakter. Under sommaren var ungdjur även ute på bete, vilket kan ha skonat kalvar från smitta. Huetink *et al.* (2001) såg varierande prevalens med månad för provtagning. Kalvar i ensambox utsöndrade bara under vintermånaderna, december (13 %), januari (18 %) och februari (27 %), trots väldigt gott smittskydd i dessa boxar. Samma ökning av prevalens sågs i resten av besättningen, 1 % i juni jämfört med 15 % i februari. En förklaring till ökad prevalens i denna besättning kan ha varit att de två till sex månader gamla kalvarna led av luftvägsproblem under samma period. Detta kan ha gjort dem mer mottagliga för infektion, vilket ökat smittrycket. Yngre djur kan sedan ha blivit smittade via indirekt kontakt med skötare eller andra vektorer. En annan studie av Wade *et al.* (2000b) såg inget samband mellan säsong och prevalens.

Genotyper hos nötkreatur

Möjligheten att fylogenetiskt klassificera *Giardia* är en relativt ny företeelse. Det är fortfarande få studier som undersökt förekomsten av olika genotyper hos nötkreatur. Detta är viktigt för att utreda värdspecificitet, och för att klargöra *Giardias* epidemiologiska mönster inom och mellan djurslagspopulationer (Huetink *et al.*, 2001). Mjölkkalvar har visats vara infekterade med tre genotyper: A, B och E (Coklin *et al.*, 2007; O'Handley *et al.*, 2000), där genotyp A och B utgör en zoonosrisk (Ey *et al.*, 1997; Hopkins *et al.*, 1997; O'Handley *et al.*, 2000). Genotyp E rapporteras vara den vanligaste genotypen hos nötkreatur, följt av A och sist B.

Genotyp E är vanligast i alla ålderskategorier (Langkjaer *et al.*, 2006). I den danska studien av Langkjaer *et al.* (2006) var andelen genotyp A relativt konstant (6 %) hos kalvar i alla åldrar. Detta har också setts i Nordamerika av Trout *et al.* (2004, 2005). Prevalensen för genotyp E varierade istället mycket över tiden (Langkjaer *et al.*, 2006). Detta kan indikera att olika genotyper har olika prepatensperiod och infektionsduration. I samma studie var kor endast infekterade med isolat från genotyp E. Trout *et al.* (2007) såg dock genotyp A även hos kor.

Liknande resultat har setts i många tidigare studier i Nordamerika, Europa och Asien (Appelbee *et al.*, 2003; Huetink *et al.*, 2001; O'Handley *et al.*, 2000; Trout *et al.*, 2004, 2005; van Keulen *et al.*, 2002). Langkjaer *et al.* (2006) såg samband mellan ålder och subgrupp inom genotyp E, vilket också Monis *et al.* (2003) gjorde. Detta kan indikera åldersspecificitet inom subgrupper.

Vissa besättningar verkar vara fria från potentiellt zoonotiska genotyper (Trout *et al.*, 2004, 2005). Överföringen bland kalvar är väldigt frekvent (Xiao & Herd, 1994a; O'Handley *et al.*, 1999), vilket innebär att även om kalvar blir exponerade för genotyp A eller B är det troligt att genotyp E utkonkurrerar dem (O'Handley *et al.*, 2000). Detta har på samma sätt föreslagits på hund i miljöer där smittexponeringen är hög (Hopkins *et al.*, 1997).

Appelbee *et al.* (2003) såg att andelen köttkalvar infekterade med genotyp E (97 %) var signifikant större ($p < 0,05$) jämfört med en studie på mjölkkalvar av O'Handley *et al.* (2000), där 80 % var infekterade med genotyp E och 20 % med A. Likartad skillnad har setts hos belgiska kalvar av Guerden *et al.* (2008), där andelen genotyp A var 59 % och 16 % hos mjölk- respektive köttkalvar.

Endast en mindre studie, omfattande 19 nötkreatur med icke angiven ålder, har hittills undersökt vilka genotyper som förekommer hos nötkreatur i Sverige och då återfanns bara genotyp E (Lebbad *et al.* 2010).

Giardia hos människor

Giardia har en global spridning (SMI, 2010), med sju procent av världens människor som bärare (Bowman, 2009). *G. intestinalis* är den enda art som kan infektera människa. Hittills har bara genotyp A och B isolerats (Cacciò *et al.*, 2005; SMI, 2010), där A-typen är vanligast förekommande (Bowman, 2009; O'Handley *et al.*, 2000). Smittkällan vid humanutbrott fastställs sällan (O'Handley *et al.*, 2000). När den kan härledas kommer den oftast från andra människor, men det finns även stora möjligheter för smitta från däggdjur (Bowman, 2009). Infektionsdosen är låg: mindre än 100 cystor behövs för att en människa ska insjukna. Både hos människa och hos smådjur är infektion frekvent associerat med förekomst av diarré (Kirkpatrick, 1987; Kulda & Nohynkova, 1978; Zajac, 1992). Inkubationstiden är vanligen 7-10 dygn (3-25). Diarrén kan vara långvarig, med magkramper, trötthet och viktminskning (Bowman, 2009; SMI, 2010). Symtomlösa smittbärare förekommer. Behandling med antibiotikum har god effekt. Om infektionen fortgår obehandlad kan cystutsöndring pågå i månader och upp till år (SMI, 2010).

I Sverige rapporteras cirka 1500 sjukdomsfall orsakade av *Giardia* per år. De flesta patienter smittas utomlands, men även inhemska fall inom familjer eller på daghem förekommer, då med smittöverföring från person till person (Rimhanen-Finne, 2008). Smitta via livsmedel och vatten har också inträffat (SMI, 2010).

Giardia som zoonos

Giardias värdspecificitet och potential som zoonos har debatterats av många författare (Bemrick & Erlandsen, 1988; Buret *et al.*, 1990; Cacciò *et al.*, 2005; Ey *et al.*, 1997; Faubert, 1988; O'Handley *et al.*, 2000). Epidemiologiska data vid

utredning av vattenburna utbrott på människa (Kasprzak & Pawlowski, 1989) och korsöverföringsstudier antyder att människor kan infekteras av vissa genotyper av *Giardia* från djur (Thompson *et al.*, 1990). Även om det inte finns verkliga bevis för att zoonotisk överföring sker, så verkar vissa genotyper inte vara värdspecifika och bör sannolikt delas av människor och idisslare (Ey *et al.*, 1997; Langkjaer *et al.*, 2006; O’Handley *et al.*, 2000; Thompson *et al.*, 1993; van Keulen *et al.*, 2002). Djupare studier av subgenotyper inom Assemblage A och B hos nötkreatur och andra djur krävs för att få bättre förståelse om utsträckningen av eventuella zoonotiska smittöverföringar (Lebbad *et al.*, 2010).

Nötkreatur har föreslagits som smittkälla för människor genom direkt kontakt eller genom kontaminering av ytvatten (LeChevallier *et al.*, 1991; Weniger *et al.*, 1983). Vattenburen smitta är särskilt intressant då det kan infektera många individer efter bara ett kontaminationstillfälle, och därför är domesticerade djur och vilt av intresse. Detta skulle kunna ske genom avrinning från åkermark efter gödselspridning eller från bete, med efterföljande kontamination av bad- eller dricksvatten. LeChevallier *et al.* (1991) visade att avrinningsområden från lantbruk hade högre nivåer av cystor jämfört med skyddade vatten- eller rekreationsområden. Kalvar kan utsöndra 10^5 - 10^6 cystor per gram träck (Xiao, 1994; Olson *et al.*, 1997a; O’Handley *et al.*, 1999), vilket betyder att även ett få antal kalvar infekterade med potentiellt zoonotisk genotyp kan vara en betydande fara för folkhälsan.

Nötkreatur i synnerhet är av stort intresse då de i regel är många individer på liten yta och producerar mycket gödsel (Appelbee *et al.*, 2003). De kan vara en smittreservoar för människa liknande situationen med *Cryptosporidium*. Vid diarréutbrott på kalvar bör zoonosrisken beaktas, främst med tanke på *Cryptosporidium* och *Salmonella* spp. (SVA, 2010), men även inkluderat *Giardia*.

