

Coccidiose hos kvæg:
En oversigt over coccidiearter, patogenese, epidemiologi og
forebyggelse specielt i økologiske besætninger

Af: Charlotte Maddox-Hyttel¹ & Ellen-Margrethe Vestergaard²

¹ Seniorforsker, Sektion for Parasitologi,
Danmarks Veterinærinstitut, Bülowsvej 27,
DK-1790 København V

² Seniorforsker, Danmarks Jordbrugsforskning,
Foulum, P.O. Boks 50, DK-8830 Tjele

Forord

Denne rapport er udfærdiget som en litteraturoversigt med det formål at danne en teoretisk baggrund for studier af coccidiose i danske økologiske malkekvægsbesætninger. Disse studier foregår i regi af det FØJO-II støttede forskningsprojekt: "Improvement of animal health and welfare in organic dairy production with special focus on the calves"(HEWDAICA) under projektleder Mette Vaarst. Rapporten er udarbejdet i forbindelse med et samarbejde mellem forskere på Danmarks Jordbrugsforskning, Foulum (Ellen-Margrethe Vestergaard, Klaus Lønne Ingvartsen) og Danmarks Veterinærinstitut (Charlotte Maddox-Hyttel).

Indholdsfortegnelse

Sammendrag	4
Summary	5
1. Indledning	6
2. Coccidier og deres livscyklus	7
<i>Coccidier - generelle betragtninger</i>	7
<i>Coccidier - livscyklus og biologi</i>	7
<i>Cocciernes livscyklus - artsrelaterede forhold</i>	10
3. Diagnostik og prævalens af coccidiose	12
<i>Diagnostik</i>	12
Laboratoriemetoder.....	12
Tolkning af diagnostisk fund	15
<i>Prævalens af coccidiose</i>	15
Egne studier af kalve i økologiske besætninger.....	17
4. Klinisk og subklinisk coccidiose	18
<i>Kliniske sygdomstegn</i>	18
<i>Subklinisk tilstand</i>	18
<i>Patogenicitet af de forskellige coccidiearter</i>	19
<i>Patofysiologiske og patologiske forandringer</i>	20
<i>Sammenhæng mellem coccidiose og andre sygdomme</i>	21
5. Kalvens modtagelighed overfor coccidiose	22
<i>Råmælksforsyning og immunitet</i>	22
<i>Ernæringsstatus</i>	24
<i>Stress</i>	25
6. Miljøets betydning for udvikling af coccidiose	26
<i>Staldcoccidiose</i>	26
<i>Græsmarkscoccidiose</i>	26
7. Forebyggelse af coccidiose	27
<i>Management faktorer</i>	27
<i>Forebyggelse af græsmarkscoccidiose</i>	28
<i>Immunisering</i>	28
8. Pasning af kalve med coccidiose	29
9. Konklusion	30
10. Referencer	31

Sammendrag

Coccidiose hos kalve forårsages af arter af de encellede parasitter, *Eimeria*, der findes vidt udbredt i alle verdensdele, og som giver anledning til diarré og utrivelighed hos især unge og modtagelige dyr. Hos kvæg findes 12 forskellige *Eimeria* arter, der adskiller sig fra hinanden med hensyn til morfologi, livscyklus og patogenitet. Infektion med *Eimeria* kan diagnosticeres ved forskellige laboratoriemetoder, hvorved bl.a. antallet og arten af coccidier forsøges fastslået. Således skabes grundlag for bestemmelse af hvilke forebyggende tiltag, der eventuelt bør iværksættes. Ved undersøgelse af 258 kalve fra 25 danske økologiske malkekvægsbesætninger fandt vi *Eimeria*-arter i alle (100%) besætninger og i 88% af kalvene. De fleste kalve udskilte meget lavgradige mængder af coccidier i gødningen, medens nogle havde særdeles høje coccidieudskillelser.

Coccidiose er en multifaktoriel sygdom, og sværhedsgraderne af sygdommen varierer derfor fra subkliniske tilfælde til nogle med løs, pastøs fæces af en enkelt dags varighed eller profus diarré med dysenteri, tenesmus og evt. mors. De kliniske symptomer tillægges traditionelt tilstedeværelsen af coccidiearterne *Eimeria zuernii* og *E. bovis*. Kalvens modtagelighed for coccidiose afhænger bl.a. af råmælksforsyning og immunitet, ernæringsstatus, stress, og evt. forekomst af andre sygdomme (f.eks. samtidige helminth- eller virusinfektioner). Endelig har også miljøet betydning for udvikling af coccidiose, herunder opstaldningstæthed, klima og hygiejne. Total udryddelse af coccidier er ikke muligt pga. parasittens ubikvitære forekomst og resistens i miljøet, men kalven kan styrkes ved sikring af tilstrækkelige råmælksmængder og ved opretholdelse af høj hygiejne i kælvningsboksen, samt efterfølgende opstaldningsforhold. Aktiv immunisering (vaccination) har endnu ikke vist sig effektiv i større målestok. Der foreligger ikke yderligere retningslinier for forebyggelse i perspektiv af de økologiske regler. Kalve, der har klinisk coccidiose, bør isoleres fra de øvrige kalve og gives væsketerapi for at opretholde væskebalancen. Den bedste behandling er imidlertid forebyggelse - med fokus på belægningsgrad og høj hygiejne inklusive rigeligt med tør strøelse.

Summary

Coccidiosis in calves is caused by species of the protozoan parasites, *Eimeria*, which are widespread throughout the World and which give rise to diarrhea and unthriftiness especially in young and susceptible individuals. In cattle are found 12 *Eimeria* species, which differ according to morphological characteristics, life cycle and pathogenicity. Infection with *Eimeria* may be diagnosed by various laboratory techniques whereby, e.g., the number and species of coccidia are determined. This allows subsequent determination of possible preventive measures to be taken in a given herd. Upon examining 258 calves from 15 Danish organic dairy herds we found *Eimeria* species in all (100%) herds and in 88% of the calves. Most calves excreted very low-grade amounts of coccidia in their feces while few of them had very high coccidia excretion levels.

Coccidiosis is a multi-factorial disease, hence the severity of symptoms varies from sub-clinical cases to some with loose, pasty feces lasting 1 day or to profuse diarrhea including dysentery, tenesmus or even death. The clinical symptoms usually are ascribed to the presence of the species *Eimeria zuernii* and *E. bovis*. The susceptibility of the calf towards coccidiosis depends, i.a., on the colostrum-supply and the immune status of the calf, the nutritional state, stress, and possibly the occurrence of other diseases (e.g. concurrent helminth or viral infections). Finally, the environment is of importance, including the stocking density, climate and hygiene. Complete eradication of coccidia is not possible due to their ubiquitous nature and high resilience in the environment. However, the calf may be strengthened by a guaranteed colostrum supply and by the maintenance of high levels of hygiene in the calving box as well as in calf huts and stalls. Active immunization (vaccination) has not yet proved effective at a larger scale. There are not yet any particular guidelines for the prevention of coccidiosis under the conditions reigning in ecological dairy herds. Calves, which have clinical coccidiosis, should be isolated from the remaining flock and be given fluid/electrolyte therapy to maintain the fluid balance. Notwithstanding, the best therapy is prevention - with focus on stocking density and high levels of hygiene throughout, including ample amounts of dry bedding.

1. Indledning

En dyregruppe, som i høj grad har været overset i den økologiske malkekvægsbesætning, er gruppen af kalve. Ikke desto mindre er der sket mange regelændringer, som berører deres opstaldning og pasning, og de har været i fagfolks såvel som mediernes søgelys på grund af konkrete sygdoms- og velfærdsproblemer. Det er uacceptabelt, at der tilsyneladende er en gruppe dyr indenfor den økologiske produktionsform, som generelt har sygdomsproblemer og dermed nedsat velfærd. Bovin coccidiose er en smitsom enteritis (tarmbetændelse) hos unge kalve (især i alderen 1-6 mdr.), som har væsentlig indflydelse på kalvenes vækst og velfærd. Coccidiose er angivet at være et betydende problem blandt kalve i økologisk drevne malkekvægsbesætninger. Hidtil har der ikke været nogen viden om forekomsten af coccidier inklusive den relative forekomst af de forskellige coccidiearter i de økologiske besætninger. Der er generelle forslag m.h.p. forebyggelse og kontrol, men ingen der tager hensyn til de særlige forhold, der gælder for de økologisk drevne besætninger. Vores mål i forskningsprojektet blev derfor at beskrive infektionsmønsteret i et antal økologiske besætninger. Herved er det vores ønske at kunne give forslag til optimering af driftsrutiner og forslag til konkrete tiltag der kan reducere risikoen for udbrud af coccidiose blandt kalvene. Der vil primært blive fokuseret på staldcoccidiose hos gruppeopstaldede kalve. Dette er indledningsvis sket ved en kortlægning af coccidioseproblemets omfang og art (herunder bestemmelse af involverede coccidiearter), samt forekomst af kendte risikofaktorer for coccidiose. Med basis i konklusionen af dette arbejde gennemføres eksperimentelle studier i 6 besætninger, som har problemer med coccidiose. Veldefinerede risikofaktorer relateret til fodring og management vil blive udvalgt og afprøvet.

Som baggrund for disse studier fandt vi det relevant at gennemgå litteraturen. Rapporten er resultatet af denne litteraturgennemgang i kombination med de opgjorte fund fra vores indledende screening af kalve i 25 økologiske malkekvægsbesætninger.

2. Coccidier og deres livscyklus

Coccidier – generelle betragtninger

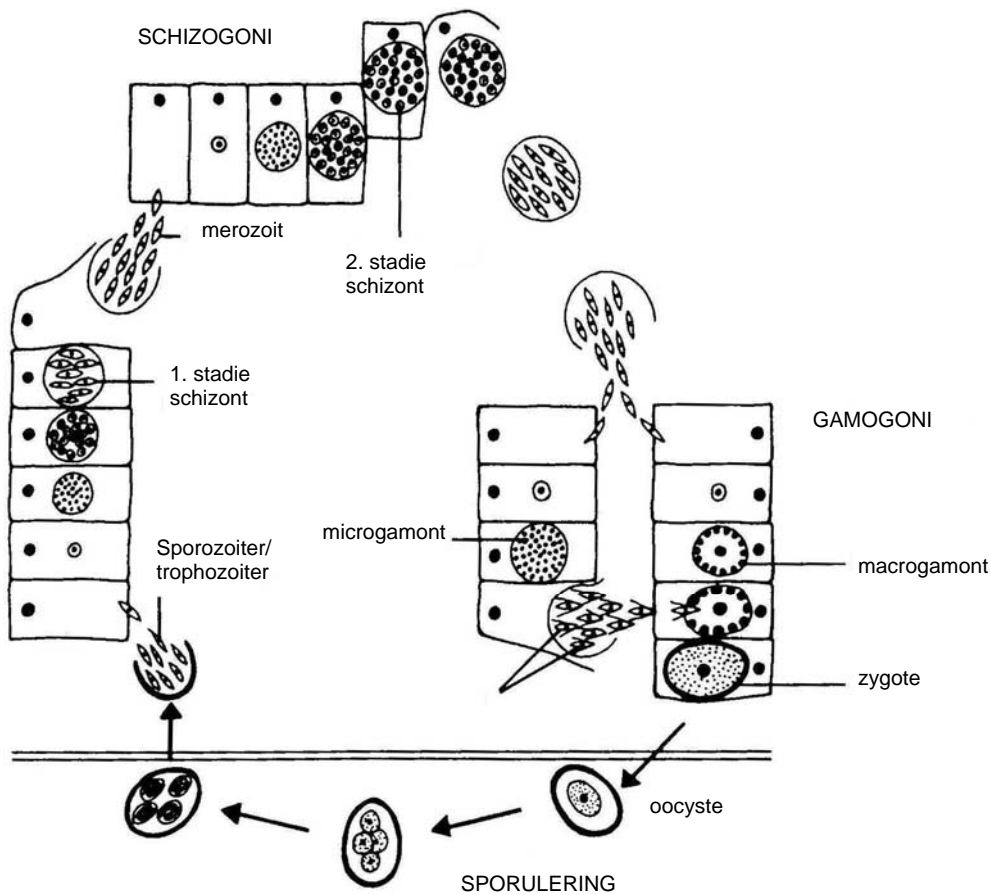
Coccidier er encellede organismer (protozoer) hørende til i gruppen af Apicomplexa (Tabel 1). De er obligat intracellulære parasitter, der forårsager destruktion af de inficerede celler. Coccidierne udvikler sig typisk i mave-tarmkanalens epithelceller og smitter i hovedsagen via fæceskontamination. Reproduktion sker ved ganske fastlagte mønstre af asekuelle og seksuelle multiplikationsstadier i værtsdyret. Coccidier af slægten *Eimeria* er karakteriseret ved særdeles høj grad af værtsspecificitet, såvel som specificitet m.h.t. hvilket organ, der inficeres, samt hvilken celletype hhv. tarmsektion der invaderes. Hver af coccidiernes udviklingsstadier vil således have en typisk lokalisering i tarmen, som regel progredierende mere bagud med et stigende antal generationer (Marquardt, 1973; Bowman, 1995).

Tabel 1: Klassifikation af coccidier af veterinær betydning

Phylum	PROTOZOA		
Subphylum	APICOMPLEXA		
Klasse	COCCIDIA		
Familie	EIMERIIDAE	CRYPTOSPORIDAE	SARCOCYSTIDAE
Slægt	<i>Eimeria</i> <i>Isospora</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Sarcocystis</i> <i>Toxoplasma</i> <i>Neospora</i>

Coccidiernes livscyklus og biologi

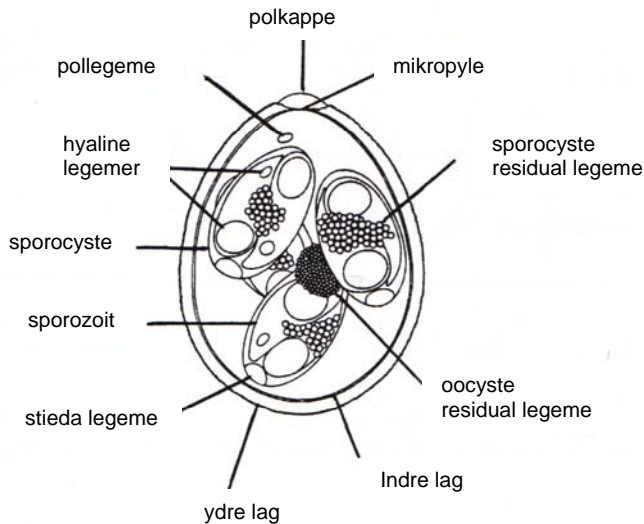
Den funktionelle enhed af coccidien er en ”zoit”, en bevægelig banan- eller cigarformet celle, rundet i den ene ende og spids i den anden (apikale) ende. Det er zoiten, der migrerer i værten og invaderer cellerne og således repræsenterer begyndelsen og slutningen af livsprocesserne. Et præfiks viser, hvilken del af livscyklus zoiten tilhører. Således er sporozoiter de infektiøse former, der findes i sporulerede oocyster. Trophozoiter (betegnelse umiddelbart efter første invasion af epithelceller) invaderer værtsceller, hvor de danner mange merozoiter ved binær fission (deling), såkaldt schizogoni. Schizogonien synes at foregå et fastlagt antal gange. Dette er bl.a. vist eksperimentelt ved at overføre merozoiter fra et inficeret til et uinficeret dyr. Disse merozoiter fuldførte deres udvikling i værten, præcis som hvis dette havde været det første værtsdyr (Roudabush, 1935; jf. Marquardt, 1973). Efter den sidste schizogoni dannes merozoiter, der invaderer nye værtsceller og udvikler sig enten til hanlige eller hunlige gametocytter. Den hunlige gametocyt (makrogamont) forstørres, oplagrer næringsstoffer og inducerer hypertrofi af både cytoplasma og kerne af værtscellen. Den hanlige gametocyt (mikrogamont) gennemgår gentagne keredelinger og bliver multinukleær. Hver kerne bliver endelig inkorporeret i en biflagellat mikrogamet.