Klinisk bild

Många studier har inte visat någon patogen effekt av *Giardia* vid jämförande av andelen infekterade mellan sjuka och friska kalvar (Gasser *et al.*, 1987; Huetink *et al.*, 2001; Maddox-Hyttel *et al.*, 2006; Quílez *et al.*, 1996; Xiao *et al.*, 1994b). I den svenska studien av Björkman *et al.* (2003) kunde inget samband mellan infektion och diarré ses. Av 270 provtagna kvigkalvar, upp till 90 dagars ålder, 146 med diarré och 124 utan, var 71 (26 %) positiva för *Giardia*, i 14 av fallen tillsammans med andra tarmpatogener (*Cryptosporidium* och rotavirus).

Giardia har i andra studier setts som orsak till diarré, nedsatt tillväxt och eventuellt ökat behov av vissa näringsämnen, som följd av maldigestion och malabsorption (Deshpande & Shastri, 1981; Kirkpatrick, 1989; O’Handley *et al.*, 1999; Ruest *et al.*, 1995; St Jean *et al.*, 1987; Wade *et al.*, 2000b; Xiao *et al.*, 1993). Taminelli *et al.* (1989) visade i experimentella infektioner på övergående diarré i början av sjukdomsförloppet. Kalvarna infekterades dock samtidigt med *Campylobacter* och/eller rota- och coronavirus, vilka alla har rapporterats som tarmpatogener hos kalv (Mebus *et al.*, 1973, Dhama *et al.*, 2008; Tzipori, 1981).

Sambandet med sjukdom baseras i de flesta fall på behandlingseffekt med nitroimidazol (metronidazol, tinidazol), quinacrin, eller furazolidon. Dessa

preparat har dock bred antimikrobiell effekt (Adam, 1991), och i de flesta studier utfördes ingen mikrobiologisk undersökning innan behandling (Xiao *et al.*, 1993; Ruest *et al.*, 1995; Wade *et al.*, 2000b). I de studier som undersökte för andra patogener sågs saminfektioner med *Cryptosporidium*, rota- och coronavirus (O'Handley *et al.*, 1999; St Jean *et al.*, 1987; Xiao *et al.*, 1993).

I en svensk studie av Ljungström *et al.* (2001) kunde ingen signifikant skillnad i infektionsfrekvens mellan sjuka och friska lamm ses. Patogen effekt på lamm har dock visats av Olson *et al.* (1995). Experimentell infektion på flaskmatade SPF-lamm (specifikt patogenfria) i standardiserad miljö visade att neonatal giardiasis var associerat med nedsatt tillväxt, försämrat foderutnyttjande, längre tid fram till slakt, samt lägre slaktvikter. Detta kan ha ekonomisk betydelse för lammproducenter som motiverar förebyggande åtgärder.

Fler studier i stor skala och experimentella infektioner krävs för att räta ut frågetecknen, då olika isolat kan förväntas ha olika patogenicitet (Xiao, 1994; Xiao *et al.*, 1993).

Diagnostik

Avföringsprover används för att diagnosticera *Giardia*-infektion hos nötkreatur. Proverna undersöks med avseende på förekomst av cystor eller cyst-/trofozoit-antigen. Cystutsöndringen sker intermittent hos människa (Thompson *et al.*, 1993) och olika däggdjur, såsom nötkreatur och häst (Kirkpatrick, 1989; Xiao, 1994; Xiao & Herd, 1994b), vilket har lett till rådet att ta tre upprepade avföringsprov med minst två dagars mellanrum för att öka känsligheten (Quílez *et al.*, 1996).

Direktutstryk

Diagnosen kan ställas genom fynd av cystor eller trofozoiter vid direktutstryk av avföring. En droppe koksaltlösning kan användas för att lösa upp avföringen direkt på objektsglasat. Täckglas bör användas för att förbättra optiken och undvika dynamiska strömmar i vätskan. Användning av faskontrastmikroskop underlättar identifiering av parasiterna. Om faskontrastmikroskop inte finns tillgängligt är infärgning med Lugols lösning ett alternativ som underlättar identifiering genom att öka kontrasten hos cellernas *nuclei*. En droppe av lösningen droppas i kanten av täckglaset. I vissa fall av klinisk giardiasis hittas inga, eller få, cystor och trofozoiter i avföringen. Metoden har därför låg känslighet, och används således inte för att utesluta infektion. Trofozoiter ses sällan i normalformad avföring. Cystor hittas ofta hos asymptomatiska patienter.

Flotation och koncentration

För att öka känsligheten kan cystor i avföringsprov koncentreras genom flotation eller sedimentation för att sedan observeras i mikroskop (med eller utan färgning). Metoderna utnyttjar skillnaden i flytkraft mellan parasiter och foderrester. Avföringen slammas först upp i vatten. Cystor och stora foderpartiklar sjunker till botten, medan fett och lösta pigment kan hållas av. Vid flotation slammas sedimentet sedan upp i zinksulfatlösning med den relativa densiteten 1,18, vilket gör att cystorna flyter och foderresterna sedimenterar. Cystor krymper och blir förvrängda mycket snabbare om andra flotationsmedier såsom sukroslösning används. Trofozoiter förvrängs generellt vid flotation, oavsett vilken lösning som

används (Bowman, 2009). Fet avföring från unga kalvar försvårar diagnostik med sukrosflotation (Xiao & Herd, 1993). Sedimentation kan göras av formalinfixerade avföringsprover genom spädning i etylacetat. Genom silning och upprepad centrifugering tas fett, pigment och andra substanser bort. Metoden är dock inte lika känslig som flotation med zinksulfat av färsk avföring (Bowman, 2009).

Immunologiska metoder

Immunologiska metoder använder antikroppar för direkt immunfluorescens (IFA) eller ELISA (Bowman, 2009; Xiao & Herd, 1993). Metoderna har länge funnits på olika laboratorier, men finns nu även som kommersiella testkit, vilka används rutinmässigt för hund och katt vid kliniker i Nordamerika (Bowman, 2009) och på SVA.

Immunfluorescens

Vid immunfluorescens färgas cystor in på direktutstryk eller i koncentrerade prover, för att sedan läsas av i mikroskop. Xiao och Herd (1993) visade att immunfluorescens är känsligare än konventionella metoder (jodfärgning, flotation), och kan användas även för prover från unga kalvar. Vid Statens Veterinärmedicinska Anstalt används denna metod rutinmässigt för undersökning av *Giardia* och *Cryptosporidium* på direktutstryk. Minst en matsked färsk avföring tas som prov.

ELISA

ELISA detekterar *Giardia*-antigen, i form av cystor eller protein som utsöndras av trofozoiter, i avföring. Addiss *et al.* (1991) såg ökad känslighet om upprepad provtagning tillämpades även vid användning av ELISA. Detta indikerar att antigena proteiner, likt cystor, utsöndras intermitterat. Hanson och Cartwright (2001) såg att fler än ett avföringsprov krävdes för att erhålla känslighet över 80 %. Kommersiell ELISA (ProSpecT™ *Giardia* Microplate Assay) är jämförbar i både känslighet och specificitet med direkt immunfluorescens (Rimhanen-Finne, 2008). Mekaru *et al.* (2007) visade att ProSpecT™ *Giardia* Microplate Assay hade högst känslighet och specificitet jämfört med en rad olika immunologiska kit samt fekal flotation.

PCR

Med PCR (Polymerase Chain Reaction) uppförökas genetiska markörer. Det används idag på *Giardia* och *Cryptosporidium* för genotypning av isolat i forskningssyfte, och vid utredning av utbrott på människa (Bowman, 2009). PCR har generellt högre känslighet än immunfluorescens (Trout *et al.*, 2004, 2005).