Figur 1: Livscyklus af *Eimeria* (efter Urquhart et al., 1996)

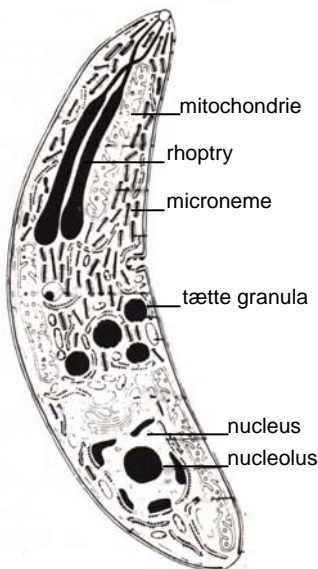
Af de mange mikrogameter, der dannes, når kun et fåtal frem til at befrugte en makrogamont, hvorved der dannes en zygote. En væg opstår omkring zygoten ved en sammensmeltning af hyalingranula i periferien, og herved dannes en oocyste. Oocysten frigøres ved ruptur af værtscellen og passerer med fæces ud i det fri, hvor en sporulering foregår. I løbet af nogle dage (på betingelse af tilstrækkelig ilt og fugtighed samt moderate temperaturer, se nedenfor) vil cellen i oocysten dele sig til 4 sporoblaster. Hver sporoblast udvikler sig til en sporocyste, der indeholder 2 haploide sporozoit, hvorved den infektiøse sporulerede oocyste er udviklet, og livscyklus fuldført (Figur 2). I forbindelse med sporuleringen kan der hos nogle *Eimeria* arter dannes residuallegemer såvel i oocysten som i sporocysterne. Disse kan anvendes diagnostisk, men det er beskrevet, at residuallegerne kan forsvinde ved længere tids opbevaring (Marquardt, 1973).

De intracellulære stadier af *Eimeria* er lokaliseret i værtscellen inde i en såkaldt parasitofor vakuole omgivet af en membran. *Eimeria* hører som nævnt til Apicomplexa (se Tabel 1). Denne gruppe af protozoer har i apex af zoiten et kompleks af tre forskellige sekretoriske organeller, nemlig micronemer, rhoptrier og tætte granula (se Figur 3). Micronemer anvendes antagelig til genkendelse af værtscellen, binding og evt. motilitet. Rhoptrier bruges til dannelse af den parasitofore vakuole, og de tætte granula anvendes formodentlig til remodellering af vakuole-membranen (Dubremetz et al., 1998). Denne fungerer som en slags molekyle-si, der tillader udveksling af metabolitter mellem parasitten og værtscellen (Hammond et al., 1967; Entzeroth et al., 1998).



Figur 2: Struktur af en sporuleret *Eimeria* oocyste (Efter Eckert et al., 1995).

Det antages generelt, at *Eimeria* har en selvbeholdende livscyklus; men det er foreslået, at coccidierne kunne persistere i værten i en inaktiv form, såkaldte hypnozoiter (Levine, 1985). For nogle coccidierarter hos får synes der at foregå en synkron deling af coccidier (merozoiter) og tarmepithelceller, således at der faktisk er en betydelig forøgelse i multiplikationsraten i forhold til, hvis tarmcellerne ikke delte sig i forbindelse med infektion (Gregory et al., 1987).



Figur 3: En zoit af *Eimeria* med angivelse af nogle vigtige organeller (Efter Levine, 1985).

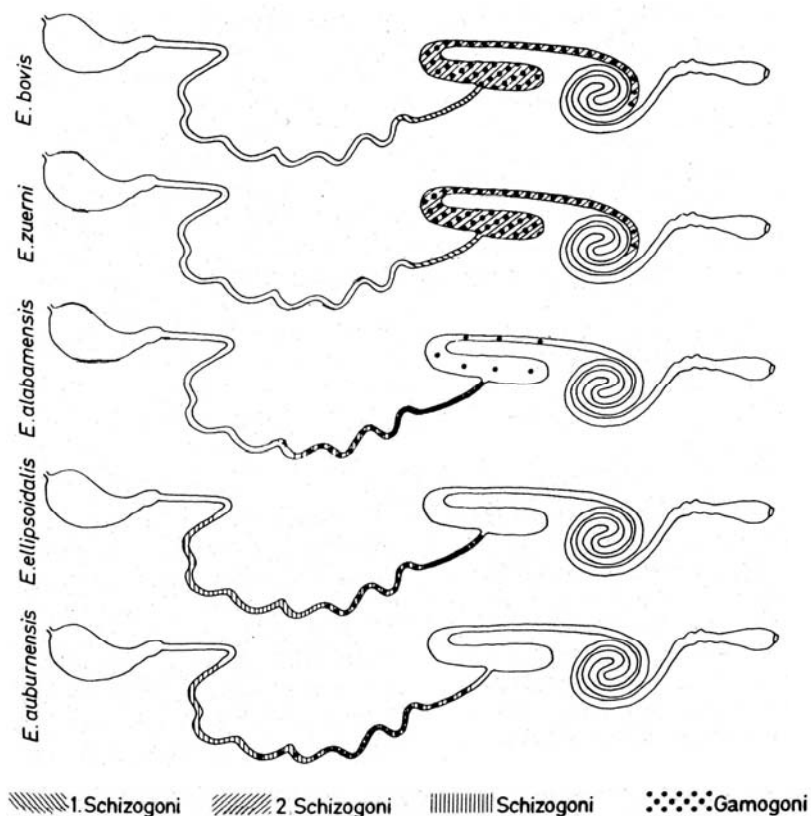
Eimeria oocyster sporulerer i det fri i løbet af et par dage ved temperaturer omkring 20°C (13-32°C), høj ilttension og fugtighed. Ved gennemsnitlige temperaturer under ca. 17°C forsinkes sporuleringen, og under 13°C ophører sporuleringsprocessen stort set (Marquardt et al., 1960). Under anaerobe forhold sker heller ikke sporulering (Senger, 1959; Schneider et al., 1972).

Oocyster er ganske modstandsdygtige overfor ydre påvirkninger og kan under gunstige forhold overleve udenfor deres værtsdyr i flere år. Der er, f.eks. for fjerkræcoccidier, beskrevet overlevelse af oocyster i 1-5 år gammel dybstrøelse (jf. Schneider et al., 1972). Coccidier kan modstå frysning

ved -5 til -8°C i flere måneder (Wilson & Morley, 1933; Marquardt et al., 1960; Schneider et al., 1972), og kan, f.eks. i Norge, overvintre på græsmarker og være infektive for de græssende dyr den efterfølgende græsningsæson (Helle, 1970). Desuden kan coccidieocyster, såvel sporulerede som usporulerede, overleve påvirkning af en lang række desinficerende stoffer i forskellige koncentrationer, antagelig som følge af oocystevæggens impermeabilitet (Senger, 1959; Marquardt et al., 1960). Desuden kan de passere uskadet gennem f.eks. tarmen af gnavere (rotter) og udskilles igen i enten sporuleret eller usporuleret form (jf. Wilson & Morley, 1933). Til gengæld destrueres *Eimeria* oocyster af temperaturer over 40°C , af direkte sollys i 4-8 timer eller en relativ fugtighed på 25% eller mindre i nogle dage (Wilson & Morley, 1933; Marquardt et al., 1960; Schneider et al., 1972; Parker & Jones, 1990). Tillige mister oocyster deres sporuleringssevne og synes at blive destrueret under forrådnende forhold (Schneider et al., 1972). Oocysterne dræbes også af bl.a. 0,25-0,1 M ammonium hydroxid eller 0,05 M phenol (Senger, 1959; Marquardt et al., 1960).

Cocciernes livscyklus – artsrelaterede forhold

Kvægets *Eimeria* arter varierer i deres udvikling i forskellig grad fra det ovenstående. For nogle af arterne er forholdene relativt godt og detaljeret beskrevet, mens andre stort set ikke er undersøgt. Dette afspejles i nedenstående gennemgang (opstillet alfabetisk).



Figur 4: Lokalisation af forskellige udviklingsfaser af nogle af kvægets *Eimeria* arter (Efter Bürger, 1983).

E. alabamensis er usædvanlig ved at være lokaliseret i kernen af de inficerede epithelceller. Såvel de to schizogonifaser som gamogonien foregår sædvanligvis i epithelcellerne i den bageste del af tyndtarmen. Ved højgradige infektioner er gametocyter dog også fundet i det overfladiske epithel af caecum og den forreste del af colon. Trophozoiter og schizonter er tillige observeret i de

mesenterielle lymfeknuder (jf. Svensson, 1994). I 1.-generationsschizonter kan findes 8-16 merozoiter, medens 2.-generations schizonter indeholder 18-26 merozoiter. Adskillige schizonter kan findes i den samme kerne, og i forbindelse med kraftig udskillelse af oocyster kan asymmetrisk formede oocyster evt. tilskrives en vis "crowding" effekt i kernen. Præpatensperioden er 6-13 dage (gns. 8) og patensperioden er 1-13 dage, gns. 4,6 dage ved lavgradige infektioner og 7,2 dage ved højgradige infektioner (Davis et al., 1955; Hooshmand-Rad et al., 1994). Det angives, at høje doser (10^6 - 10^7) er nødvendige for, under eksperimentelle forhold, at producere kliniske symptomer samt en tilstrækkelig oocysteudskillelse til detektion (Soekardono et al., 1975). Sådanne infektionsdoser er ikke urealistiske under naturlige forhold. Således fandt Svensson (1995) op til 28 millioner OPG af *E. alabamensis* hos kalve bundet ud på en kontamineret græsmark.

E. auburnensis gamonter er lokaliseret subepithelialt i lamina propria i den bageste del af jejunum. Microgamonterne er karakteristiske ved deres store størrelse, der af og til kan være makroskopisk synlige (Hammond et al., 1961; Davis & Bowman, 1962). Præpatensperioden er 17-21 dage og patensperioden ca. 2-7 dage (Hammond et al., 1961).

E. bovis oocyster excyteres i tyndtarmen, hvor sporozoiterne trænger ind i villi af den bageste halvdel af tyndtarmen, for at invadere endothelceller i chyluskarrene. Schizonterne vokser sig særdeles store ("giant schizonts" op til ca. 400 μ m) og er således makroskopisk synlige (f.eks. Long, 1973). De indeholder op til 100.000 merozoiter. Sådanne 1. generations schizonter er tillige fundet i de mesenterielle lymfeknuder 18 dage efter eksperimentel infektion af kalve (Lindsay et al., 1990). Det har dog ikke umiddelbart været muligt at inducere klinisk/patent coccidiose ved at stresser kalve, der havde extraintestinale *E. bovis* stadier (Lindsay et al., 1990). Ved afslutning af første schizogoni, invaderer merozoiterne epithelcellerne i tyktarms-krypterne. Ved afslutning af anden og sidste schizogoni invaderer merozoiter igen tarmkrypternes epithelceller i såvel caecum som colon, hvor gametocyterne vil være at finde (Marquardt, 1973). Præpatensperioden er 17-22 dage og patensperioden er 5-12 dage, alt afhængig af infektionsdosis (Dauguschies et al., 1986).

E. bukidnonensis er angivet at have en præpatensperiode på 16-18 dage og en patensperiode fra 7-12 dage (Borelli, 1971).

E. ellipsoidalis har en præpatensperiode på ca. 10 (8-13) dage og en patensperiode på 6 (6-10) dage, med maksimal oocysteudskillelse ca. 12 dage efter infektion (Hammond et al., 1963).

E. subspherica er af nogle vist at have en præpatensperiode på 9 dage (7-18) og en patensperiode på 11 (4-15) dage (Ernst & Courtney, 1977), medens andre har fundet en præpatensperiode på 10-11 dage, og en patensperiode strækkende sig fra 1-5 dage med maksimal oocysteudskillelse dag 11-12 efter inokulationen (Oda & Nishida, 1991). Høje doser i størrelsesordenen 10^6 oocyster skal bruges ved eksperimentel inokulation for efterfølgende at kunne detektere en infektion af kalven ved oocysteudskillelse (Ernst & Courtney, 1977). Sporulering af oocysterne fuldføres i løbet af ca. 8 dage ved 29°C og konstant iltning (Oda & Nishida, 1991).

E. wyomingensis er angivet at have en præpatensperiode på 13-15 dage med udskillelse af oocyster i 1-7 dage (gennemsnitlig 3,6 dage) (Courtney et al., 1976; Ernst & Benz, 1980). Trods indgift af doser på 10^6 oocyster blev kun relativt få oocyster udskilt i fæces i løbet af patensperioden med maximalt knap 70.000 oocyster pr gram gødning (OPG). Denne relativt lave oocysteutskillelse står i kontrast til infektioner med *E. bovis*, hvor 10^5 oocyster kan føre til OPG værdier på 10^6 OPG (Ernst & Benz, 1980).

E. zuernii schizonterne findes i tyndtarmens lamina propria nær muscularis mucosae. De kønede stadier er derimod at finde i caecum og colon (Davis & Bowman, 1957). Ved eksperimentel infektion er præpatensperioden fundet at være ca. 14 (8-28) dage med maksimal oocysteutskillelse 19 (8-41) dage efter inokulation og en patensperiode på 13 (3-28) dage (Davis & Bowman, 1957). De tidligste oocyster, der udskilles, er beskrevet som immature, med ufuldstændige oocystvægge (Davis & Bowman, 1957).

3. Diagnostik og prævalens af coccidiose

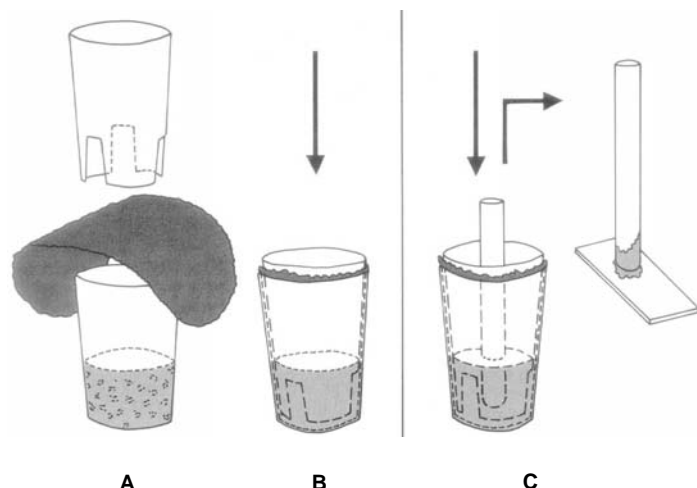
Diagnostik

Laboratoriemetoder

Til diagnostik af coccidier blandes fæces med et flotationsmedie (vægtfylde ca. 1,27), der tillader de lette oocyster at flotere, mens tungere fæcespartikler synker til bunds.