Behandling

Vid *Giardia*-infektion på kalvar har ingen behandlingseffekt setts med elektrolyter eller antibiotika (Bowman, 2009). Dock har behandling med imidazolderivat visat sig ge upphörd cystutsöndring (Xiao *et al.*, 1996; O'Handley *et al.*, 1997). Fenbendazol eller albendazol har varit effektivt till kalv i olika doser och dosintervall. Fenbendazolbehandling hade effekt enligt fyra olika strategier; 10 mg singeldos, 10 eller 20 mg per dygn i tre dagar, eller 0,8 mg/dygn i sex

dagar. Albendazolbehandling 20 mg per dygn i tre dagar var också effektivt (O’Handley *et al.*, 1997; Xiao *et al.*, 1996). Dimetridazol 50 mg per kg kroppsvikt och dygn utspätt i 250 ml vatten som gavs oralt i fem dagar gjorde att både cystutsöndringen och diarrén upphörde inom 48 timmar (St. Jean *et al.*, 1987). Återinfektion sågs hos samtliga kalvar inom 28 dagar efter behandling (O’Handley *et al.*, 1997).

Fenbendazol finns i Sverige registrerat (Axilur® vet.) för användning på nötkreatur, men inte med *Giardia*-infektion som indikation. Karenstiden är nio och fem dygn för slakt respektive mjölk. Fram till att den ekonomiska och praktiska fördelen med farmakologisk kontroll är fastslagen bör god skötsel och hygienåtgärder istället användas för att minska parasitens inverkan på produktionen och folkhälsan (O’Handley *et al.*, 2000).

Vid behandling av *Giardia* på människa och sällskapsdjur är metronidazol ”the drug of choice” (Bowman, 2009). Det är ett nitroimidazolderivat med brett aktivitetsspektrum mot *Giardia*, *Trichomonas*, amöbor, anaeroba kocker och *Bacillus*. I Europa får metronidazol ej användas till livsmedelsproducerande djur, eftersom inget MRL-värde kunnat fastställas (Europakommissionens förordning (EU) nr 37/2010).

Behandling vid ospecifik kalvdiarré

Kraftig diarré kan orsaka uttorkning, näringsbrist och elektrolytstörningar, hos framförallt unga kalvar. Kalvar ska dricka minst 15 % av kroppsvikten per dag. Parenteral vätska skall ges om kalven är oförmögen att dricka själv. Elektrolytstörningar förebyggs genom tillförsel av balanserad elektrolytlösning i vatten eller mjölk, tillskott av natrium, kalium, klorid och bikarbonat. Näringsbrist förebyggs genom att fortsatt ge mjölk, eventuellt uppdelat i fler givor. Kalven bör placeras i sjukbox, ha tillgång till mycket strö och dragskydd, foder och vatten av god näringsmässig och hygienisk kvalitet. Om många kalvar insjuknar, bör istället friska och nyfödda kalvar isoleras (SVA, 2010). Eftersom *E. coli* F5+ är ett ovanligt fynd vid kalvdiarré i Sverige är indikationen för antibiotikabehandling svag (Björkman *et al.*, 2003; de Verdier, 2006; Slutrapport SLF, 2005).

Profylax

Generellt vid diarréutbrott måste smittspridning begränsas, genom minskade djurkontakter inom och mellan grupper av olika åldrar och hälsostatus. Smittrycket skall hållas på låg nivå genom god hygien: frekvent utgödsling, rengöring med hett vatten och tillräcklig torktid innan insättning i kalvnings- och kalvboxar. God maternell immunitet bör upprätthållas genom råmjölksrutiner enligt rekommendation; minst sex liter råmjölk av hög kvalitet under första dygnet. Fekal förorening av foder och vatten bör undvikas. För miljödesinfektion kan en kvartär ammoniumförening, eller 1 % natriumhypoklorit användas (Kirkpatrick, 1987).

MATERIAL OCH METODER

Urval

Studien omfattar 479 frysta träckprover insamlade under vintern 2009-2010, från 13 konventionella och 13 ekologiska mjölkbesättningar, inom ramen för en studie som jämför besättningshälsa mellan ekologisk och konventionell produktion (Dr I. Blanco Penedo, pers. medd., 2010). Alla gårdar hade fler än 40 mjölkande kor. De ekologiska besättningarna hade vid provtagningstillfället varit certifierade i minst sex års tid och utfodrade med minst 95 % ekologiskt foder. Gårdarna låg i Uppland (n=10), Södermanland (n=4), Östergötland (n=10) samt Småland (n=2). I varje besättning provtogs nio till tio kor i olika laktationsstadier, samt fem till tio icke avvanda kalvar upp till 65 dagars ålder. Totalt provtogs 259 kor och 220 kalvar. I samband med provtagning inhämtades information om ålder, inhysning, produktionsform samt besättningsstorlek.

Diagnostik

Proverna analyserades med avseende på förekomst av *Giardia intestinalis* med en kommersiell ELISA, ProSpecT™ Giardia Microplate Assay (Oxoid AB, Malmö). ELISA-testet detekterar det *Giardia*-specifika glykoproteinet GSA65 (*Giardia* Specific Antigen 65, eller Cyst Wall Protein 1, CWP1, enligt Boone *et al.*, 1999) som utsöndras när trofozoiter delar sig eller omvandlas till cystor i tarmen, och som även återfinns i väggen hos cystan (Boone *et al.*, 1999). Testkitet är utvecklat för analys av *Giardia* på människa men fungera även på djur (Rimhanen-Finne, 2008). Olika genotyper av *Giardia* utsöndrar samma protein och testen är således inte genotypspecifik. Studier på människa har visat korrelation mellan absorbans vid ELISA-analys och cystkoncentration vid mikroskopi (Addiss *et al.*, 1991).

Alla djur analyserades som enkelprov. Vid varje analys inkluderades en positiv och en negativ kontroll som medföljde testkitet, samt ett hundprov som erhållits från SVA och som var starkt positiv i deras diagnostik (immunfluorescens).

Sju positiva kalvprover med låga absorbansvärden, 0,050-0,120, i ELISA, analyserades även med immunfluorescens på direktutstryk. Som negativ kontroll användes ett prov med absorbans mindre än 0,010. Samma hundprov som var positiv kontroll i ELISA-analysen var även positiv kontroll vid immunfluorescenstesten. Alla prover var positiva i immunfluorescenstesten förutom den negativa kontrollen.

Femtiosex prover valdes också ut för upprepad ELISA-analys för att validera testresultatet. Av dessa var 43 prover positiva med absorbansvärden strax över gränsvärdet på 0,050, och 13 prover negativa med värden strax under gränsvärdet. Som slutresultat för vidare databearbetning användes absorbansmedelvärdet från de två analystillfällena. Nio koprover analyserades en andra gång, av dessa var endast en positiv vid första analysen (absorbans 0,200) och övriga negativa med absorbansvärden mellan 0,024 och 0,047. Den andra analysen visade på samma resultat som den första, med små skillnader i absorbansvärde. 47 kalvprover analyserades en andra gång, inkluderat fem negativa prover. Vid första analysen hade proverna absorbansvärden inom intervallet 0,047-0,426. Medelvärdet av de två absorbansvärdena antogs som slutresultat. Av fem, vid första analysen

negativa prover blev fyra positiva i slutresultatet. Av elva, vid första analysen positiva prover, i intervallet 0,050-0,075, blev fem negativa i slutresultatet. Resterande prover som vid första analysen låg i intervallet 0,078-0,426 förblev alla positiva i slutresultatet.

Statistiska metoder

Chi2-test användes för att jämföra andelen infekterade och icke-infekterade kalvar i olika produktions- (konventionell eller ekologisk) och inhysningssystem (ensam- eller gruppbox). Eftersom åldern hos kalvarna med avseende på prevalens, produktions- och inhysningssystem, samt prevalensen med avseende på besättningsstorlek (antal icke avvanda kalvar per besättning), ej var normalfördelade, användes icke-parametriskt Mann-Whitney U-test för att jämföra ålders- respektive prevalensskillnaden beträffande dessa parametrar.

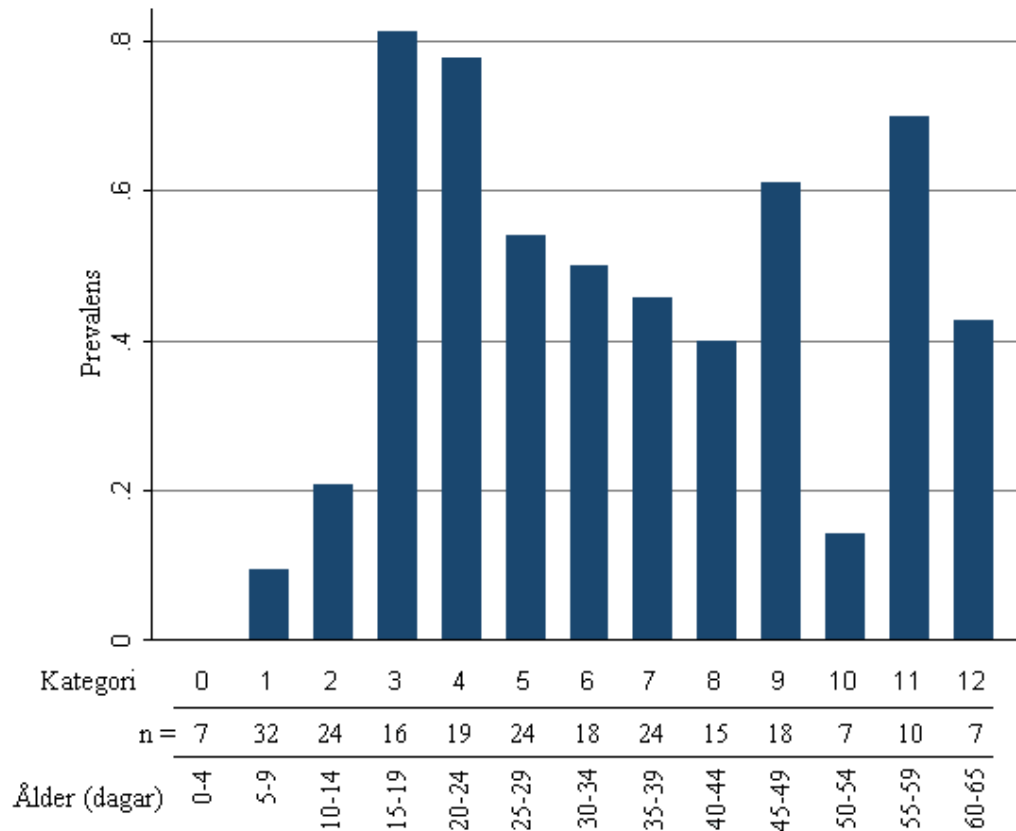
Datahantering och en del statistiska analyser har utförts i Microsoft® Office Excel® 2007 (Microsoft Corp., 2006, USA). Övriga analyser har utförts i Stata Statistical Software (Stata Corp., Texas, USA).

RESULTAT

Av 259 undersökta koprover var endast ett positivt. Det var från en ko i en konventionell lösdriftsbesättning med 71 mjölkande kor vid provtagningstillfället. Provet var taget 18 dagar efter kalvning. Uppgift om kons ålder saknades. I samma besättning var fyra av sju provtagna kalvar positiva.

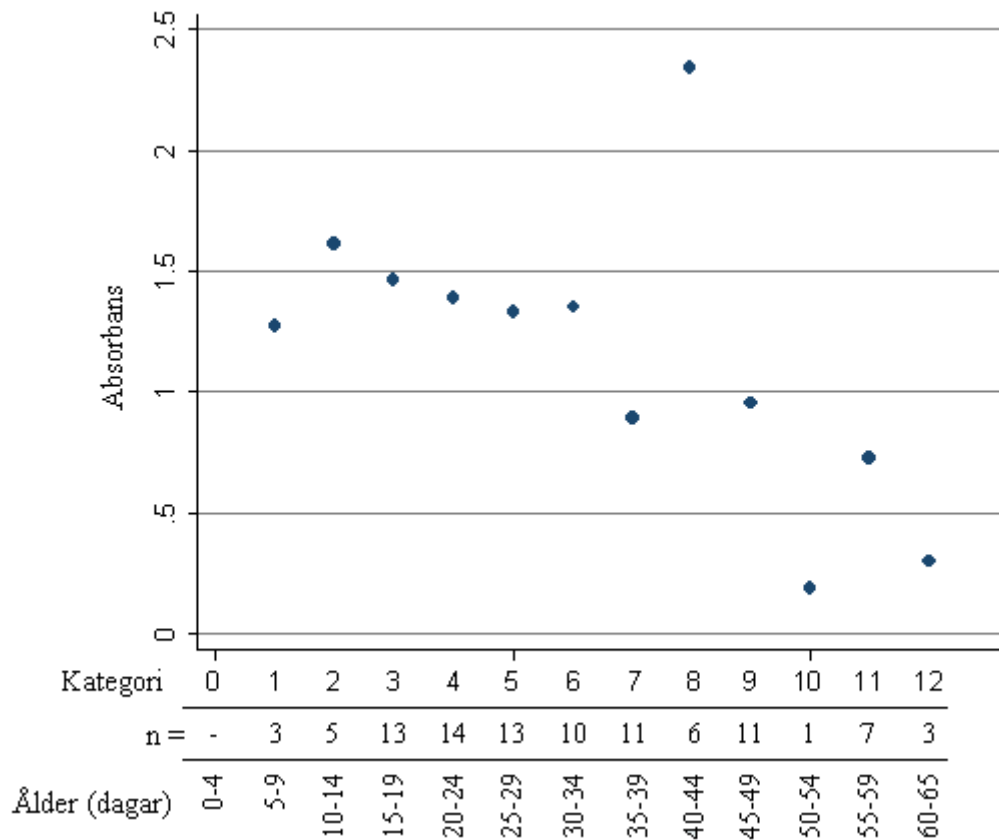
25 av de 26 provtagna besättningarna hade minst en positiv kalv. Av totalt 220 undersökta kalvprover var 97 positiva (44 %). I positiva besättningar varierade prevalensen hos kalvarna mellan 11 % (1/9) och 78 % (7/9), med ett medianvärde på 45 %.

De två yngsta positiva kalvarna var sex dagar gamla. Andelen *Giardia*-positiva kalvar relaterat till ålder (indelat i ålderskategorier vardera omfattande fem levnadsdagar) visas i Figur 1. Prevalensen för de olika ålderskategorierna ökade de första levnadsveckorna för att nå högsta värden under tredje och fjärde veckan (kategori 3 och 4, dag 15-24).



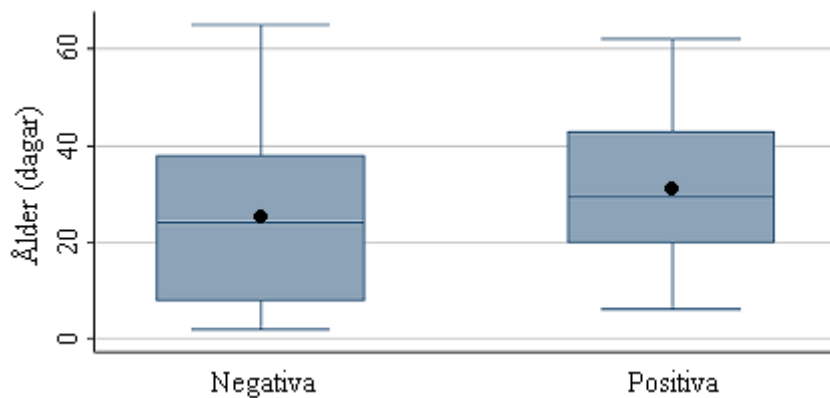
Figur 1. Prevalens av *Giardia* hos kalvar i olika ålderskategorier.

Medelabsorbans för positiva kalvar indelade i ålderskategorier illustreras i punktdiagram (Figur 2).