En kvalitativ metode (Henriksen & Aagaard, 1976; figur 5) beror på, at der i det floterede materiale påvises eventuelle coccidieoocyster ved, at et rundbundet reagensglas dyppes ned i blandingen, hvorefter den dråbe, der sidder på glassets bund, overføres til objektglas. Et dækglas lægges på, og der mikroskoperes ved 100-200 x forstørrelse.

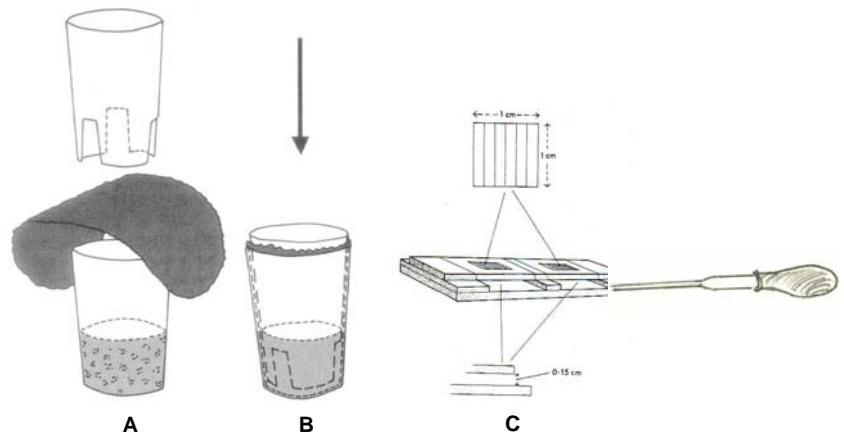
Figur 5: Flotationsmetode til kvalitativ vurdering af oocysteutskillelse i fæces
A: Filtrering af fæces-flotationsvæske-blanding
B: Blandingen er filtreret
C: Reagensglas dyppes helt ned til bunden af blandingen og en dråbe overføres til objektglas.



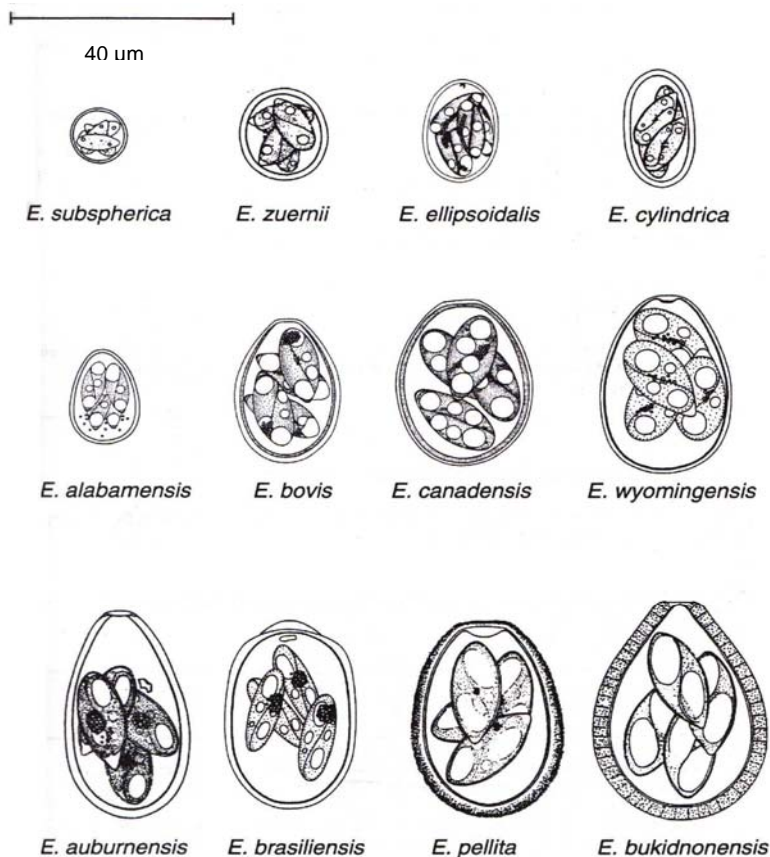
En kvantitativ metode (Henriksen & Korsholm, 1984; figur 6) beror på, at fæces, enten direkte eller efter opkoncentrering, blandes med flotationsmedie i et bestemt forhold, hvorefter en kendt mængde af blandingen overføres til et tællekammer (McMaster tællekammer). Efter kort tids henstand der tillader flotation af eventuelle oocyster i blandingen, kan disse findes i tællekammeret ved

mikroskopi v. 100-200 x forstørrelse. Ud fra det registrerede antal oocyster udregnes OPG vha. den relevante omregningsfaktor.

Figur 6: McMaster-metoden til kvantitativ vurdering af oocysteskillelsen i fæces.
A: Fæces blandes med floatationsvæske og filtreres.
B: Blandingen er filtreret.
C: Med en pipette overføres suspensionen (B) til tællekammer



Sporulering af coccidier er afhængig af høj fugtighed, varme og iltning. For at fremme sporulering blandes en oprenset portion af fæces med et iltningmiddel, f.eks. 2-2,5% kaliumdichromat ($K_2Cr_2O_6$) og henstår under agitation (rystebord ved lav hastighed) ved stuetemperatur i 1-2 uger. Herved opnås sporulering af de fleste oocyster. Sporulerede oocyster er lettere at differentiere end de usporulerede pga. mulighed for at inddrage sporocystform, residuallegemer m.v..



Figur 7: Sporulerede oocyster af kvægets 12 almindeligste *Eimeria* arter (Efter Eckert et al., 1995).

Der findes 12 *Eimeria* arter hos kvæg i Europa. De morfologiske karakteristika for sporulerede oocyster er angivet i Tabel 2 og Figur 7.

Nogle af kvægets *Eimeria* arter ligner hinanden særdeles meget, hvorfor man ikke med 100% sikkerhed kan differentiere oocysterne i den frisk udskilte gødning. For at øge den diagnostiske sikkerhed anbefales det derfor at sporulere oocysterne. Oocyster findes ved flotation af fæces og måles i mikroskop med måleokular ved 400 x forstørrelse. Artsdifferentiering kræver en erfaren mikroskopist med kendskab ikke blot til oocysternes mulige mål, men også til andre karakteristika såsom form og farve og særlige strukturer (jf. bl.a. Joyner et al., 1966; Levine & Ivens, 1967).

Der er beskrevet en objektiv metode til ved digital billedbehandling at differentiere de forskellige coccidieoocyster efter flotation (Sommer, 1998). Metoden baserer sig på, at et rigeligt referencgrundlag skal være oplagret digitalt. Vanskeligheder med at skaffe tilstrækkeligt referencemateriale er muligvis årsag til, at metoden tilsyneladende ikke finder anvendelse ved diagnostiske laboratorier.

Tabel 2: Morfologiske karakteristika af de 12 *Eimeria* arter, der findes hos kvæg i Europa (efter Christensen, 1941; Levine & Ivens, 1967; Eckert et al., 1995).

Art	Mikro-pyle	Størrelse (µm)	Form	Farve	OR	SR	ST
<i>E. alabamensis</i>	-	13-24 x 11-16 (18,9 x 13,4)	ovoid / piriform	Farveløs el. svagt gul	-	-	5-8 d
<i>E. auburnensis</i>	+	32-46 x 20-25 (38,4 x 23,1)	aflang- ovoid	Gulbrun Evt. nopret væg	-	+	2-3 d
<i>E. bovis</i>	+ utydelig	23-34 x 17-23 (27,7 x 20,3)	ovoid / subsfærisk	Farveløs	+	+	2-3 d
<i>E. brasiliensis</i>	+ distinkt	34-43 x 24-30 (37,5 x 27)	elliptisk	Gulbrun	-	+	12-14 d
<i>E. bukidnonensis</i>	+	47-50 x 33-38 (48,6 x 35,4)	oval/pærefor-met; tyk radial-stribet væg	Gulbrun	-	-	4-7 d
<i>E. canadensis</i>	+	28-37 x 20-27 (32,5 x 23,4)	ovoid til ellipsoid	Farveløs /bleggul	-	+	3-3 d
<i>E. cylindrica</i>	-	16-27 x 12-15 (23,3 x 12,3)	aflang / ellipsoid m. lige sider	Farveløs	-	+	2 d
<i>E. ellipsoidalis</i>	-	20-26 x 13-17 (23,4 x 15,9)	ellipsoid	Farveløs	-	+	2-3 d
<i>E. pellita</i>	+	36-41 x 26-30 (40 x 28)	ovoid tyk væg	Brun /nopret	-	+	10-12 d
<i>E. subspherica</i>	-	9-14 x 8-13 (11 x 10,4)	rund/	Farveløs	-	-	4-5 d
<i>E. wyomingensis</i>	+	37-45 x 26-31 (40,3 x 28,1)	ovoid m. tyk væg	Gulbrun	-	-	5-7 d
<i>E. zuernii</i>	-	15-22 x 13-18 (17,8 x 15,6)	sub-sfærisk	Farveløs	-	+	2-3 d

Gennemsnitlig størrelse er angivet i (). OR: Oocyste residuum; SR: Sporocyste residuum; ST: Sporulerings-tid (d=dage) ved optimale forhold

Til differentiering af *Eimeria* arter hos fjerkræ er desuden beskrevet forskellige objektive metoder, f.eks. til karakterisering af den elektroforetiske variation af enzymer (Shirley et al., 1989) samt teknikker, der definerer variationer i genomisk DNA (f.eks. MacPherson & Gajadhar, 1993;

Shirley, 1994). Endelig er der udviklet forskellige PCR metoder til opformering af ribosomale DNA Internal Transcribed Spacer (ITS)-1 og ITS-2 sekvenser for identifikation og differentiering af de 7 forskellige *Eimeria* arter hos høns (Schnitzler et al., 1998, 1999; Woods et al., 2000a,b). For de sidstnævnte teknikker er det nødvendigt at have referencemateriale fra 100% monospecifikke isolater af de pågældende coccidiearter. Det skal også nævnes at der til påvisning af serum antistoffer mod *E. bovis* og *E. zuernii* er udviklet en ELISA teknik (Oz et al., 1986; Uchida et al., 1995).

Tolkning af diagnostisk fund: art/antal

For at kunne stille diagnosen coccidiose må man enten kunne påvise tydelige kliniske symptomer og/eller kunne vise en oocysteudskillelse af et højt niveau. For kvæg angives typisk, at OPG større end ca. 50.000 er tegn på coccidiose. Dette afhænger dog af coccidiearten. Såfremt det drejer sig om de mere patogene arter, *E. zuernii* og *E. bovis* (se nedenfor), er diagnosen mere sandsynlig selv ved lavere OPG-værdier. Der er kun lille sammenhæng mellem antallet af oocyster pr. gram gødning og forekomsten af diarré (Ernst et al., 1984). Dette er bl.a. beskrevet for *E. wyomingensis* (Ernst & Benz, 1980), og for *E. alabamensis* (Svensson, 1994). Førstnævnte art synes at være apatogen, hvorimod sidstnævnte art kan være årsag til betydelige problemer på græsmarken og evt. også indendørs. For en stor del af coccidiearternes vedkommende er der kun en ganske kort top for oocysteudskillelsen, hvorimod de patologiske følger kan være noget mere vidtrækkende i tid (se nedenfor), således at kvier, der har været stærkt angrebne som kalve, aldrig når deres fulde potentiale for produktion og reproduktion (f.eks. Oetjen, 1993).

Prævalens af coccidiose

Eimeria coccidier findes vidt udbredt, med nogle arter hyppigere forekommende end andre. Især *E. bovis* synes almindelig, ligesom også *E. auburnensis*, *E. ellipsoidalis* og *E. zuernii* findes hyppigt (f.eks. Ernst et al., 1984; Cotteleer & Famerée, 1978; Cornelissen et al. 1995; m.fl.). Det er anslået, at coccidie infektioner hos kvæg og bøfler på verdensplan årligt koster ca. 700 millioner US\$ (Fitzgerald, 1980), et beløb, der formodentlig kan forøges betydeligt for at svare til nutidige værdier.

Generelt anses kalve under 1 år for at være mest modtagelige (Pavlásek et al., 1984; Bürger, 1983; Herrick, 1990), men også ældre dyr, der udsættes for stress og/eller anbringes i stærkt kontaminerede omgivelser, er udsat for infektion og konsekvenser heraf (Oetjen, 1993). Undersøgelser har dog vist, at ældre dyr sjældent har en høj oocysteudskillelse (typisk OPG<200) eller udviser tegn på coccidiose (f.eks. Cornelissen et al., 1995). Cornelissen et al. (1995) undersøgte 38 malkekvægsbesætninger for forekomst af *Eimeria* i 3 aldersgrupper (kalve, åringer og voksne dyr) og fandt positive dyr i alle besætninger fra én eller flere af aldersgrupperne. I ingen tilfælde observeredes tegn på klinisk coccidiose. I alt 12 arter blev registreret, heraf *E. bovis*, *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis*, *E. alabamensis* og *E. zuernii* med størst frekvens (Cornelissen et al., 1995; Tabel 3).

Tabel 3: Generel prævalens (i prioriteret rækkefølge) samt formodet patogenicitet af *Eimeria* arter fundet i kvæg i Europa (Ernst & Benz, 1986; Svensson, 1994; Cornelissen et al., 1995; Autzen et al., 2002).

<i>Eimeria</i> art	Prævalens	Patogenicitet
<i>E. bovis</i>	Hyppig	++
<i>E. ellipsoidalis</i>	Hyppig	+
<i>E. auburnensis</i>	Hyppig	+
<i>E. alabamensis</i>	Hyppig	++
<i>E. zuernii</i>	Hyppig	++
<i>E. canadensis</i>	Sporadisk	-
<i>E. cylindrica</i>	Sporadisk	-
<i>E. subspherica</i>	Sporadisk	(+)
<i>E. pellita</i>	Sjælden	-
<i>E. wyomingensis</i>	Sjælden	-
<i>E. brasiliensis</i>	Sjælden	-
<i>E. bukidnonensis</i>	Sjælden	-

I et svensk studie af coccidieinfektioner i malkekvægsbesætninger fandt Svensson (1993), at kalve første gang udskilte oocyster i alderen 2,5-15 uger. Kalve udskilte oocyster ved opstaldning i såvel enkeltbokse som fællesbokse, og det blev foreslået, at især horisontal smitte (kalv til kalv via fæceskontaminerede omgivelser) gjorde sig gældende. Derimod blev smitte fra ko til kalv anset for mindre betydende, eftersom køerne kun viste intermitterende og lavgradig oocysteudskillelse. Kalve, der indsættes i fællesboks, kan således allerede udskille oocyster og dermed være årsag til at fællesboksene kontamineres, og de øvrige kalve i boksen smittes.

I en tysk undersøgelse fandtes, at coccidiose forekom i stalde med mange kalve i alderen 3-5 måneder i hver boks, temperaturer omkring 19-21°C, høj relativ fugtighed (80-99%), og dårlig hygiejne i form af fugtig og fæces kontamineret staldbund (Gräfner et al., 1978). I en nylig dansk undersøgelse af coccidieforekomsten hos 1-6 mdr. gamle kalve i konventionelt drevne malkekvægsbesætninger blev fundet en signifikant sammenhæng mellem et øget antal udskilte oocyster og fravær af høhæk hhv. dårlig kvalitet af underlaget (Autzen et al., 2002). I Belgien er for perioden 1960-1976 beskrevet tendens til stigende forekomst af *Eimeria* (Cotteleer & Famerée, 1978). En lignende tendens er ikke umiddelbart tydelig i Danmark, baseret på parasitologiske fund i fæcesprøver fra kvæg indsendt til parasitologisk undersøgelse på Statens Veterinære Serumlaboratorium i perioden 1994-2000. Her har forekomsten af *Eimeria*-positive prøver fluktueret mellem 33 til 67 % (se tabel 4).

Tabel 4: Indsendelser til Statens Veterinære Serumlaboratorium 1994-2000 for undersøgelser af kvægfæces m.h.p. parasitter.

År	Antal fæcesprøver undersøgt	% fæcesprøver med coccidier
2000	2436	48
1999	2414	50
1998	2635	67
1997	1711	60
1996	1205	42
1995	853	46
1994	902	33

Egne studier af kalve i økologiske besætninger

I perioden maj-juni (ultimo april til primo juli), 2001, er udtaget gødningsprøver fra kalve i fællesboks (indsat i boksen tidligst 3 uger før prøveudtagning) med henblik på bestemmelse af oocysteudskillelsen. Fra hver besætning blev udtaget prøver fra mindst 10 dyr i samme eller forskellige bokse. Fra 4 af besætningerne blev dog udtaget hhv. 9, 12, 13 eller 14 prøver. Samtidig med udtagning af prøverne blev forskellige forudbestemte forhold noteret vedrørende boksenes beskaffenhed og kalvenes umiddelbare sundhedstilstand.

Som det fremgår af Tabel 5, fandtes oocyster i 88% af prøverne. Kun ganske få kalve var højgradigt udskillende (> 1000 OPG), medens 83% af kalvene havde en OPG under 500. Der var ingen tydelig sammenhæng mellem kalvealder og OPG, men snarere en jævn fordeling af OPG-niveauer i alle aldersgrupper – med en let tendens til at flere kalve i alderen 4-7 mdr. havde et relativt højt OPG (Tabel 5).

Tabel 5: Fordeling af oocysteudskillende kalve (procent pr. aldersgruppe) i relation til alder og OPG niveau, baseret på 258 kalve fra 25 økologisk drevne besætninger undersøgt i maj-juni 2001.

Alder i mdr. (antal kalve)	Oocyster per gram gødning (OPG)(procentvis fordeling)						
	0	1-99	100-499	500-999	1000-4999	5000-9999	>10.000
<1 (4)	-	50	25	-	25	-	-
1-2 (8)	50	25	-	-	12,5	-	12,5
2-3 (34)	20,6	44,1	20,6	11,8	2,9	-	-
3-4 (50)	6	48	26	12	6	2	-
4-5 (86)	13	43	26,7	10,5	3,5	2,3	1,2
5-6 (38)	10,5	39,5	44,7	2,6	-	-	2,6
6-7 (16)	6,3	50	18,8	-	12,5	6,3	6,3
>7 (22)	4,5	59,1	13,6	13,6	9,1	-	-
Total (258)	12	45	26	8,9	5	1,6	1,6

Knap 70% af kalvene udskilte blot 1-4 forskellige *Eimeria* arter i gødningen (Tabel 6). Det største antal arter pr. kalv var 8. De almindeligste arter var (i prioriteret rækkefølge): *E. cylindrica*, *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. auburnensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. alabamensis* og *E. subspherica*. Disse var også blandt de arter, der hyppigst blev fundet at være den dominerende art (*E. bovis*, *E. cylindrica*, *E. auburnensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. alabamensis* og *E. zuernii* var de dominerende arter – i prioriteret rækkefølge) (Tabel 7). Der var ikke betydende forskelle i fordelingen af *Eimeria* arter mellem de forskellige besætninger, men derimod forskelle i antallet af arter samt det gennemsnitlige OPG niveau (varierende mellem minOPG=71 og max OPG=9978: $OPG_{\chi}=1242$; $\sigma_n=2200$; $\sigma_{n-1}=2246$).

Tabel 6: Antal *Eimeria* arter i fæcesprøver fra 258 kalve i 25 økologiske besætninger (procent kalve med det givne antal arter) undersøgt i maj-juni 2001.

Antal prøver	Antal <i>Eimeria</i> arter i prøverne (%)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
258	12	17,4	18,2	17,4	14,7	11,2	5,4	1,9	1,6

Der kunne ikke ud fra besvarelserne af spørgeskemaerne konkluderes noget om sammenhænge mellem staldforhold og forekomst af diarré eller udskillelse af coccidieoocyster, udover i én besætning, hvor forholdene blev beskrevet som særdeles uhygiejniske.

Tabel 7: Procentvis forekomst af *Eimeria* arter hhv. dominans af de respektive arter i fæcesprøver fra 258 kalve i 25 økologiske besætninger undersøgt i maj-juni 2001.

<i>Eimeria</i> art	% prøver hvori arten forekom	% prøver med dominans af arten	% besætninger hvori arten forekom
<i>E. alabamensis</i>	30,2	11,6	88
<i>E. auburnensis</i>	35,7	15,7	92
<i>E. bovis</i>	46,9	20,7	100
<i>E. brasiliensis</i>	1,9	1,0	16
<i>E. bukidnonensis</i>	1,6	1,0	16
<i>E. canadensis</i>	16,3	3,0	72
<i>E. cylindrica</i>	47,3	19,2	100
<i>E. ellipsoidalis</i>	35,3	12,6	100
<i>E. pellita</i>	1,9	0	12
<i>E. subspherica</i>	19,4	5,1	80
<i>E. wyomingensis</i>	5,0	1,5	36
<i>E. zuernii</i>	43,0	8,6	100

4. Klinisk og subklinisk coccidiose

Kliniske sygdomstegn

Idet coccidiose er en multifaktoriel sygdom, kan udfaldet og dermed sværhedsgraderne af sygdommen variere fra tilfælde med løs, pastøs fæces af en enkelt dags varighed til profus diarré med dysenteri, tenesmus og evt. mors (Ernst & Benz, 1986). De kliniske symptomer tillægges traditionelt tilstedeværelsen af *E. zuernii* og *E. bovis* og kan beskrives som følger. Klinikken kan starte med mild feber, men i de fleste tilfælde er temperaturen normal eller subnormal. Det første tegn på klinisk coccidiose er typisk en pludselig opståen af profus og ildelugtende diarré indeholdende mucus og blod. Blodet kan optræde som tjæreagtig mørkfarvning af fæces eller som strøg eller klumper af blodtilblanding i fæces. Perineum og halen vil ofte være tilsmurt i blodtilblandet gødning. Alvorlige trængninger er karakteristiske og ofte ledsaget af gødningsafsætning, og rektalprolaps kan forekomme. Graden af hæmorrhagisk anæmi er varierende og afhængig af den mistede mængde blod. I de fleste naturligt forekommende tilfælde af coccidiose hos kalve er anæmi dog ikke noget karakteristisk fund (Blood et al., 1989).

Der ses nedsat ædelyst hos de fleste kalve med klinisk coccidiose, og i enkelte tilfælde kan opført ædelyst forekomme. Varigheden af de kliniske sygdomstegn er normalt 5-12 dage afhængigt af infektionsdosis, men nogle kalve kan gennemgå en lang rekonvalescens periode, hvor foderoptagelsen og tilvæksten er subnormal. I mildere tilfælde af sygdommen ses kun diarré og reduceret væksthastighed, men ikke nødvendigvis dysenteri. Mortalitetssraten er normalt lav med undtagelse af tilfælde ved massiv vintercoccidiose (se nedenfor), eller hvor fuldt modtagelige dyr møder et massivt infektionspres.

Subklinisk tilstand

Coccidieocyster er vidt udbredte overalt, hvor kalve er placerede, og de fleste kalve i en gruppe vil blive inficerede med oocyster, mens kun en mindre andel vil udvikle klinisk sygdom. Infektionsraten er derfor høj, mens raten af klinisk sygdom sædvanligvis er lav (10-15%). Subkliniske tilfælde

af coccidiose kan optræde med reduceret væksthastighed og evt. kronisk anæmi som de eneste karakteristika. Det er f.eks. vist efter eksperimentel podning med 50.000 oocyster af *E. bovis*, at alvorligt angrebne kalve ikke genvandt de vægttab, der opstod under den kliniske fase af sygdommen, selv efter 10 måneders observationsperiode (Fitzgerald & Mansfield, 1972). Selv lavgradige eksperimentelle infektioner med *E. bovis* kan føre til reduceret foderoptagelse og vægttab (Daugschies et al., 1986). Fordøjeligheden af næringsstoffer er i syge dyr ikke nedsat; der er tværtimod påvist en tendens til øget fordøjelighed af optaget foder. Sandsynligvis skyldes vægttabet i forbindelse med coccidiose således primært nedsat foderoptag samt endogent tab af organiske forbindelser via parasitinducerede læsioner i tarmslimhinden snarere end ændringer i intestinal absorption og fordøjelse (Daugschies et al., 1998).

Patogenicitet af de forskellige coccidiearter

Idet de forskellige coccidiearter kan give anledning til varierende kliniske billeder, anføres efterfølgende specifikke karakteristika for de enkelte coccidiearter.

E. alabamensis kan give anledning til profus vandig diarré 3-7 dage efter eksperimentel infektion med maksimal oocysteudskillelse ca. 8-10 dage p.i. (post inokulation). Tilvæksten af stærkt inficerede kalve er væsentligt reduceret sammenlignet med uinficerede kontrolkalve (Svensson, 1994). Generelt angives, at høje doser (mere end 10^6 oocyster) er nødvendige for induktion af kliniske symptomer.

E. auburnensis er af nogle beskrevet som potentielt patogen og som årsag til en profus grønlig, evt. blodtilblandet diarré, medens andre forfattere anser den for mindre patogen (jf. Cotteleer & Famerée, 1978; Hammond et al., 1961). Det angives, at 2. generations schizonte samt gamonte i kraft af deres subepitheliale beliggenhed kan føre til betydelige epithelskader (jf. Bürger, 1983). *E. auburnensis* har forårsaget katarrhalsk enteritis hos kalve eksperimentelt inficeret med 100-750.000 oocyster og aflivet 19 dage p.i. (Hammond et al., 1961).

E. bovis forårsager en alvorlig tarmbetændelse med stærk, evt. blodtilblandet diarré (Cotteleer & Famerée, 1978). Reaktionen på makroschizonterne i chylusendothel er relativt ringe, og omfatter hypertrofi af cellekerne og celleplasma af de inficerede celler - senere tillige infiltration med leukocytter. Ca. 16-18 dage efter infektion med *E. bovis* oocyster er næsten alle epithelceller ved basis af tarmkirtlerne besat af schizonte og gamonte. Kirtlerne er udvidede med celleinfiltrationer subepithelalt og udvidede lymfe- og blodkar. I de følgende dage afstødes epithellaget i store områder, og på den nøgne lamina propria findes difteroide membraner bestående af blod, fibrin, granulocytter, bakterier, oocyster og cellerester (Friend & Stockdale, 1980). Disse forandringer fører til forstyrrelser i væskeabsorption og saltbalance i tarmen med deraf følgende diarré og dehydrering.

E. brasiliensis og *E. cylindrica* er indtil nu ikke tilskrevet nogen patogen rolle.

E. bukidnonensis er beskrevet at kunne give anledning til en transitorisk diarré af 6-8 dages varighed i forbindelse med oocysteudskillelsen (Borelli, 1971).

E. ellipsoidalis kan hos kalve fremprovokere en mukøs ikke-blodtilblandet diarré (Hammond et al., 1963) ved at forårsage alvorlige skader i tarmen, og er af nogle beskrevet som den mest patogene art efter *E. bovis* og *E. zuernii* (Pearson et al., 1961).

E. subspherica beskrives generelt som apatogen, men i en nylig dansk undersøgelse blev der fundet en signifikant sammenhæng mellem graden af diarré og OPG af *E. subspherica* (Autzen et al., 2002).

E. wyomingensis har selv ved eksperimentelle infektioner med 10^6 oocyster ikke ført til tydelige kliniske eller patologiske tegn på infektion (Ernst & Benz, 1980; Lindsay et al., 1988), og der udskilles relativt få oocyster efter en sådan infektion (Ernst & Benz, 1980). Disse forfattere angiver således, at der ikke ses en sammenhæng mellem diarré og oocysteudskillelse for *E. wyomingensis*. Dette strider mod fund af Courtney et al. (1976), der fandt diarré associeret med oocysteudskillelse i de relativt få kalve (5 stk.), der faktisk var inficeret.

E. zuernii er langt den mest patogene af kvæggets *Eimeria* arter og medfører voldsom blodig diarré (haemorrhagisk enteritis) som følge af afstødning af epitelet i caecum og colon. Efter afstødning af epitelet med de modne oocyster og fibrinmembraner vil tarmkirtlerne langsomt regenereres (fra dag 22 efter infektion (Stockdale, 1977)). Oocysteudskillelsen vil for *E. zuernii* typisk falde sammen med forekomst af diarré ca. 19-23 dage efter infektion (Stockdale & Nilo, 1976).

Patofysiologiske og patologiske forandringer

De patofysiologiske ændringer, associeret med eksperimentel infektion med *E. bovis* er vist at kunne omfatte en reduktion i hæmatokrit, hæmoglobin og serum protein hos alvorligt angrebne kalve (Fitzgerald & Mansfield, 1972), samt forstyrrelser i metabolismen af natrium og kalium hos kalve, men selvom akut bovin coccidiose ændrer elektrolyt og vand metabolismen synes den overordnede balance at live opretholdt via fysiologisk adaptation (Daugeschies et al., 1997). Efter infektion med *E. zuernii* er påvist reduktion i plasma natrium og klorid (Stockdale et al., 1981). Ændringerne er dog ikke vist at være udtalte, og i naturligt forekommende tilfælde er der ikke påvist signifikante reduktioner af natrium og cloridionerne (Radostits & Stockdale, 1980). Hos kalve, der dels var eksperimentelt inficerede med *E. alabamensis* dels udbundet på en permanent græsmark, er observeret faldende serum aktivitet af glutamat dehydrogenase, alkalisk fosfatase samt serum koncentration af galdesyre, mens den totale udskillelse af bilirubin var øget. De mest markante ændringer påvistes lige før kalvene begyndte at udskille oocyster. Alle de påviste signifikante ændringer var dog små og anvendeligheden som diagnostiske markører derfor minimal (Holst & Svensson, 1994). Kun under svære infektioner er kalvens kompensatoriske mekanismer utilstrækkelige til at holde vand- og elektrolytbalancen indenfor det fysiologiske niveau. I sådanne situationer kan et direkte tab af erythrocytter og plasmaproteiner via ødelagte kapillærer i tarmslimhinden forårsage et fald i hæmatokrit og hæmoglobin (Stockdale et al., 1981).