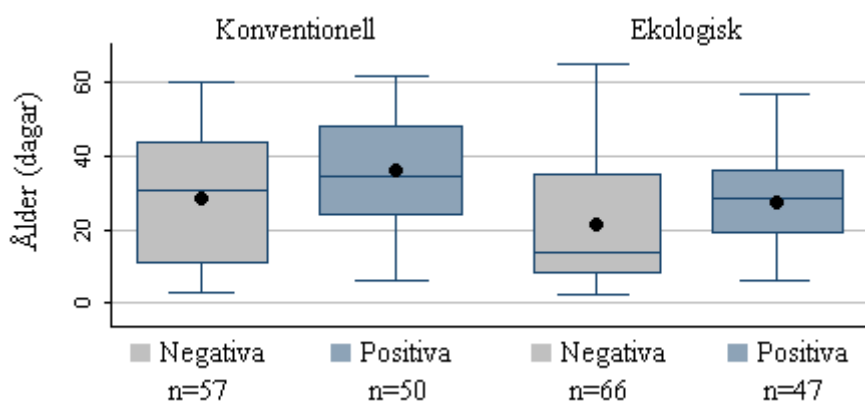
Figur 2. Medelvärde av absorbans hos *Giardia*-positiva kalvar i olika ålderskategorier.

I konventionell och ekologisk produktion var 47 % (n=107) respektive 42 % (n=113) av kalvarna positiva för *Giardia*. I ensam- och gruppbox var 42 % (n=79) respektive 45 % (n=141) av kalvarna positiva. Det var ingen statistiskt signifikant skillnad i *Giardia*-förekomst hos kalvar beroende på inhysnings- eller produktionsform. Det var inte heller någon skillnad i prevalens beroende på besättningsstorlek (antal icke avvanda kalvar per besättning). *Giardia*-positiva kalvar var dock signifikant äldre än negativa kalvar ($p < 0,001$) (Figur 3).



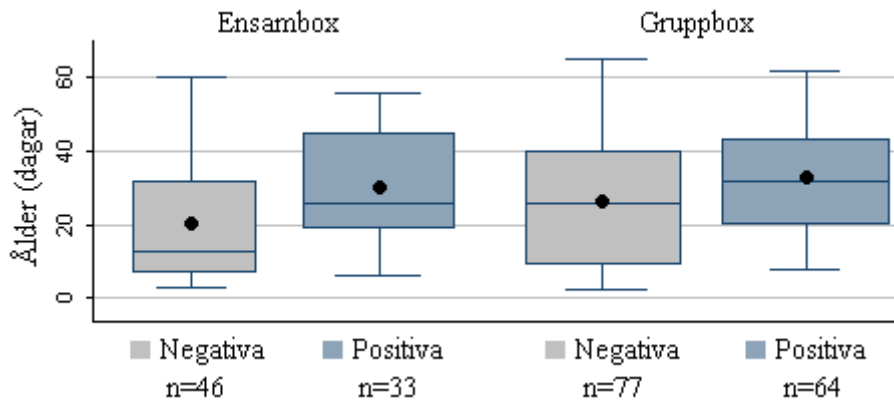
Figur 3. Ålder hos Giardia-negativa ($n=123$) och -positiva ($n=97$) kalvar (● medelvärde).

En statistiskt signifikant skillnad i ålder sågs mellan kalvar i konventionella (medelvärde=32,1 dagar) och ekologiska (medelvärde=23,9 dagar) besättningar ($p<0,001$). Positiva kalvar från konventionella ($p<0,05$) och ekologiska ($p<0,01$) besättningar var signifikant äldre än negativa kalvar i samma grupp (Figur 4). Negativa kalvar i konventionella besättningar var signifikant äldre än negativa kalvar i ekologiska besättningar ($p<0,05$). Samma skillnad i ålder sågs hos de positiva kalvarna ($p<0,01$).



Figur 4. Ålder hos positiva och negativa kalvar i olika produktionsformer (● medelvärde).

En statistiskt signifikant skillnad i ålder sågs också mellan kalvar i ensam- (medelvärde=24,3 dagar) och gruppbox (medelvärde=29,8 dagar) ($p<0,05$). Positiva kalvar i både ensam- ($p<0,01$) och gruppbox ($p<0,05$) var signifikant äldre än negativa kalvarna samma grupp (Figur 5). Negativa kalvar i gruppbox var signifikant äldre än negativa kalvar i ensambox ($p=0,05$). Ingen signifikant skillnad i ålder sågs hos positiva kalvar beroende på inhysning.



Figur 5. Ålder hos positiva och negativa kalvar i olika inhysning (● medelvärde).

Kalvar i gruppbox var signifikant äldre i konventionella besättningar jämfört med ekologiska ($p < 0,01$).

DISKUSSION

I denna första prevalensstudie i Sverige var 96 % av besättningarna positiva för *Giardia*, vilket tyder på ubikvitär förekomst av parasiten. I den negativa besättningen provtogs endast kalvar som var mellan två och nio dagar gamla. Dessa kalvar ligger på gränsen för att kunna vara positiva, med tanke på att prepatensperioden är 7-8 dagar (Taminelli *et al.*, 1989), vilket kan förklara resultatet. Besättningsprevalenser från 46-100 % har rapporterats från andra delar av världen (Tabell 3). Variationen mellan olika studier kan bero på skillnader i skötselrutiner, klimat, studiedesign (antal provtagna kalvar och besättningar, åldersfördelning på inkluderade djur, besättningsstorlek m.m.), detektionsmetod *etc.* Som exempel kan nämnas att Ruest *et al.* (1998) tog ett samlat träckprov från fem kalvar i varje besättning, vilket späder ut antalet cystor, och minskar känsligheten i diagnostiken. Quílez *et al.* (1996) provtog minst fem djur per besättning, men majoriteten av proverna var från djur äldre än fyra månader; 225 av 554 prover var från vuxna djur. Intressant är också att alla studier i Tabell 3 som redovisade besättningsprevalenser på 93-100 % använde sig av immunfluorescerande antikroppar vid den mikroskopiska undersökningen, medan de tre studier som redovisade prevalenser på 46-70 % använde sig av jodfärgning eller faskonstrastmikroskopi. Punktprevalensstudier, som här redovisats, underskattar sannolikt den sanna prevalensen då människa och djur, såsom häst och nötkreatur, utsöndrar cystor intermittent (Kirkpatrick, 1989; O'Handley *et al.*, 2000; Ralston *et al.*, 2003; Thompson *et al.*, 1993; Xiao, 1994; Xiao & Herd, 1994b).

Att endast en av 259 (0,4 %) kor var positiv stämmer bra överens med prevalensen på 0,2 % hos kor som rapporterats av Wade *et al.* (2000b) från USA. Även Quílez *et al.* (2006) såg en låg prevalens i Spanien, där endast fem (2 %) av 225 provtagna kor var infekterade. I studier från Danmark (Langkjaer *et al.*, 2006), Spanien (Castro-Hermida *et al.*, 2007) och USA (Trout *et al.*, 2007) var

prevalensen visserligen lägre hos kor än hos kalvar, men 20-27 % var ändå infekterade. En skillnad mellan dessa studier var att olika diagnostiska metoder användes. Wade *et al.* (2000b) och Quílez *et al.* (1996) koncentrerade proverna och läste sedan av utstryken med faskontrastmikroskop respektive efter jodfärgning. I de andra studierna användes immunfluorescens; i två av dem efter cystanrikning med flotation. Då ELISA-kitet som användes i denna studie anses vara lika känslig som immunfluorescens kunde man förvänta sig att prevalensen skulle varit något högre. Det positiva koprovet var taget ganska nära in på kalvning (18 dagar postpartum), men 16 kor provtagna kortare tid efter partus var negativa. Denna studie visar som många andra att infektionen är betydligt vanligare hos kalvar än hos kor.

Den yngsta positiva kalven var sex dagar gammal vilket är kortare tid efter födseln än den rapporterade prepatensperioden på 7-8 dagar (Taminelli *et al.*, 1989). ELISA detekterar cystantigen, men även proteiner som utsöndras av delande trofozoiter i tarmen, vilka kan följa med ut i avföringen innan några cystor har utsöndrats. Addiss *et al.* (1991) har vid upprepade avföringsprovtagningar på humanpatienter sett positiva resultat på ELISA före cystor observerades vid mikroskopi, vilket indikerar att tidig utsöndring av antigena proteiner möjligen föregår cystutsöndring under prepatensperioden.