De patologiske forandringer ved infektion med *E. zuernii* er mest udtalte i blindtarmen og den forreste del af tyktarmen, og består af villusatrofi og fokal ulceration pga. destruktion af villusepithelceller primært i forbindelse anden generation schizogoni og gametogoni i den ukønnede opformeringsfase (Stockdale, 1977). Det inflammatoriske respons mod parasitterne induceres hovedsageligt, når coccidierne bryder ud af cellerne, og medvirker til destruktion og tab af yderligere epithelceller (Friend & Stockdale, 1980). Patologiske forandringer forårsaget af *E. alabamensis* er karakteriseret ved kataralsk inflammation i jejunum og ileum, og kun i forbindelse med svære infektioner ses forandringer i de tilgrænsende tarmafsnit, hvilket er i modsætning til placeringen i blind- og tyktarm ved infektion med *E. zuernii* eller *E. bovis*. Da størstedelen af vandabsorptionen

samt optagelse af natrium og klorid sker i caecum og colon, har omfattende skader på epitelet hér stor indvirkning på opretholdelse af organismens homeostatiske tilstand (Long, 1973).

Sammenhæng mellem coccidiose og andre sygdomme

Generelt for coccidieinfektioner er det angivet, at de kan potensere andre lidelser, subsidiært påvirke (mindske) effekten af behandling mod sådanne lidelser, såsom infektiøs bovin rhinotracheitis (IBR), bovin virus diarré (BVD), bovin respiratorisk syncytial virus (BRSV), pasteurellose og salmonellose (e.g. Oetjen, 1993). Påvirkninger af værtsorganismen kan ske såvel ved klinisk som ved subklinisk coccidiose.

I eksperimentelle studier er fundet en negativ interaktion mellem *E. zuernii* og bovin parvovirus. Det blev antaget, at bovin parvovirus aktivitet og beskadigelse i tarmkanalen var forstærket som en konsekvens af den ekstra mitotiske aktivitet forårsaget af coccidieinfektionen i regionen. Dette var især udtalt i forbindelse med fravænningsstress (Durham et al., 1985). Et lignende fænomen er beskrevet for eksperimentel infektion af kalve med *E. bovis* og coronavirus (Hoblet et al., 1992). Kalve, der var inficeret først med coccidier og siden med virus, udviklede således en langt kraftigere diarré end dyr inficeret med kun ét patogen. De anvendte kalve var ganske unge og altså endnu ikke fravænnede (alder ved infektion: ca. 3 dage). Det er således i nogle ganske unge kalve, at man kunne forvente interaktioner med virusinfektioner. Hvorvidt bakterieinfektioner tilsvarende forstærker effekten af *Eimeria* infektioner er tilsyneladende ikke undersøgt.

Det er ved eksperimentelle infektioner demonstreret, at i kalve inficeret med coccidier og tarmnematoder af slægterne *Cooperia*, *Strongyloides*, og *Trichostrongylus* er graden af coccidiose forøget (vurderet ved antal parasitter samt vævsskade). Sådanne forandringer blev imidlertid ikke observeret ved samtidig infektion med maveormen *Ostertagia*. Dette kunne antyde, at den forstærkede udvikling af coccidierne pga. nematoderne ikke er resultat af reduceret immunologisk kompetence, men snarere er et resultat af fysiologiske forandringer i tarmen (Davis et al., 1959 a,b; 1960 a,b; Benz & Ernst, 1976). I lam viste eksperimentelle infektioner med først coccidier og 2 uger senere tarmnematoden *Nematodirus battus*, at coccidierne potenserede effekten af *N. battus*, dvs. forårsagede diarré, vægttab og enkelte dødsfald, hvilket ikke sås i lam, der modtog enkeltinfektioner (Catchpole & Harris, 1989). Til yderligere sammenligning kan nævnes, at der ved eksperimentelle infektioner i lam er påvist en interaktion mellem forskellige coccidiearter, således at patensperioden blev forlænget for nogle af arterne, *E. ovina* og *E. weybridgeensis*, ligesom også det totale antal af udskilte oocyster blev forøget (Catchpole et al., 1976). Desuden sås en øget patogen effekt i form af diarré hhv. ændring af fæceskonsistens (ingen pilledannelse). Endvidere er en øget modtagelighed overfor trichostrongylideinfektioner og deres negative effekter i forbindelse med fravænnings set hos gedekid, der dels var naturligt inficerede med coccidier dels havde fået indgivet 300.000 oocyster af blandede *Eimeria* arter. Disse gedekid udviste både en forlænget patensperiode samt en tendens til kroniske coccidieinfektioner og endvidere et øget antal nematodeæg i gødningen, lavere tilvækst og ringere kødkvalitet (de la Fuente et al., 1993). Dværggeder med samtidige coccidie- og tarmnematode-infektioner er fundet at have forstyrret knoglemineralisering (Frandsen, 1982).

Subklinisk coccidiose kan evt. medføre et suboptimalt respons på vaccination (Oetjen, 1993). Det er endvidere foreslået, at coccidieinfektioner kan have en forstærkende effekt på respirationsvejslidelser, muligvis på grund af generel immunsupprimerende effekt af infektionen. Dette er

set i praksis ved at kalve, der er behandlet med coccidiostatika, har en lavere incidens af respirationsvejslidelser (Herrick, 1990). I svin er i forbindelse med ultrastrukturelle studier beskrevet en sammenhæng mellem infektion med *Eimeria* (*E. scabra*) og andre patogener såsom stavformede bakterier samt *Cryptosporidium* (Koudela et al., 1990); kun i/ved de *Eimeria*-inficerede enterocytter fandtes de andre patogener. Lignende forhold gælder sandsynligvis også i kalve.

5. Kalvens modtagelighed overfor coccidiose

Råmælksforsyning og immunitet

Den nyfødte kalv er karakteriseret ved gennem de første uger efter fødslen at gennemløbe betydelige ændringer i form af en modningsproces i såvel de cardio-respiratoriske, metaboliske samt endokrine systemer. Kolostrumoptagelsen er vigtig ikke blot for at opnå passiv immunitet, men også for at tilføre kulhydrater, lipider, proteiner, mineraler og vitaminer til kalven. Desuden indeholder kolostrum hormoner, vækstfaktorer, cytokiner, enzymer, polyaminer og nukleotider, som alle udøver biologiske effekter hos den nyfødte kalv. Således kan f.eks. "Insulin-like growth factor I", som er til stede i høje mængder i råmælk, ændre udviklingen og funktionen af fordøjelseskanalen hos den nyfødte kalv. Kolostrum bør indtages/tildeles så tidligt som muligt efter fødslen for at sikre den mest optimale absorption af både immunoglobuliner, fedtsyrer og vitaminer, idet der er vist en tidsmæssig effekt på det mønster, der genfindes i plasma af de essentielle aminosyrer og af glutamin/glutamat forholdet afhængigt af både tildelingstid og -mængde. Desuden er vist betydelige effekter på hormoner (især koncentrationen af insulin, glucagon, insulin-like growth factor-I og cortisol) målt gennem de 6 første udmalkninger af råmælk (Blum & Hammon, 2000). Den totale absorption af IgG til plasma er vist at være faldende hos nyfødte kalve fra 65,8 % optaget 6 timer efter fødslen til 46,9%, 11,5%, 6,7% og 6% når kolostrum (2 liter) blev givet henholdsvis 12, 24, 36 og 48 timer efter fødslen, hvilket indikerede et lineært fald i IgG absorptionen over tid (Matte et al., 1982).

Råmælksens immunologiske betydning begrundes ikke blot i dets beskyttende evne mod patogener, men i lige så høj grad i dets rolle i modning af det lokale immunsystem og i etablering af det adaptive immunsystem og dets responser, herunder udvikling af tolerance og aktiv immunitet. Det anses for givet, at hovedrollen for de cellulære komponenter i mælken er at indgå i udviklingen af den lokale immunitet hos den nyfødte kalv, og at modulere den aktive immunitet i tarmen gennem denne kritiske periode, hvor udvikling af adapterede responser mod antigener (herunder beskyttelse, tolerance, foderbetinget allergi) er af altafgørende betydning for kalvens videre skæbne (Le Jan, 1996). Der hersker stadigvæk uklarhed om overførselsmekanismerne for specifikke elementer af kolostrum, herunder laktoferrin, der sammen med bl.a. komplement spiller en vigtig rolle i den uspecifikke immunitetsopbygning hos nyfødte dyr. Der synes ikke at være tale om almindelig passiv overførsel af laktoferrin til serum via kolostrum (Holloway et al., 2002). De specifikke antistoffer overført med råmælken hos kvæg er overvejende af IgG-klassen og næsten udelukkende af subklassen IgG₁, mens der kun er små mængder IgG₂, IgA og IgM til stede i mælken hos kvæg i modsætning til hos f.eks. menneske, svin, hest og hund (Newby et al., 1982).

Den mest afgørende managementfaktor for at sikre en effektiv kolostrumbeskyttelse af den nyfødte kalv er vist at være kolostrummængden. Det er således vist, at serumkoncentrationen af

IgG₁ var mindre end 10 mg/ml 48 timer efter fødslen hos 61,4% af alle kalve, der pattede koen som eneste råmælkskilde, mens kun 19,3% af kalve, der pattede fra en pattespand, og 10,8% af kalve, der var sondefodrede havde et tilsvarende lavt serum IgG₁-niveau, efter tildeling af 2 l råmælk med mindst 100 g IgG₁ i mælken. Andre managementfaktorer, der viste negativ effekt på immunglobulin optagelsen var længden af goldperioden (1,7% øgning af risikoen for malabsorption ved en øgning af goldperioden fra 60 – 90 dage) og nedfrysning af råmælk (4,2% risikoforøgelse). Forfatterne konkluderede, at fodring af alle kalve med 3-4 l frisk eller afkølet råmælk fra første udmalkning skulle tilsikres for at opnå minimering af fejlen i passiv beskyttelse, og en sådan mængde er langt større end den mængde, kalven optager ved at patte koen naturligt (Besser et al., 1991). Mastitis hos koen er vist også at være en risikofaktor for fejl i den passive råmælksbeskyttelse (Perino et al., 1995).

Specifik immunitet udvikles mod hver coccidieart efter en infektion, og unge dyr, der bliver udsat for infektion for første gang, er derfor mere følsomme for at gennemgå en alvorlig infektion og for udvikling af klinisk sygdom end ældre dyr. Typisk har coccidiearterne en stor opformeringskapacitet, og de er under størstedelen af infektionen placeret intracellulært, hvorved de minimerer kontakten med værtens forsvarsmekanismer. Sporozoiterne frigives i tarmlumen, hvorefter de penetrerer mukuslaget, som dækker mucosa og invaderer epithelcellerne. Antigener er tilstede på sporozoitoverfladen, mod hvilken værtsreaktionen rettes. Udviklingen fra sporozoit til schizont foregår intracellulært og med antigenskiift. Værten har således ikke mulighed for at reagere på det nye antigen, med mindre dette bliver præsenteret ved værtens cellemembran. Frigivelsen af merozoiter fra tarmcellerne er associeret med massiv frigørelse af antigen materiale, men de har ligesom sporozoiterne kun en ganske kort ekstracellulær fase, hvor overfladeantigenerne udgør mål for værtens anti-parasit respons. Hver generation af merozoiter har ligeledes forskelle i antigen profil, hvilket yderligere komplicerer immunitetsudviklingen. Gametocytterne er ligesom schizonterne beskyttede fra mange af værtens potentielle effektor mekanismer, hvorfor de intracellulære drabsmekanismer dominerer (Long, 1990).

Hos naturligt inficerede køer er det vist, at specifikke antistoffer (signifikante mængder af IgG₁) mod *E. bovis* første generations merozoitter overføres med råmælken fra ko til kalv. Antistofniveauet varierer imidlertid betragteligt imellem ko-kalv par, og der er ikke fundet sammenhæng mellem det eksakte antistofniveau hos kalven og modstandskraft mod senere eksperimentel challenge ved 15 ugers alderen (Fiege et al., 1992). På gårdniveau er coccidiose situationen hos kvæg undersøgt i 2 tyske regioner med henholdsvis 86 og 70 ko-kalv par, som blev fulgt fra 3 uger før kælvning til 2 måneder efter. Især udskillelsen af *E. bovis* toppede hos koen omkring kælvningen (parallelt med stigende udskillelse af strongylideæg), og prævalensen af *Eimeria* infektioner steg, fra 3 uger før kælvning til 9 uger efter, i den ene region fra henholdsvis 30% - 67,1% og i den anden region fra 7% - 50,1%. Selvom specifikke antistoffer kunne påvises hos kalvene efter råmælksoptagelse, kunne der ikke påvises sikker maternel beskyttelse mod *E. bovis*, mens kalvenes eget aktive immunrespons kunne påvises gennem stigende antistofniveauer fra 3-9 ugers alderen (Faber et al., 2002). Efter eksperimentel infektion af 6 uger gamle tyrekalve med 35-40.000 *E. bovis* oocyster blev antistofudviklingen fulgt over de næste 40 dage. Det viste sig, at serum antistofferne toppede mellem dag 10 og 17, hvilket var sammenfaldende med den største oocysteudskillelse, og at antistofniveauet faldt til basisniveauet indenfor observationsperioden. Forfatterne konkluderede, at de

ikke så tegn på immunsuppression ved den akutte infektion, og at den cellulære immunitet sandsynligvis er vigtigere end den humorale immunitet i forbindelse med modstandsdygtighed mod reinfektion (Hughes et al., 1989). Dette er i overensstemmelse med forsøg på passiv serumbehandling, som ikke har vist nogen positiv effekt på de kliniske symptomer hos *E. bovis* podede kalve, selv efter gentagen behandling hver 3. dag i 2 uger (Fitzgerald, 1964).

T-celle responset efter eksperimentel infektion med *E. bovis* er undersøgt hos kalve gennem præpatens-, patens-, og postpatensperioden dels ved isolation af perifere blodlymfocytter, dels ved isolation af lymfeknuder langs mave-tarmkanalen ved aflivning af kalvene (35 dage p.i.). Resultaterne viste, at første generations schizonterne udgjorde et stærkt antigenstimulus, som især involverede CD4⁺ Th1-cellerne i det primære *E. bovis* infektionsforløb, mens cytotoksiske CD8⁺ T-celler syntes at være den vigtigste effektorcelletype mod parasitten i tilfælde af reinfektion (Hermosilla et al., 1999). For *Cryptosporidium parvum*, en parasitær protozo der giver anledning til diarré hos kalve indenfor de første leveuger, er det ligeledes vist, at både CD4⁺ og CD8⁺ T-celler spiller en vigtig rolle i udvikling af immunresponset efter primære og sekundære infektioner med denne parasit hos kalve (Abrahamsen, 1998). Et cellemedieret immunsvar er også påvist ved måling af ”delayed hypersensitivity” (målt ved hudtest) og ved lymfocytblastogenese med anvendelse af ekstraherede antigener fra bl.a. *E. bovis* (Klesius et al., 1977). En samlet oversigt over de immunologiske og inflammatoriske mekanismer, som er involverede for at danne beskyttende immunitet mod *Eimeria* er præsenteret af Long (1990). Responserne starter med genkendelse af de parasit derivede antigener i mukosa, Peyer pletterne og i de drænerende lymfeknuder. Recirkulering af lymfocytterne bringer B og T celler tilbage til mucosa. B cellerne danner Ig lokalt såvel som systemisk, og IgA tilføres tarmen gennem galden. Antistofferne interagerer med flere forskellige typer hvide blodlegemer og igangsætter et inflammatorisk respons, ligesom de direkte kan interagere med parasitterne. T-cellerne igangsætter ændringer i selve tarmmukosa, påvirker den lokale produktion af hvide blodlegemer samt produktionen af nye celler i knoglemarven. T-cellerne påvirker også direkte enterocytter, bægerceller og intraepitheliale lymfocytter til dannelse af uspecifikke og specifikke inflammationsreaktioner såsom mastocytose, bægercellehyperplasi, villus atrofi, krypt hyperplasi, plasma celle infiltration, ”delayed hypersensitivity” og T-celle afhængig antistofrespons (IgG og IgA). Normalt vil Th1 responset være mest relevant ved intracellulære parasitter, mens Th2 responset er bedre egnet ved immunitetsdannelse mod helminth-infektioner (f.eks. Cox, 1998). Det er således i høj grad samspillet mellem forskellige elementer af det specifikke og uspecifikke immunsystem, der har den afgørende betydning for opnåelse af beskyttende immunitet snarere end en enkelt effektormekanisme.

Ernæringsstatus

For at forstå, hvorfor syge kalve har nedsat ædelyst, er der gennem den seneste årrække lavet adskillige eksperimentelle forsøgsopstillinger (især med gnavere), som beskriver sammenhænge mellem reduktion i foderoptagelse medieret af inflammatoriske cytokiner og disses kommunikation mellem immunsystemet, det endokrine system og CNS. Resultaterne er bl.a. beskrevet i en oversigtsartikel af Johnson (1998). Der er således overbevisende data som viser, at både infektiøse og non-infektiøse patogener reducerer den fodermotiverede adfærd og den frivillige foderoptagelse ved at stimulere leukocytter (f.eks. monocytter, makrofager og mikroglia) til produktion af cytoki-

ner. Hvis makrofagerne ikke er i stand til at producere cytokiner såsom interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) og tumor nekrosis faktor- α (TNF- α), når makrofagerne udsættes for antigen (f.eks. lipopolysaccharid (LPS)), kan immunsystemet ikke kommunikere med de øvrige systemer, og dyret bliver ikke anorektisk og taber vægt, som det ellers ville gøre. På kort sigt for dyret er der dog i forsøg med mus vist en positiv sammenhæng mellem overlevelse og anorexi og vægttab, og adfærdsmønstret hos det syge dyr synes derfor at være organiseret og evolutionsmæssigt udviklet med strategier, der fremmer dyrets overlevelse.

Der er for nyligt påvist sammenhænge mellem cytokinerne og hormonet leptin, som regulerer foderoptagelse og energiforbrug. Cytokinerne stimulerer det hvide fedtvæv til produktion af leptin, som efterfølgende reducerer foderoptagelsen, øger energiforbruget og reducerer fedtdepoterne. Hos mus ved man, at makrofagderiverede cytokiner er vigtige for LPS-induceret sekretion af leptin, og at mindst ét af cytokinerne, TNF- α , stimulerer leptinudskillelse gennem direkte effekt på fedtcellerne. Da leptin spiller en vigtig rolle i regulering af foderoptagelse og energiforbrug hos sunde dyr, antages det således, at leptin også spiller en vigtig rolle i reguleringen hos det syge dyr (Johnson, 1998).

Stress

Coccidiose er en typisk multifaktoriel lidelse, idet et sygdomsudbrud vil være afhængigt af graden af tilsmudsning i stald eller på mark med coccidieholdig gødning m.a.o. graden af rengøring. Dyrene kan immuniseres blot ved ringe mængder af coccidieoocyster i miljøet, men immuniteten kan gennembrydes, hvis dyr udsættes for stort smittepres og således føre til sygdom. Der opstår i miljøet en ligevægt, som kan forskubbes, såfremt smittepresset er særligt højt og/eller dyrene særligt modtagelige, f.eks. lider under en anden tarminfektion, har supprimeret immunsvær pga. generaliseret infektion, eller er stressede pga. indvirkningen af forskellige stressorer såsom sammenblanding, foderskift, træk, kulde og regn o.lign.

Coccidiose optræder mest almindeligt hos kalve på bestemte tider af året. Vintercoccidiose optræder, når mange kalve sammenbringes på et trangt, fugtigt og snavset areal (Marquardt, 1961), efter en lang periode med koldt vejr, eller ved skifte i vejret fra moderat vinter til streng frost. Dette tyder på, at kulde kan virke som en stressfaktor, der kan udløse klinisk sygdom hos allerede inficerede kalve. Eksperimentelt er det vist, at subklinisk inficerede fedekalve på 10-12 mdr. udviklede klinisk coccidiose og massiv oocysteudskillelse efter behandling med dexamethason (Roth et al., 1989). Infektionen optræder ofte når fravænnede kalve fodres på en måde, så risikoen for konstant fækal kontaminering af foderet er til stede. Indtagelse af fæces fra klinisk syge dyr eller fra "carrier" dyr er således smitekilden, og infektionen opnås ved indtagelse af kontamineret foder (eller strøelse) og vand, eller ved at kalvene slikker på pelsen, hvis denne er kontamineret med gødning. Kontaminering af nærmiljøet opbygges gradvist ved sammenbringning af kalve i fællesbokse, og ved kontinuerlig indtagelse af oocyster med efterfølgende reinfektion til følge. Såfremt belægningsgraden i en boks er for høj vil tendens til gødningsafsætning på andre kalve øges og dermed øges risikoen for, at kalvene ved at slikke på sig selv og hinanden bliver smittet med coccidier (Bürger, 1983). Den optimale gruppestørrelse er vist at være 4-6 kalve pr. boks for at minimere det sociale stressniveau fra gruppen (Oetjen, 1993). Coccidiose kan også forekomme i svære tilfælde selv under tørre betingelser, hvilket tyder på, at graden af oocyst kontamination er af mindre betydning end

ernæringsmæssig stress ved udløsning af klinisk sygdom. Akut coccidiose kan optræde hos kalve i alle aldre, hvis deres resistens gennembrydes pga. en anden sygdom, barskt vejr o.lign.

6. Miljøets betydning for udvikling af coccidiose

Staldcoccidiose

Det intensive landbrug med opstaldning af mange dyr på få kvadratmeter stiller store krav til optimering af management og staldmiljø. Når mange unge dyr opstaldes tæt sammen, og i tilfælde af kontinuerlig tilførsel af nye modtagelige kalve, fremmes muligheden for epidemiske sygdomsudbrud, herunder også udbrud af enzootisk forekommende agens såsom *Eimeria* spp. Staldklimaet (herunder temperatur og luftfugtighed) har væsentlig indflydelse på coccidioocysternes sporuleringshastighed, idet staldtemperaturer på 17°C-18°C muliggør en hurtig sporulering og dermed opbygning af et massivt antal infektive oocyster (Marquardt et al., 1960). I besætninger, hvor temperaturen lå mellem 12°C og 15°C udskilte kalvene kun få oocyster, og der forekom kun enkelte eller ingen kliniske udbrud (Gräfner et al., 1978). En høj relativ luftfugtighed (>80%) øger ligeledes antallet af infektive oocyster i miljøet, således er der observeret tre til fire gange højere oocysteudskillelse samt 33-66% flere kliniske sygdomstilfælde i besætninger med fejl i ventilationssystemet end i korrekt ventilerede stalde (Gräfner et al., 1985). Gulvets udformning påvirker også oocysteudskillelsen, som er højere hos kalve i dybstrøelse end på spalter. Placering af fodertrug, høhæk og vandforsyning over gulvhøjde, så fækal forurening undgås, minimerer kalvens optagelse af infektive oocyster. Manglende hygiejne, herunder dårlig rengøring og desinfektion af bokse samt manglende udtømning og rengøring af foder- og mælkespande er beskrevet at være årsag til høj oocysteudskillelse og hyppige udbrud af coccidiose (Gräfner et al., 1985). Sammenfattende kan konkluderes, at coccidiernes mulighed for at akkumulere som infektive stadier i modtagelige individers nærmiljø (smittepresset) er påvirket af adskillige faktorer, som bør kunne reguleres gennem veltilrettelagt produktionsstyring og høj hygiejnestandard, hvorved de kliniske symptomer på coccidiose tilsyneladende undgås (Cornelissen et al., 1995).

Græsmarkscoccidiose

Ved udbindingscoccidiose optager førstegangsgræssende kalve infektive oocyster fra *E. alabamensis* inficerede græsningsarealer, der har været afgræsset af kalve året før. Oocysterne er meget modstandsdygtige, og fra svenske undersøgelser er det vist, at overlevelsen forekommer i alle de temperaturzoner, hvor der holdes kvæg, evt. på grund af den beskyttende effekt af et snedække i de koldeste zoner (Svensson, 1995). Idet den væsentligste smittekilde er overvintrede oocyster, er brug af vedvarende græsgange stærkt relateret til udbrud af denne coccidioseform (Svensson et al., 1994). I forbindelse med udbindingscoccidiose optræder diarré hos kalvene ca. 4-7 dage efter udbindingen, og oocysteudskillelsen toppe sædvanligvis på 8.-10. græsningsdag. En effektiv forebyggelse af denne coccidioseform omfatter især foldskifte mellem græsningsæsonerne, således at førstegangsgræssere altid indsættes på "rene" arealer, mens andet års græssende ungdyr overtager dette areal i de efterfølgende år. På denne måde undgås opformering af oocysterne i de fuldt modtagelige kalve, samtidig med at klinisk sygdom minimeres, da ungdyrene pga. udviklet resistens har lavere risiko

for at gennemgå sygdomsudbrud. Foldskifte med andre dyr såsom får eller heste anbefales ligeledes. Modtagelige kalve må ikke fodres med hø fra kontaminerede marker, da overlevelse i hø af infektiøse oocyster er påvist i mindst 8 måneder efter høst (Svensson, 1997). Senere optræden af græsmarkscoccidiose, 4-8 uger efter udbindingen, forårsages oftest af *E. bovis* og *E. zuernii* som de dominerende coccidiearter, men alle coccidiearter er påvist såvel inde som ude. Tilfælde sidst på græsnings sæsonen opstår ved sen udbinding af modtagelige ungdyr eller ved flytning af ikke immune dyr til kontaminerede marker. Anvendelse af oocysteficerede græsarealer fra førstegangsgræssende kalve til ungdyr i deres anden græsnings sæson har med succes været benyttet til at ”rense” inficerede arealer, fordi reinfektion med *E. alabamensis* er af mindre klinisk betydning for ungdyrene, og oocystedskillelsen ved reinfektion er af ringere omfang end ved primærinfektionen som kalv (Svensson, 2000).

Stress i forbindelse med udbindingen, herunder miljø- og foderskift, omgruppering samt kulde, blæst og regn, spiller sandsynligvis en stor rolle for udviklingen af klinisk sygdom. Derfor vil foranstaltninger såsom gradvis overgang ved foderskift, gruppering i små grupper hvor det sociale stressniveau er begrænset, adgang til overdækkede og træk-fri kalvehytter i tilfælde af dårligt vejr, adgang til velstrøede og tørre hvilearealer, alle være faktorer, der bidrager til minimering af de stressorer, som i værste fald udløser klinisk coccidiose.

7. Forebyggelse af coccidiose

Management faktorer

Total udryddelse af coccidier er ikke muligt pga. parasittens ubikvitære forekomst og resistens i miljøet (e.g. Cornelissen et al., 1995; Bejsovec, 1991; Fayer et al., 2000; Chibunda et al., 1997). Derfor må de forebyggende tiltag, som forhindrer opbygning af smittepresset i nærmiljøet være væsentlige. Ligeledes må tiltag, der styrker kalvens robusthed og sundhedsstatus generelt være i fokus. Det er således essentielt, at kalvene allerede fra fødslen sikres optimal råmælkstildeling og et nærmiljø, der ikke er stærkt belastet med *Cryptosporidium* og *Eimeria* spp. Optimalt bør kælvning foregå i en rengjort og velstrøet kælvningsboks, og selvom koen og kalven går sammen efter kælvningen, anbefales at tildele 3-4 liter kolostrum enten i sutteflaske eller med sonde. Kun ved styret råmælkstildeling sikres, at alle kalve optager tilstrækkelige mængder immunglobuliner (>100 g IgG₁), idet mere end 50% af normalt livskraftige kalve, der udelukkende drikker råmælk fra koen, er hypogammaglobulinæmiske (Besser et al., 1991). Råmælkstildelingen er ligeledes af afgørende betydning for aktivering og modning af det cellemedierede immunforsvar, idet forskellige cellulære komponenter, bl.a. T-lymfocytter, overføres fra kolostrum til blodet (Le Jan, 1996). Tildeling af råmælken bør foregå indenfor de første 6 timer efter fødslen, fordi absorptionen gradvist reduceres med tid, og mindre end 50% passerer tarmepithelet efter 6 timer faldende yderligere til minimal optagelse efter 24 timer (Matte et al., 1982).

Fra kælvningsboksen skal kalven flyttes til enkeltboks eller kalvehytte, der ligeledes er rengjort, desinficeret og velstrøet. Fodring med sødmælk eller mælkeerstatning af høj kvalitet i moderate mængder (2-3 liter to gange dagligt) samt adgang til kalvestarterblanding og godt hø fra første leveuge mindsker risikoen for diarré, letter fravæningen og stimulerer tidlig udvikling af drøvtyg-

gerfunktionen. Før indsættelse af kalvene i fællesbokse skal disse ligeledes gennemgå grundig rengøring og desinfektion, så smitte fra tidligere hold undgås. I forbindelse med indsættelsen vil de kalve, der allerede er smittet med coccidier fra kælvnings- eller enkeltboksene, blive udsat for forskellige former for stressorer samtidigt, hvorved risikoen for nedsat immunkompetence øges med øget oocystesudskillelse til følge. Derfor gælder det om at minimere stressorerne bedst muligt. For eksempel bør holdstørrelsen generelt ikke overstige 10 kalve ligesom belægningsgraden bør være så lav som muligt. Stringent holddrift er også tilrådelig, fordi kontinuerlig indsættelse af fuldt modtagelige kalve til et kontamineret miljø samtidig med kamp om social rang m.m. er stærkt disponerende for coccidiose med øgning af oocystesudskillelsen, hvorved smittepresset evt. gennembryder de øvrige kalves immunitet (Fiege et al., 1992). Selve boksen bør indrettes, så fækal forurening af høn, foder og vand undgås. Stråfoder skal tildeles i høhæk eller på foderbord, og krybben skal adskilles fra boksen med et hensigtsmæssigt forværk.