Totala prevalensen hos kalvarna var 44 % (97/220) vilket stämmer bra överens med de 44 % hos en till sju veckor gamla mjölkkalvar som rapporterats från USA (Trout *et al.*, 2004). Att Björkman *et al.* (2003) i den svenska studien fann en lägre prevalens kan bero på att färre kalvar undersöktes per besättning och att dessa var äldre, upp till 90 dagar jämfört med 65 dagar i denna studie. Den relativt höga prevalensen i åldrarna 15-49 dagar (40-81 %) tyder på en trolig incidens närmare 100 % hos mjölkkalvar i Sverige, liknande det man sett i andra studier i Nordamerika och Europa (Huetink *et al.*, 2001; O'Handley *et al.*, 1999; Ralston *et al.*, 2003; Xiao & Herd, 1994a). Den högsta prevalensen, 77 % (n=25, kategori 3 och 4), sågs hos de kalvar som var 15-24 dagar gamla, vilket är något tidigare än vad andra studier visat. Maddox-Hyttel *et al.* (2006) såg högre prevalens hos kalvar yngre än en månad jämfört med en till tolv månader gamla djur. Becher *et al.* (2004) och Santín *et al.* (2009) såg högst prevalens vid fyra veckors ålder, vilka är de studier som ligger närmast detta resultat. Trots att detta inte är en långtidsstudie, kan det vara värt att notera hur prevalensen varierar mellan de olika ålderskategorierna (Figur 1). Efter en topp under tredje och fjärde levnadsveckan varierar prevalensen mellan de olika ålderskategorierna, vilket kan bero på intermitterant utsöndring.

Att de *Giardia*-positiva kalvarna var signifikant äldre än de negativa kan bero på att relativt många unga kalvar, som teoretiskt sett inte ska kunna utsöndra cystor, provtogs. Det kan inte uteslutas att resultatet skulle blivit ett annat om äldre, avvanda kalvar inkluderats i studien. Sambandet mellan ålder och förekomst av *Giardia* kan vara orsakat av det kroniska infektionsförlopp som parasiten uppvisat i andra studier (O'Handley *et al.*, 1999; Ralston *et al.*, 2003; Xiao & Herd, 1994a; Xiao *et al.*, 1993), med fortsatt utsöndring under lång tid hos en stor andel av kalvarna som primärinfekterats under de fyra första levnadsveckorna.

I denna studie sågs inget samband mellan infektion och inhysningsform vilket stämmer överens med vad O'Handley *et al.* (2000) och Maddox-Hyttel *et al.* (2006) rapporterat. Så vitt jag känner till har det inte tidigare undersökts om det finns något samband mellan *Giardia*-infektion och produktionsform. Att kalven i ekologisk produktion diar kon under hela råmjölksperioden, och på så sätt får fri tillgång till övergångsmjolk innehållande skyddande antikroppar, och samtidigt tillfredsställer sugbehovet, vilket skulle kunna medföra att de suger mindre på smittad inredning eller andra kalvar, skulle kunna vara skyddande. Vistelsen hos kon kan också vara en riskfaktor om peripartal ökning i cystutsöndring förekommer hos mjölkkor. Att ekologiska kalvar maximalt får hållas ensamma i en vecka kan göra att smittrycket ökar i och med en tidigare gruppållning.

En anledning till att det inte var skillnad i prevalens mellan kalvar i konventionell och ekologisk produktion, trots att de konventionella kalvarna var äldre, kan vara att de ekologiska kalvarna smittades tidigare. Detta kan möjligen förklaras av att ekologiska kalvar tidigare sätts ihop i gruppboxar, med ökat smittryck som följd. Det kan också tyda på att kons roll som smittkälla har betydelse, vilket studien av Wade *et al.* (2000a) antytt. Om äldre kalvar hade provtagits i ekologiska besättningar hade man möjligen sett en statistiskt signifikant skillnad i prevalens. Även fast incidensen förmodligen är lika i de olika besättningarna.

Förklaringen till att det inte var någon skillnad i ålder mellan positiva kalvar i ensam- och gruppbox, trots att kalvarna i gruppbox var äldre, skulle kunna vara att kalvar i gruppbox utsätts för ett högre smittryck och infekteras i ett tidigare skede jämfört med kalvar i ensambox.

För att kontrollera ELISA-kitets tillförlitlighet för prover som var positiva med absorbansvärden nära gränsvärdet användes direkt immunfluorescens som jämförelse. Det var en god överensstämmelse mellan metoderna och inga falskt positiva resultat med ELISA påträffades. När koprover med absorbansvärden nära cut-off-värdet analyserades en andra gång med ELISA visade de alla samma resultat, men kalvproverna varierade något. Trots att absorbansvärdena var snarlika de i första analysen så ändrades slutresultaten från negativt till positivt eller vice versa för nio av de 16 kalvproverna med absorbansvärden mellan 0,047 och 0,075. Slutresultatet ändrades dock inte för något av de 30 kalvprover med absorbansvärden över 0,075 som analyserades en andra gång. ELISA-testen bedömdes därför ha en god reproducerbarhet och de små skillnader i absorbans som uppmättes beror förmodligen på skillnad i den mängd provmaterial som med tops slammades upp i spädningsvätska.

Hittills har bara en mindre studie genomförts där man undersökt förekomsten av *Giardia*-genotyper hos svenska nötkreatur (Lebbad *et al.*, 2010). Av 19 isolat från djur av icke angiven ålder, tillhörde alla genotyp E. Genotyp A, den subgenotyp som förekommer hos människa, hittades dock hos får. Fler studier av detta slag, och som även inkluderar subgenotypning, krävs för att klargöra om *Giardia*-infektion hos svenska nötkreatur kan vara zoonotisk.

Sammanfattningsvis visar studien att *Giardia* är ubikvitär i svenska konventionella och ekologiska mjölkbesättningar, med hög prevalens hos kalvar i ung ålder, och låg prevalens hos kor.

TACK

Camilla Björkman, Charlotte Silverlås och Caroline Larsson för värdefulla synpunkter på arbetet samt hjälp vid laboration, datahantering och statistisk analys. Jag vill även tacka Gulli Strålfeldts fond för bidrag som möjliggjorde studiens omfattning.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Adam, RD. (2001) Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews*. July. 447-75.
- Addiss, DG., Mathews, HM., Stewart, JM., Wahlquist, SP., Williams, RM., Finton, RJ., Spencer, HC., Juranek, DD. (1991) Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for *Giardia lamblia* antigen in stool. *Journal of Clinical Microbiology*. 29. 1137-42.
- Appelbee, AJ., Frederick, LM., Heitman, TL., Olson, ME. (2003) Prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* from beef calves in Alberta, Canada. *Veterinary Parasitology*. 112. 4. 289-94.
- Andrews Jr., JS., Hewlett, EL. (1981) Protection Against Infection with *Giardia muris* by Milk Containing Antibody to *Giardia*. *Journal of Infectious Disease*. 143. 2. 242-6.
- Becher, KA., Robertson, ID., Fraser, DM., Palmer, DG., Thompson, RC. (2004) Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. *Veterinary Parasitology*. 123. 1-9.
- Bemrick, WJ., Erlandsen, SL. (1988) Giardiasis - is it really a zoonosis? *Parasitology Today*. 4. 3. 69-71.
- Bernander, R., Palm, JE., Svärd, SG. (2001) Genome ploidy in different stages of the *Giardia lamblia* life cycle. *Cellular Microbiology*. 3. 1. 55-62.
- Björkman, C., Svensson, C., Christensson, B., de Verdier, K. (2003) *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 44. 145-52.
- Boone, JH., Wilkins, TD., Nash, TE., Brandon, JE., Macias, EA., Jerris, RC., Lyerly, DM. (1999) TechLab and alexon *Giardia* enzyme-linked immunosorbent assay kits detect cyst wall protein 1. *Journal of Clinical Microbiology*. 37. 611-4.
- Bowman, DD. (2005) What's in a name. *Trends in Parasitology*. 21. 6. 267-9.
- Bowman, DD. (2009) *Georgi's Parasitology for Veterinarians*. 9. ed. St. Louis: Saunders Elsevier.
- Buret, A., den Hollander, N., Wallis, PM., Befus, D., Olson, ME. (1990) Zoonotic potential of giardiasis in domestic ruminants. *The Journal of Infectious Diseases*. 162. 231-7.
- Cacciò, SM., Thompson, RC., McLauchlin, J., Smith, HV. (2005) Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends in Parasitology*. 21. 9. 430-7.
- Castro-Hermida, JA., Almeida, A., González-Warleta, M., Correia da Costa, JM., Rumbo-Lorenzo, C., Mezo, M. (2007) Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and

- Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. *Parasitology Research*. 141. 1443-8.
- Castro-Hermida, JA., Carro-Corral, C., González-Warleta, M., Mezo, M. (2006) Prevalence and intensity of infection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Galicia (NW Spain). *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*. 53. 244-6.
- Coklin, T., Farber, JM., Parrington, LJ., Coklin, Z., Ross, WH., Dixon, BR. (2010) Temporal changes in the prevalence and shedding patterns of *Giardia duodenalis* cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts in a herd of dairy calves in Ontario. *The Canadian Veterinary Journal*. 51. 841-6.
- Coklin, T., Farber, J., Parrington, L., Dixon, B. (2007) Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Ontario, Canada. *Veterinary Parasitology*. 150. 4. 297-305.
- Deshpande, PD., Shastri, UV. (1981) Incidence of *Giardia* Infection in Calves in Maharashtra State, India. *Tropical Animal Health and Production*. 13. 34.
- De Verdier, K. (2006) Infektionspanoramata vid diarréer hos svenska kalvar. *Svensk Veterinärtidning*. 8-9. 29-32.
- Dhama, K., Chauhan, RS., Mahendran, M., Malik, SV. (2008) Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals. *Veterinary Research Communications*. 33. 1-23.
- Erlandsen, SL., Bemrick, WJ., Wells, CL., Feely, DE., Knudson, L., Campbell, SR., van Keulen, H., Jarroll, EL. (1990) Axenic culture and characterization of *Giardia ardeae* from the great blue heron (*Ardea herodias*). *The Journal of Parasitology*. 76. 717-24.
- Erlandsen, SL., Bemrick, WJ. (1987) SEM evidence for a new species, *Giardia psittaci*. *The Journal of Parasitology*. 73. 623-9.
- Europakommissionens förordning (EU) nr 37/2010 av den 22 december 2009 om farmakologiskt aktiva substanser och deras klassificering med avseende på MRL-värden i animaliska livsmedel.
- Ey, PL., Mansouri, M., Kulda, J., Nohynkova, E., Monis, PT., Andrews, RH., Mayrhofer, G. (1997) Genetic Analysis of *Giardia* from Hoofed Farm Animals Reveals Artiodactyl-Specific and Potentially Zoonotic Genotypes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 44. 6. 626-35.
- Fall, N., Gröhn, YT., Forslund, K., Essen-Gustafsson, B., Niskanen, R., Emanuelson, U. (2008) An observational study on early-lactation metabolic profiles in Swedish organically and conventionally managed dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 91. 3983-92.
- Faubert, GM. (1988) Evidence that giardiasis is a zoonosis. *Parasitology Today*. 4. 66-8.
- Feely, DE. (1988) Morphology of the Cyst of *Giardia microti* by Light and Electron Microscopy. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 35. 52-4.
- Gasser, RB., Eckert, J., Rohrer, L. (1987) Isolation of *Giardia* from Swiss cattle and cultivation of trophozoites in vitro. *Parasitology Research*. 73. 182-3.
- Geurden, T., Geldhof, P., Levecke, B., Martens, C., Berkvens, D., Casaert, S., Vercruyse, J., Claerebout, E. (2008) Mixed *Giardia duodenalis* assemblage A and E infections in calves. *International Journal for Parasitology*. 38. 259-64.
- Hamnes, IS. (2008) *Cryptosporidium* and *Giardia* in selected domestic and wild animal species in Norway. PhD-avhandling. *Norwegian School of Veterinary Science*.

- Hamnes, IS., Gjerde, B., Robertson, L. (2006) Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway. *Veterinary Parasitology*. 140. 3-4. 204-16.
- Hanson, KL., Cartwright, CP. (2001) Use of an enzyme immunoassay does not eliminate the need to analyze multiple stool specimens for sensitive detection of *Giardia lamblia*. *Journal of Clinical Microbiology*. 39. 474-7.
- Heath, SE. (1992) Neonatal diarrhea in calves: investigation of herd management practices. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian*. Mars. 14. 3. 385-8. 390-5.
- Heyworth, MF., (1992) Immunology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections. *The Journal of Infectious Diseases*. 166. 465-72.
- Hopkins, RM., Meloni, BP., Groth, DM., Wetherall, JD., Reynoldson, JA., Thompson, RC. (1997) Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of *Giardia* isolates recovered from humans and dogs living in the same locality. *The Journal of Parasitology*. 83. 44-51.
- Huetink, REC., van der Giessen, JWB., Noordhuizen, JPTM., Ploeger, HW. (2001) Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. *Veterinary Parasitology*. 102. 53-67.
- Islam, A. (1990) Giardiasis in developing countries. Meyer, E.A. (ed.) *Giardiasis*. Elsevier, Amsterdam. 235–66.
- Kasprzak, W., Pawlowski, Z. (1989) Zoonotic aspects of giardiasis: a review. *Veterinary Parasitology*. 32. 101-8.
- Kirkpatrick, CE. (1987) Giardiasis. *Veterinary Clinics of North America, Parasitic infections*. 17. 6. 1377-87.
- Kirkpatrick, CE. (1989) Giardiasis in large animals. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian*. 11. 1. 80-4, 86.
- Kulda, J., Nohynkova, E. (1978) Flagellates of the human intestine and of intestine of other species. *Parasitic protozoa*. 2. Kreier, JP. (ed.) 1–138. New York.
- Langkjaer, RB., Vigre, H., Enemark, HL., Maddox-Hyttel, C. (2006) Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from pigs and cattle in Denmark. *Parasitology*. 2007. 134. Epub: 2006.
- Lebbad, M., Mattsson, JG., Christensson, B., Ljungström, B., Backhans, A., Andersson, JO., Svärd, SG. (2010) From mouse to moose: multilocus genotyping of *Giardia* isolates from various animal species. *Veterinary Parasitology*. 168. 231-9.
- LeChevallier, MW., Norton, WD., Lee, RG. (1991) Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in surface water supplies. *Applied and Environmental Microbiology*. 57. 9. 2610-6.
- Ljungström, BL., Svärd, S., Schwan, O., (2001) Förekomst och klinisk betydelse av giardiainfektion hos lamm i Sverige. *Svensk Veterinärtidning*. 53. 13. 693-5.
- Maddox-Hyttel, C., Langkjaer, RB., Enemark, HL., Vigre, H. (2006) *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs—Occurrence and management associated risk factors. *Veterinary Parasitology*. 141. 1-2. 48-59.
- Mebus, CA., Stair, EL., Rhodes, MB., Twiehaus, MJ. (1973) Pathology of neonatal calf diarrhea induced by a coronavirus-like agent. *Veterinary Pathology*. 10. 1. 45-64.
- Mekaru, SR., Marks, SL., Felley, AJ., Chouicha, N., Kass, PH. (2007) Comparison of direct immunofluorescence, immunoassays, and fecal flotation for detection of

- Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in naturally exposed cats in 4 Northern California animal shelters. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 21. 5. 959-65.
- Monis, PT., Andrews, RH., Mayrhofer, G., Ey, PL. (2003) Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infection, Genetics and Evolution*. 3. 29–38.
- Nayak, N., Ganguly, NK., Walia, BN., Wahi, V., Kanwar, SS., Mahajan, RC. (1987) Specific secretory IgA in the milk of *Giardia lamblia*-infected and uninfected women. *The Journal of Infectious Diseases*. 155. 724-7.
- O'Handley, RM., Cockwill, C., McAllister, TA., Jelinski, M., Morck, DW., Olson, ME. (1999) Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 214. 3. 391-6.
- O'Handley, RM., Olson, ME. (2006) Giardiasis and Cryptosporidiosis in Ruminants. *Veterinary Clinics Food Animal Practice*. 22. 623-43.
- O'Handley, RM., Olson, ME., Fraser, D., Adams, P., Thompson, RC. (2000) Prevalence and genotypic characterisation of *Giardia* in dairy calves from Western Australia and Western Canada. *Veterinary Parasitology*. 90. 3. 193-200.
- O'Handley, RM., Olson, ME., McAllister, TA., Morck, DW., Jelinski, M., Royan, G., Cheng, KJ. (1997) Efficacy of fenbendazole for treatment of giardiasis in calves. *American Journal of Veterinary Research*. 58. 4. 384-8.
- Olson, ME., Guselle, NJ., O'Handley, RM., Swift, ML. (1997a) *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in British Columbia. *The Canadian Veterinary Journal*. 38. 703-6.
- Olson, ME., McAllister, TA., Deselliers, L., Morck, DW., Cheng, KJ., Buret, AG., Ceri, H. (1995) Effects of giardiasis on production in a domestic ruminant (lamb) model. *American Journal of Veterinary Research*. 56. 11. 1470-4.
- Olson, ME., Thorlakson, CL., Deselliers, L., Morck, DW., McAllister, TA. (1997b) *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. *Veterinary Parasitology*. 68. 375-81.
- Quílez, J., Sánchez-Acedo, C., del Cacho, E., Clavel, A., Causapé, AC. (1996) Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragón (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*. 66. 139-46.
- Ralston, BJ., McAllister, TA., Olson, ME. (2003) Prevalence and infection pattern of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in range beef calves and their dams. *Veterinary Parasitology*. 114. 113-122.
- Reynolds, DJ., Morgan, JH., Chanter, N., Jones, PW., Bridger, JC., Debney, TG., Bunch, KJ. (1986) Microbiology of calf diarrhoea in southern Britain. *The Veterinary record*. 119. 34-9.
- Rimhanen-Finne, R. (2008) *Cryptosporidium* and *Giardia*: detection in environmental and faecal samples. *University of Helsinki*.
- Ruest, N., Couture, Y., Faubert, GM. (1995) Pathogenic Potential of *Giardia* Infection in Cattle. *Parasitology Today*. 11. 5. 184.
- Ruest, N., Faubert, GM., Couture, Y. (1998) Prevalence and geographical distribution of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in dairy farms in Quebec. *The Canadian Veterinary Journal*. 39. 11. 697-700.

- Santín, M., Trout, JM., Fayer, R. (2009) A longitudinal study of *Giardia duodenalis* genotypes in dairy cows from birth to 2 years of age. *Veterinary Parasitology*. 162. 1-2. 50-5.
- Smith, BP. (2009) Large Animal Internal Medicine. 4. ed. St. Louis: Mosby Elsevier.
- Snodgrass, DR., Terzolo, HR., Sherwood, D., Campbell, I., Menzies, JD., Synge, BA. (1986) Aetiology of diarrhoea in young calves. *The Veterinary Record*. 119. 31-4.
- St Jean, G., Couture, Y., Dubreuil, P., Fréchette, JL. (1987) Diagnosis of *Giardia* infection in 14 calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 191. 7. 831-2.
- SWEPAR (2001) Notable parasitological findings 1998-2000. Meddelande från parasitologen. Treårsrapport 1998-2000. 19.
- Taminelli, V., Eckert, J., Sydler, T., Gottstein, B., Corboz, L. (1989) Experimental infection of calves and sheep with bovine *Giardia* isolates. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 131.
- Taylor, MA., Coop, RL., Wall, RL. (2007) *Veterinary Parasitology*. 3 ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
- Thompson, RC., Reynoldson, JA., Mendis, AH. (1993) *Giardia* and giardiasis. *Advances in Parasitology*. 32. 71-160.
- Thompson, RC., Lymbery, AJ., Meloni, BP., Binz, N. (1990) The zoonotic transmission of *Giardia* species. *The Veterinary Record*. 126. 20. 513-4.
- Thompson, RC., Monis, PT. (2004) Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. *Advances in Parasitology*. 58. 69-137.
- Trout, JM., Santín, M., Fayer, R. (2007) Prevalence of *Giardia duodenalis* genotypes in adult dairy cows. *Veterinary Parasitology*. 147. 3-4. 205-9.
- Trout, JM., Santín, M., Greiner, E., Fayer, R. (2004) Prevalence of *Giardia duodenalis* genotypes in pre-weaned dairy calves. *Veterinary Parasitology*. 124. 179-86.
- Trout, JM., Santín, M., Greiner, E., Fayer, R. (2005) Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in post-weaned dairy calves. *Veterinary Parasitology*. 130. 177-83.
- Tzipori, S. (1981) The aetiology and diagnosis of calf diarrhoea. *The Veterinary Record*. 13. 108. 510-5.
- Traub, R., Wade, S., Read, C., Thompson, A., Mohammed, H. (2005) Molecular characterization of potentially zoonotic isolates of *Giardia duodenalis* in horses. *Veterinary Parasitology*. 130. 3-4. 317-21.
- van Keulen, H., Macechko, PT., Wade, S., Schaaf, S., Wallis, PM., Erlandsen, SL. (2002) Presence of human *Giardia* in domestic, farm and wild animals, and environmental samples suggests a zoonotic potential for giardiasis. *Veterinary Parasitology*. 108. 97-107.
- Wade, SE., Mohammed, HO., Schaaf, SL. (2000a) Epidemiologic study of *Giardia* sp. infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Veterinary Parasitology*. 89. 11-21.
- Wade, SE., Mohammed, HO., Schaaf, SL. (2000b) Prevalence of *Giardia* sp., *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* (*C. andersoni*) in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York. *Veterinary Parasitology*. 93. 1-11.

- Weniger, BG., Blaser, MJ., Gedrose, J., Lippy, EC., Juranek, DD. (1983) An outbreak of waterborne giardiasis associated with heavy water runoff due to warm weather and volcanic ashfall. *American Journal of Public Health*. 73. 868-72.
- Xiao, L. (1994) Giardia Infection in Farm Animals. *Parasitology Today*. 10. 11. 436-8.
- Xiao, L., Herd, RP. (1993) Quantitation of Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts in fecal samples by direct immunofluorescence assay. *Journal of Clinical Microbiology*. 31. 11. 2944-6.
- Xiao, L., Herd, RP. (1994a) Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. *Veterinary parasitology* 55, 257-62.
- Xiao, L., Herd, RP. (1994b) Epidemiology of equine *Cryptosporidium* and *Giardia* infections. *Equine Veterinary Journal*. 26. 1. 14-7.
- Xiao, L., Herd, RP., Bowman, GL. (1994a) Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections on two Ohio pig farms with different management systems. *Veterinary Parasitology*. 52. 3-4. 331-6.
- Xiao, L., Herd, RP., McClure, KE. (1994b) Periparturient Rise in the Excretion of *Giardia* sp. Cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a Source of Infection for Lambs. *The Journal of Parasitology*. 80. 1. 55-9.
- Xiao, L., Herd, RP., Rings, DM. (1993) Concurrent infections of *Giardia* and *Cryptosporidium* on two Ohio farms with calf diarrhea. *Veterinary Parasitology*. 51. 41-8.
- Xiao, L., Saeed, K., Herd, RP. (1996) Efficacy of albendazole and fenbendazole against *Giardia* infection in cattle. *Veterinary Parasitology*. 61. 1-2. 165-70.
- Zajac, AM. (1992) Giardiasis. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian*. 14. 604–11.

Elektroniska dokument

- SVA - Statens Veterinärmedicinska Anstalt. Avd för djurhälsa och antibiotikafrågor. Diarré hos småkalvar. [online](2010-08-23) Tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/navigera/Djurhalsa/Not/Sjukdomar-hos-notkreatur/Diarre-hos-smakalvar/> [2010-09-15]
- SVA - Statens Veterinärmedicinska Anstalt. Avd för djurhälsa och antibiotikafrågor. *Giardia intestinalis*. [online](2010-10-12) Tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/navigera/Djurhalsa/Hund/Parasiter/Giardia-intestinalis/> [2010-10-23]
- SMI – Smittskyddsinstitutet. Sjukdomsinformation om *giardiainfektion*. [online](2010-07-29) Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/giardiainfektion/> [2010-09-15]