Forebyggelse af græsmarkscoccidiose

Strategisk parasitkontrol i økologiske besætninger i græsningsperioden er beskrevet under svenske forhold af Svensson et al. (2000), hvor et spørgeskema blev uddelt til 162 økologiske og 162 konventionelle besætninger med en besvarelsesgrad på respektive 135 brug (83%) og 115 brug (71%). Mens hovedparten af de konventionelle besætninger (58%) benyttede profylaktisk anthelmintika-behandling, anvendte de økologiske producenter i stedet for strategisk græsmarksmanagement. Den hyppigste anti-parasit strategi var tildeling af supplerende kraftfoder og/eller grovfoder forår og efterår, men også andre strategier blev benyttet herunder udbinding på marker, som ikke havde været afgræsset af kvæg det foregående år, skift mellem forskellige marker indenfor samme græsnings sæson, indsættelse på arealer, hvor der havde været høstet høn eller ensilage først, eller ved alternerende afgræsning med andre dyrearter (især heste). Der blev rapporteret flere diarréudbrud hos førstegangsgræssende kalve og en lavere tilvækst gennem græsnings sæsonen hos kalve i de økologiske besætninger end i den konventionelle. Hvorvidt diarréproblemerne i de økologiske besætninger var forårsaget af *Eimeria* spp. er imidlertid uvist, da nærstudier af parasitbelastningen i 15 økologiske svenske besætninger i græsnings sæsonerne 1997 og 1998 afslørede lave til moderate niveauer af *E. alabamensis* i de fleste besætninger, og der blev ikke registreret kliniske udbrud af coccidiose. Lungeorminfektion (*Dictyocaulus viviparus*) syntes derimod at være vanskeligere at kontrollere i besætningerne, hvor behandlingskrævende udbrud optrådte på 2 af de 15 gårde. Forfatterne konkluderede, at benyttelse af parasitfrie græsmarker ved udsættelse og supplerende tilskuds-foder til kalvene syntes at være effektive faktorer ved kontrollen af de gastrointestinale parasitter herunder *E. alabamensis* (Höglund et al., 2001).

Immunisering

Det angives, at der kan induceres immunitet i kalve mod *E. bovis* infektion/sygdom ved at give en stor dosis (f.eks. 50.000 oocyster) på én gang eller delt i få portioner (Senger et al., 1959; Daugschies et al., 1986). Andre finder derimod at indtagelse af lave oocyst doser (110 oocyster i løbet af 11 dage) fører til nogen beskyttelse overfor senere store challengeinfektioner (Fitzgerald, 1967), en observation, der muligvis også holder stik i praksis (Cornelissen et al., 1995). Immunisering har

ligeledes været vellykket ved en coccidiostatikum (monensin eller amprolium) attenuering af infektionen førende til betydelig reduktion i oocysteudskillelse hhv. patologiske følger af challengeinfektionen (Stockdale et al., 1982). Høje ($250.000 \cdot 10^6$) enkeltdoser af *E. ellipsoidalis* har ligeledes vist sig at føre til immunitet ved challengeinfektion af kalvene, hvorimod lavere doser (<850.000 oocyster pr. kalv) ikke havde samme effekt (Hammond et al., 1963). Nogle studier af *E. alabamensis* infektioner har ikke kunnet vise tilsvarende (Davis et al., 1955), hvorimod andre studier har givet indikation på udvikling af resistens overfor *E. alabamensis* efter en initial inokulation af kalve med $1-8 \times 10^7$ oocyster, idet kalvene efter challengeinfektion udskilte stærkt reducerede oocystemængder (Soekardono et al., 1975). Radioaktivt behandlede oocyster af *E. zuernii* har været anvendt som vaccine i dosis på 30.000 oocyster pr. kalv med nogen positiv effekt (Mielke et al., 1993). Der er som nævnt (se ovenfor) udført forsøg med passiv immunisering af kalve overfor *E. bovis* infektion via kolostrum og dermed kolostrale antistoffer.

8. Pasning af kalve med coccidiose

I forbindelse med klinisk coccidiose estimerede Preston-Mapham & Sykes (1970), at op til 70% af vægttabet skyldtes anorexi, mens ca. 30% skyldtes reduceret intestinal absorption af næringsstoffer. Dauschies et al. (1998) bekræftede anorexi som hovedårsagen til vægtdepression, men fandt at det endogene tab af organiske forbindelser via parasitinducerede mucosale læsioner var væsentligere end ændringer i fordøjelse og absorption af næringsstoffer. Selvom coccidiose således ofte ikke direkte involverer fejlnæring, kan fejlnæring blive et resultat af udvikling af sygdommen, blandt andet pga. den nedsatte appetit som følge af en nedsat evne til at fordøje foder og optage næringsstoffer samt især pga. nedsat evne til at tilbageholde væske. *E. bovis* og *E. zuernii* beskadiger ikke tyndtarmsafsnittene i væsentlig grad, mens massive ødelæggelser opstår i caecum og colon, hvilket resulterer i alvorlige forstyrrelser i den normale absorption og retention af væske. Under sådanne forhold er væskebalancen vanskelig eller umulig at opretholde, og det kan blive aktuelt at give elektrolytbehandling, med væske indeholdende elektrolytter, proteiner, vitaminer og kulhydrater. Væsketerapien kan indgives oralt, rektalt, intravenøst eller intraperitonalt (Fitzgerald, 1980).

I forbindelse med canadiske erfaringer, er opstillet følgende råd i forbindelse med udbrud af vinter coccidiose på besætningsniveau (Radostits & Stockdale, 1980).

1. Identifikation og isolation af angrebne kalve samt intensiv væsketerapi i 3-5 dage til svært angrebne dyr.
2. Reduktion af belægningsgraden i bokse med kliniske udbrud.
3. Alt foder tildeles i trug, hvor gødningskontaminering undgås.
4. Ekstra, ren strøelse for at mindske oocystekonzentrationen og minimere kuldestress.
5. Overvej massemedicinering af foder eller vand af alle kontaktdyr i op til 21 dage.

9. Konklusion

Coccidiose er vidt udbredt - også i danske økologiske malkekvægsbesætninger. Nogle coccidiearter er hyppigere forekommende end andre, men forekomsten af selv høje mængder af coccidier kan ikke nødvendigvis relateres til optræden af diarré. Forekomst af diarré vil afhænge dels af arten af coccidier, dels af andre kompromitterende faktorer såsom kalvens immun- og ernæringsstatus samt tilstedeværelsen af evt. sygdomsfremkaldende og /eller potenserende mikroorganismer. Graden af smitte i et givet område (boks, mark) hænger nøje sammen med management, således at høj belægningsgrad, mangelfuld rengøring, manglende rotation af modtagelige dyr osv. vil disponere for udbrud af coccidiose. God staldstyring og hygiejne samt sikring af en stærk kalv fra første færd (adækvat råmælksforsyning m.v.) er de væsentligste komponenter til forebyggelse af staldcoccidiose blandt kalve.

10. Referencer

- Abrahamsen, M.S. 1998. Bovine T cell responses to *Cryptosporidium parvum* infection. Int. J. Parasitol., 28: 1083-1088.
- Autzen, S., Maddox-Hyttel, C., Vigre, H. & Monrad, J. 2002. Infektion med *Eimeria*-arter hos kalve. Vurdering af risikofaktorer og sammenhæng mellem diarré og oocysteudskillelse. Dansk Vet-tidsskr., 85: 6-10
- Bejšovec, J. 1991. Permanent transmission of endoparasites in large herds of cattle. Acta Vet. Brno, 60: 205-212.
- Benz, G.W. & Ernst, J.V. 1976: Alkaline phosphatase activities in intestinal mucosa from calves infected with *Cooperia punctata* and *Eimeria bovis*. Am. J. Vet. Res, 37: 895-899.
- Besser, T.E., Gay, C.C. & Pritchett, L. 1991. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. JAVMA, 198: 419-422.
- Blood, D.C., Radostits, O.M., Arundel, J.H. & Gay, C.C. 1989. Veterinary Medicine, A textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 7th edition, Baillière Tindall, 24-28 Oval Road, London, England.
- Blum, J.W. & Hammon, H. 2000. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. Livest. Prod. Sci., 66: 151-159.
- Borelli, D. 1971: Osservazioni su *Eimeria bukidnonensis* Tubangui 1931 del bovino. Parassitologia, 13, 127-138.
- Bowman, D.D. (Ed.)1995: Georgis' parasitology for veterinarians W.B. Saunders Company, Philadelphia PA, USA.
- Bürger, H.J. 1983: Eimeria-Infektionen beim Rind. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 96, 350-357.
- Catchpole, J. & Harris, T.J. 1989: Interaction between coccidia and *Nematodirus battus* in lambs on pasture. Vet. Rec., 124, 603-605.
- Catchpole, J., Norton, C.C. & Joyner, L.P. 1976: Experiments with defined multispecific coccidial infections in lambs. Parasitology, 72, 137-147.
- Chibunda, R.T., Muhairwa, A.P., Kambarage, D.M., Mtambo, M.M.A., Kusiluka, L.J.M. & Kazwala, R.R. 1997. Eimeriosis in dairy cattle farms in Morogoro municipality of Tanzania. Prev. Vet. Med., 31: 191-197.
- Christensen, J.F. 1941: The oocysts from domestic cattle in Alabama (U.S.A.) with descriptions of two new species. J. Parasitol, 27, 203-220.
- Cornelissen, A.W.C.A., Verstegen, R., van den Brand, H., Perie, N.M., Eysker, M., Lam, T.J.G.M. & Pijpers, A. 1995: An observational study of *Eimeria* species in housed cattle on Dutch dairy farms. Vet. Parasitol., 56, 7-16.

- Cotteleer, C. & Famerée, L. 1978: Les Eimeriidae des bovidés en Belgique. Fréquence et identification. Schw Arch Tierheilk., 120, 149-156.
- Courtney, C.H., Ernst, J.V. & Benz, G.W. 1976: Redescription of oocysts of the bovine coccidia *Eimeria bukidnonensis* Tubanguí 1931 and *E. wyomingensis* Huizinga and Winger 1942. J. Parasitol., 62, 372-376.
- Cox, F.E.G. 1998. Control of coccidiosis: lessons from other sporozoa. Int. J. Parasitol, 28, 165-179.
- Dauguschies, A., Akimaru, M. & Bürger H.J. 1986: Experimentelle *Eimeria bovis*-Infektionen beim Kalb: 1. Parasitologische und klinische Befunde. Dtsch Tierärztl Wschr., 93, 377-464.
- Dauguschies, A., Bürger, H.J. & Akimaru, M. 1997. Effects of experimental infection with *Eimeria bovis* on the balance of sodium, potassium and water in calves. Parasitology International, 46, 159-169.
- Dauguschies, A., Bürger, H.J. & Akimaru, M. 1998. Apparent digestibility of nutrients and nitrogen balance during experimental infection of calves with *Eimeria bovis*. Vet. Parasitol., 77: 93-102.
- Davis, L.R. & Bowman, G.W. 1957: The endogenous development of *Eimeria zurnii*, a pathogenic coccidium of cattle. Am. J. Vet. Res., 18, 569-574.
- Davis, L.R. & Bowman, G.W. 1962: Schizonts and microgametocytes of *Eimeria auburnensis* Christensen and Porter, 1939, in calves. J. Protozool, 9, 424-427.
- Davis, L.R., Boughton, D.C. & Bowman, G.W. 1955: Biology and pathogenicity of *Eimeria alabamensis* Christensen, 1941, an intranuclear coccidium of cattle. Am. J. Vet. Res., 16, 274-281.
- Davis, L.R., Herlich, H & Bowman, G.W. 1959a: Studies on experimental concurrent infections of dairy calves with coccidia and nematodes. I. *Eimeria* spp. and the small intestinal worm *Cooperia punctata*. Am. J. Vet. Res. 20, 281-286.
- Davis, L.R., Herlich, H & Bowman, G.W. 1959b: Studies on experimental concurrent infections of dairy calves with coccidia and nematodes. II. *Eimeria* spp. and the medium stomach worm *Ostertagia ostertagi*. Am. J. Vet. Res., 20, 487-489.
- Davis, L.R., Herlich, H & Bowman, G.W. 1960a: Studies on experimental concurrent infections of dairy calves with coccidia and nematodes. III. *Eimeria* spp. and the threadworm *Strongyloides papillosus*. Am. J. Vet. Res. 21, 181-187.
- Davis, L.R., Herlich, H & Bowman, G.W. 1960b: Studies on experimental concurrent infections of dairy calves with coccidia and nematodes. IV. *Eimeria* spp. and the small hairworm *Trichostrongylus colubriformis*. Am. J. Vet. Res., 20, 188-194.
- De la Fuente, C., Cuquerella, M., Carrera, L., Alunda, J.M. 1993: Effect of subclinical coccidiosis in kids on subsequent trichostrongylid infection after weaning. Vet. Parasitol, 45, 177-183.
- Dubremetz, J.F., Garcia-Réguet, N., Conseil, V. & Fourmaux, M.N. 1998: Apical organelles and host-cell invasion by Apicomplexa. Int. J. Parasitol, 28, 1007-1013.

- Durham, P.J.K., Johnson, R.H. & Parker, R.J. 1985: Exacerbation of experimental parvoviral enteritis in calves by coccidia and weaning stress. *Res. Vet. Sci.*, 39, 16-23.
- Eckert, J., Taylor, M, Catchpole, J., Licois, D., Coudert, P. & Bucklar, H. 1995: Identification of *Eimeria* species. Morphological characteristics of oocysts. In: Eckert, J., Braun, R., Shirley, M.W. & Coudert, P. (eds.) COST 89/820 Biotechnology. Guidelines on techniques in coccidiosis research, European Commission, Luxembourg, p. 103-119.
- Entzeroth, R., Mattig, F.R. & Werner-Meier, R. 1998: Structure and function of the parasitophorous vacuole in *Eimeria* species. *Int. J. Parasitol.* 28, 1015-1018.
- Ernst, J.V. & Courtney, C.H. 1977: Prepatent and patent periods of the bovine coccidium *Eimeria subspherica* Christensen, 1941, with a redescription of the sporulated oocyst. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, 44, 97-98.
- Ernst, J.V. & Benz, G.W. 1980: Attempts to produce experimental *Eimeria wyomingensis* infections in calves. *J. Parasitol.*, 66, 625-629.
- Ernst, J.V. & Benz, G.W. 1986: Intestinal coccidiosis in cattle. *Vet. Clin. N. Am: Food Anim. Pract.*, 2, 283-291.
- Ernst, J.V., Ciordia, H. & Stuedemann, J.A. 1984: Coccidia in cows and calves on pasture in north Georgia (U.S.A.). *Vet. Parasitol.* 15, 213-221.
- Faber, J.-E., Kollmann, D., Heise, A., Bauer, C., Failing, K., Bürger, H.-J. & Zahner, H. 2002. *Eimeria* infections in cows in the periparturient phase and their calves: oocyst excretion and levels of specific serum and colostrum antibodies. *Vet. Parasitol.*, 104: 1-17.
- Fayer, R., Trout, J.M., Graczyk, T.K. & Lewis, E.J. 2000. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. *Vet. Parasitol.*, 93: 103-112.
- Fiege, N., Klatte, D., Kollmann, D., Zahner, H. & Bürger, H.-J. 1992. *Eimeria bovis* in cattle: colostrum transfer of antibodies and immune response to experimental infections. *Parasitol. Res.* 78: 32-38.
- Fitzgerald, P.R. 1964. Attempted passive immunization of young calves against *Eimeria bovis*. *J. Protozool.*, 11: 46-51.
- Fitzgerald, P.R. 1967: Results of continuous low-level inoculations with *Eimeria bovis* in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 28, 659-665.
- Fitzgerald, P.R. 1980. The Economic Impact of Coccidiosis in Domestic Animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, 24: 121-143.
- Fitzgerald, P.R. & Mansfield, M.E. 1972. Effects of Bovine Coccidiosis on Certain Blood Components, Feed Consumption, and Body Weight Changes of Calves. *Am. J. Vet. Res.*, 33:1391-1397.

- Frandsen, J.C. 1982: Effects of concurrent subclinical infections by coccidia (*Eimeria christenseni*) and intestinal nematodes (*Trichostrongylus colubriformis*) on apparent nutrient digestibilities and balances, serum copper and zinc, and bone mineralization in the pigmy goat. *Am. J. Vet. Res.*, 43, 1951-1953.
- Friend, S.C.E. & Stockdale, P.H.G. 1980: Experimental *Eimeria bovis* infection in calves: a histopathological study. *Can J. Comp. Med.*, 44, 129-140.
- Gräfner, G., Graubmann, H.D. & Kron, A. 1978: Zur Epizootiologie der Rinderkokzidiose in Aufzucht- und Mastbetrieben. *Mh. Vet.-Med*, 33, 910-912.
- Gräfner, G., Graubmann, H.D., Schwartz, K., Hiepe, T. & Kron, A. 1985. Weitere Untersuchungen zu Vorkommen, Epizootiologie und Bekämpfung der *Eimeria*-Kokzidiose des Rindes unter den Bedingungen der intensiven Stallhaltung. *Mh. Vet.-Med.* 40: 41-44.
- Gregory, M.W., Catchpole, J., Norton, C.C. & Pittilo, R.M. 1987: Synchronised division of coccidia and their host cells in the ovine intestine. *Parasitol. Res*, 73, 384-386.
- Hammond, D.M., Clark, W.N. & Miner, M.L. 1961: Endogenous phase of the life cycle of *Eimeria auburnensis* in calves. *J. Parasitol.*, 47, 591-596.
- Hammond, D.M., Sayin, F. & Miner, M.L. 1963: Über den Entwicklungszyklus und die Pathogenität von *Eimeria ellipsoidalis* Becker und Frye, 1929, in Kälbern. *Berl Münch Tierärztl Wschr.*, 76, 331-333.
- Hammond, D.M., Scholtyseck, E. & Chobotar, B. 1967: Fine structures associated with nutrition of the intracellular parasite *Eimeria auburnensis*. *J. Protozool.*, 14, 678-683.
- Helle, O. 1970: Winter resistant oocysts in the pasture as a source of coccidial infection in lambs. *Acta Vet. Scand.*, 11, 545-564.
- Henriksen, S.Aa. & Aagaard, K. 1976; En enkel flotations og McMastermetode. *Nord. Vet.-med.*, 28, 392-397.
- Henriksen, S.Aa. & Korsholm, H. 1984: Parasitologisk undersøgelse af fæcesprøver. Konstruktion og anvendelse af et enkelt opbygget tællekammer. *Dansk Vet.tidsskr.*, 67, 1193-1196.
- Hermosilla, C., Bürger, H.-J. & Zahner, H. 1999. T cell responses in calves to a primary *E. bovis* infection: phenotypical and functional changes. *Vet. Parasitol.*, 84: 49-64.
- Herrick, J.B. 1990: Conquering coccidia. Subclinical cases demand veterinary know-how. *Large Anim. Vet.*, 45, 29-30.
- Hoblet, K.H., Shulaw, W.P., Saif, L.J., Weisbrode, S.E., Lance, S.E., Howard, R.R., Angrick, E.J. & Redman, D.R. 1992: Concurrent experimentally induced infection with *Eimeria bovis* and coronavirus in unweaned dairy calves. *Am. J. Vet. Res.*, 53, 1400-1408.
- Holloway, N.M., Lakritz, J., Tyler, J.W. & Carlson, S.L. 2002. Serum lactoferrin concentrations in colostrum-fed calves. *Am. J. Vet. Res.* 63:476-478.

- Holst, H & Svensson, C. 1994. Changes in the blood composition of calves during experimental and natural infections with *Eimeria alabamensis*. Res. Vet. Sci. 57: 377-383.
- Hooshmand-Rad, P., Svensson, C. & Ugglå, A. 1994: Experimental *Eimeria alabamensis* infection. Vet. Parasitol, 53, 23-32.
- Höglund, J., Svensson, C. & Hessel, A. 2001. A field survey on the status of internal parasites in calves on organic dairy farms in southwestern Sweden. Vet. Parasitol. 99: 113-128.
- Hughes, H.P.A., Whitmire, W.M. & Speer, C.A. 1989. Immunity patterns during acute infection by *Eimeria bovis*. J. Parasitol., 75:86-91.
- Johnson, R.W. 1998. Immune and endocrine regulation of food intake in sick animals. Domestic Animal Endocrinology, 15: 309-319.
- Joyner, L.P., Norton, C.C., Davies, S.F.M. & Watkins, C.V. 1966: The species of coccidia occurring in cattle and sheep in the South-West of England. Parasitology, 56, 531-541.
- Klesius, P.H., Kristensen, F., Elston, A.L. & Williamson, O.C. 1977. *Eimeria bovis*: Evidence for a Cell-Mediated Immune Response in Bovine Coccidiosis. Exp. Parasitol., 41: 480-490.
- Koudela, B., Vítovic, J. & Štěrba, J. 1990: Concurrent infection of enterocytes with *Eimeria scabra* and other enteropathogens in swine. Vet. Parasitol, 35, 71-77.
- Le Jan, 1996. Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. Vet. Res., 27:403-417.
- Levine, N.D. 1985: Veterinary Protozoology. Iowa State University Press. Pp. 130-149.
- Levine, N.D. & Ivens, V. 1967: The sporulated oocysts of *Eimeria illinoisensis* n.sp. and of other species of *Eimeria* of the ox. J. Protozool., 14, 351-360.
- Lindsay, D.S., Ernst, J.V., Benz, G.W. & Courtney, W.L. 1988: The sexual stages of *Eimeria wyomingensis* Huizinga and Winger, 1942, in experimentally infected calves. J. Parasitol., 74, 833-837.
- Lindsay, D.S., Dubey, J.P. & Fayer, R.L. 1990: Extraintestinal stages of *Eimeria bovis* in calves and attempts to induce relapse of clinical disease. Vet. Parasitol, 36, 1-9.
- Long, P.L. 1973 Pathology and pathogenicity of coccidial infections. In: Hammond, D.M. & Long, P.L.: The Coccidia. *Eimeria Isospora Toxoplasma* and related genera. University Park Press, Baltimore, USA, p. 254-294.
- Long, P.L. (Ed.) 1990. Chapter 14 by Wakelin, D. & Rose, M.E. in: Coccidiosis of man and domestic animals. First edition, CRC Press, Inc., Florida, USA, 281-306.
- MacPherson, J.M. & Gajadhar, A.A. 1993: Differentiation of seven *Eimeria* species by random amplified polymorphic DNA. Vet. Parasitol, 45, 257-266.
- Marquardt, W.C. 1961. Subclinical infections with coccidia in cattle and their transmission to susceptible calves. J. Parasitol., 48: 270-275.

- Marquardt, W.C. 1973. Host and site specificity in the coccidia. In: Hammond, D.M. & Long, P.L.: *The Coccidia. Eimeria Isospora Toxoplasma* and related genera. University Park Press, Baltimore, USA, p. 24-43.
- Marquardt, W.C., Senger, C.M. & Seghetti, L. 1960: The effect of physical and chemical agents on the oocysts of *Eimeria zuernii* (Protozoa, coccidia). *J. Protozool.*, 7, 186-189.
- Matte, J.J., Girard, C.L., Seoane, J.R. & Brisson, G.J. 1982. Absorption of Colostral Immunoglobulin G in the Newborn Dairy Calf. *J. Dairy Sci.*, 65: 1765-1770.
- Mielke, D., Rudnick, J. & Hiepe, T. 1993. Untersuchungen zur Immunprophylaxe bei der Kokzidiose des Rindes. *Mh. Vet.-Med.* 48: 425-429.
- Newby, T.J., Stokes, C.R. & Bourne, F.J. 1982. Immunological activities of milk. *Vet. Immun. Immunopathol.* 3: 67-94.
- Oda, K. & Nishida, Y. 1991: Prepatent and patent periods, and production and sporulation of oocysts of *Eimeria subspherica* isolated in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 53, 615-619.
- Oetjen, B.D. 1993: Management of coccidiosis in dairy calves and replacement heifers. *Comp.Cont. Edu. Pract.Vet.*, 15, 891-895.
- Oz, H.S., Stromberg, B & Bemrick, W.J. 1986: Enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibody response against *Eimeria bovis* and *Eimeria zurnii* in calves. *J. Parasitol.*, 72, 780-781.
- Parker, R.J. & Jones, G.W. 1990: Destruction of bovine coccidial oocysts in simulated cattle yards by dry tropical winter weather. *Vet. Parasitol.* 35, 269-272.
- Pavlásek, I., Čeleda, L., Urbanová, Z., Černý, J. & Rašková 1984: Coccidiosis in preruminating calves. The effect of management and short-term treatment on the spread of infection and reinfection. *Vet. Parasitol.*, 14, 7-12.
- Pearson, D.L., Hasche, M.R., Todd, A.C. & Hall, R.E. 1961: Clinical coccidiosis in Wisconsin cattle. *JAVMA*, 139, 1095-1098.
- Perino. L.J., Wittum, T.E. & Ross, G.S. 1995. Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. *Am. J. Vet. Res.*, 56: 1144-1148.
- Preston-Mapham, B.A & Sykes, A.H. 1970. Changes in body weight and intestinal absorption during infections with *Eimeria acervulina* in the chicken. *Parasitology* 61:417-424.
- Radostits, O.M. & Stockdale, P.H.G. 1980. A brief review of bovine coccidiosis in Western Canada. *Can. Vet. J.*, 21: 227-230.
- Roudabush, R.L. 1935: Merozoite infection in coccidiosis. *J. Parasitol.*, 21, 453-454.

- Roth, J.A., Jarvinen, J.A., Frank, D.E. & Fox, J.E. 1989. Alteration of neutrophil function associated with coccidiosis in cattle: Influence of decoquinate and dexamethasone. *Am.J.Vet.Res.* 50: 1250-1253.
- Schneider, D., Ayeni, A.O. & Dürr, U. 1972: Sammelreferat: Zur physikalischen Resistenz der Kokzidienoocysten. (Review: Physical resistance of coccidial oocysts): *Dtsch Tierärztl Wschr*, 79, 545-572; 626-633.
- Schnitzler, B.E., Thebo, P.L., Mattsson, J.G., Tomley, F.G. & Shirley, M.W. 1998: Development of a diagnostic PCR assay for the detection and discrimination of four pathogenic *Eimeria* species of chicken. *Avian Pathol.*, 27, 490-497.
- Schnitzler, B.E., Thebo, P.L., Tomley, F.M., Uggla, A. & Shirley, M.W. 1999: PCR identification of chicken *Eimeria*: a simplified read-out. *Avian Pathology*, 28, 89-93.
- Senger, C.M. 1959: Chemical inhibition of sporulation of *Eimeria bovis* oocysts. *Exp. Parasitol.*, 8, 244-248.
- Senger, C.M., Hammond, D.H., Thorne, J.L., Johnson, A.E. & Wells, G.M. 1959: Resistance of calves to reinfection with *Eimeria bovis*. *J. Protozool.*, 6, 51-58.
- Shirley, M.W. 1994: Coccidial parasites from the chicken: discrimination of different populations of *Eimeria tenella* by DNA hybridisation. *Res. Vet. Sci*, 57, 10-14.
- Shirley, M.W., Chapman, H.D., Kucera, J., Jeffers, T.K. & Bedrnik, P. 1989: Enzyme variation and pathogenicity of recent field isolates of *Eimeria tenella*. *Res. Vet. Sci*, 46, 79-83.
- Soekardono, S., Ernst, J.V. Benz, G.W. 1975: The prepatent and patent periods of *Eimeria alabamensis* and further description of the exogenous stages. *Vet Parasitol*, 1, 19-33.
- Sommer, C. 1998: Quantitative characterization, classification and reconstruction of oocyst shapes of *Eimeria* species from cattle. *Parasitology*, 116, 21-28.
- Stockdale, P.H.G. 1972: The pathogenesis of the lesions produced by *Eimeria zuernii* in calves. *Can J. Comp. Med.*, 41, 338-344.
- Stockdale, P.H.G. 1977. The pathogenesis of the lesions produced by *Eimeria zuernii* in calves. *Can. J. Comp. Med.*, 41: 338-344.
- Stockdale, P.H.G. & Niilo, L. 1976: Production of bovine coccidiosis with *Eimeria zuernii*. *Can Vet. J.*, 17, 35-37.
- Stockdale, P.H.G., Bainborough, A.R., Bailey, C.B. & Niilo, L. 1981. Some pathophysiological changes associated with infection of *Eimeria zuernii* in calves. *Can. J. Comp. Med.* 45: 34-37.
- Stockdale, P.H.G., Sheard, A. & Tiffin, G.B. 1982: Resistance to *Eimeria bovis* produced after chemotherapy of experimental infection in calves. *Vet Parasitol*, 9, 171-177.
- Svensson, C. 1993: Peripartur excretion of *Eimeria* oocysts. *Acta Vet. Scand*, 34, 77-81.

- Svensson, C. 1994: Bovine coccidiosis with special reference to *Eimeria alabamensis* infections in grazing calves, PhD-afhandling, Sveriges Landbrugsuniversitet, Skara, Sverige.
- Svensson, C. 1995: Survival of oocysts of *Eimeria alabamensis* on pastures under different climatic conditions in Sweden. Acta Vet. Scand., 36, 9-20.
- Svensson, C. 1997. The survival and transmission of oocysts of *Eimeria alabamensis* in hay. Vet. Parasitol. 69: 211-218.
- Svensson, C. 2000. Excretion of *Eimeria alabamensis* oocysts in grazing calves and young stock. J. Vet. Med. B, 47: 105-110.
- Svensson, C., Uggla, A. & Pehrson, B. 1994. *Eimeria alabamensis* infection as a cause of diarrhoea in calves at pasture. Vet Parasitol., 53: 33-43.
- Svensson, C., Hessel, A. & Höglund, J. 2000. Parasite control methods in organic and conventional dairy herds in Sweden. Livest. Prod. Sci., 66: 57-69.
- Uchida, T., Hasbullah, Nakai, Y. & Ogimoto, K. 1995: Detection of serum antibody against bovine coccidiosis by using *Eimeria tenella* antigen. J Vet Med Sci. 57:169-71.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W. 1996: Veterinary Parasitology (2. ed). Blackwell Science, UK. 307 pp.
- Wilson, I.D. & Morley, L.C. 1933: A study of bovine coccidiosis, II. JAVMA, 82, 826-850
- Woods, W.G., Richards, G, Whithear, K.G., Anderson, G.R., Jorgensen, W.K. & Gasser, R.B. 2000a: High-resolution electrophoretic procedures for the identification of five *Eimeria* species from chickens, and detection of population variation. Electrophoresis, 21, 3558-3563.
- Woods, W.G., Whithear, K.G., Richards, D.G., Anderson, G.R., Jorgensen, W.K. & Gasser, R.B. 2000b: Single-strand restriction fragment length polymorphism analysis of the second internal transcribed spacer (ribosomal DNA) for six species of *Eimeria* from chickens in Australia. Int. J. Parasitol., 30, 1019-2023.