

# DJF rapport



Husdyrbrug nr. 56 ♦ December 2003



## Coccidiose hos kvæg:

En oversigt over coccidiearter, patogenese, epidemiologi og forebyggelse specielt i økologiske besætninger

## Coccidiosis in cattle:

An outline of coccidium species, pathogenesis, epidemiology and prevention especially in organic herds

Charlotte Maddox-Hyttel, Danmarks Veterinærinstitut  
Ellen-Margrethe Vestergaard, Danmarks JordbrugsForskning

**Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri**  
Danmarks JordbrugsForskning

## Coccidiose hos kvæg:

En oversigt over coccidiearter, patogenese, epidemiologi og forebyggelse specielt i økologiske besætninger

## Coccidiosis in cattle:

An outline of coccidium species, pathogenesis, epidemiology and prevention especially in organic herds

Charlotte Maddox-Hyttel

Seniorforsker,

Sektion for Parasitologi,

Danmarks Veterinærinstitut, Bülowsvej 27, DK-1790 København V

Ellen-Margrethe Vestergaard

Seniorforsker,

Afd. for Husdyrsundhed og Velfærd,

Danmarks JordbrugsForskning, Foulum, P.O. Boks 50, DK-8830 Tjele

DJF rapporter indeholder hovedsageligt forskningsresultater og forsøgsopgørelser rettet mod danske forhold. Endvidere kan rapporterne beskrive større samlede forskningsprojekter eller fungere som bilag til temamøder. DJF rapporter udkommer i serierne: Markbrug, Husdyrbrug og Havebrug.

Abonnenter opnår 25% rabat og abonnement kan tegnes ved henvendelse til:  
Danmarks JordbrugsForskning  
Postboks 50, 8830 Tjele  
Tlf. 8999 1010

Alle DJF's publikationer kan bestilles på nettet:  
[www.agrsci.dk](http://www.agrsci.dk)

Tryk: DigiSource Danmark A/S

ISSN 1397-9892



## Forord

Denne rapport er udfærdiget som en litteraturoversigt, med supplement af egne observationer, med det formål at danne en teoretisk baggrund for studier af coccidiose i danske økologiske malkekvægsbesætninger. Disse studier foregår i regi af et projekt støttet af forskningsprogrammet "Forskning i Økologisk Jordbrug - II". Projektet har titlen: "Improvement of animal health and welfare in organic dairy production with special focus on the calves" (HEW-DAICA) ved projektleder Mette Vaarst. Rapporten er udarbejdet i forbindelse med et samarbejde mellem forskere på Danmarks Jordbrugsforskning, Foulum (Ellen-Margrethe Vestergaard, Klaus Lønne Ingvarsen) og Danmarks Veterinærinstitut (Charlotte Maddox-Hyttel).



# Indholdsfortegnelse

<b>Sammendrag</b> .....	4
<b>Summary</b> .....	5
<b>1. Indledning</b> .....	6
<b>2. Coccidier og deres livscyklus</b> .....	7
<i>Coccidier - generelle betragtninger</i> .....	7
<i>Coccidier - livscyklus og biologi</i> .....	7
<i>Cocciernes livscyklus - artsrelaterede forhold</i> .....	11
<b>3. Diagnostik og prævalens af coccidioseinfektioner</b> .....	14
<i>Diagnostik</i> .....	14
Laboratoriemetoder .....	14
Artsdifferentiering .....	15
Tolkning af diagnostiske fund: art/antal.....	17
<i>Prævalens af coccidiose</i> .....	17
Egne studier af kalve i 25 økologiske besætninger .....	19
<b>4. Klinisk og subklinisk coccidiose</b> .....	22
<i>Kliniske sygdomstegn</i> .....	22
<i>Subklinisk tilstand</i> .....	22
<i>Patogenicitet af de forskellige coccidiearter</i> .....	23
<i>Patofysiologiske og patologiske forandringer</i> .....	24
<i>Reduceret appetit ved infektion</i> .....	25
<i>Sammenhæng mellem coccidiose og andre sygdomme</i> .....	26
<b>5. Kalvens modtagelighed over for coccidiose</b> .....	28
<i>Råmælksforsyning og immunitet</i> .....	28
<i>Ernæringsstatus</i> .....	28
<i>Immunitetsudvikling</i> .....	29
<b>6. Miljøets betydning for udvikling af coccidiose</b> .....	32
<i>Staldcoccidiose</i> .....	32
<i>Græsmarkscoccidiose</i> .....	34
<b>7. Forebyggelse af coccidiose</b> .....	35
<i>Managementfaktorer</i> .....	35
<i>Forebyggelse af græsmarkscoccidiose</i> .....	35
<i>Aktiv immunisering</i> .....	36
<b>8. Pasning af kalve med coccidiose</b> .....	38
<b>9. Konklusion</b> .....	39
<b>10. Referencer</b> .....	40

## 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 massive 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 og evt. død. 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 infektioner med indvoldsorm eller virus). 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 12 *Eimeria* species are found, 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 are usually ascribed to the presence of the species *Eimeria zuernii* and *E. bovis*. The susceptibility of the calf to 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. The best therapy is, however, prevention - with focus on stocking density and a high level of hygiene throughout, including ample amounts of dry bedding.



## 1. Indledning

Økologerne har indført regler for opstaldning m.v. for kalve med henblik på at øge kalvenes velfærd. Opgørelser viser dog, at dette ikke har forbedret kalvesundhed og dødelighed. Det er således beskrevet, at kalve fra nogle økologiske besætninger er utrivelige og i dårligt huld, når de sælges videre til opfedning (Priesholm, 1999 a). Derudover er kalvedødeligheden højere i økologiske end i konventionelt drevne besætninger især blandt kalve fra førstegangskælvere (Priesholm, 1999b). Én af årsagerne til denne utrivelighed blandt kalve kunne være problemer med coccidiose. Coccidiose er en smitsom enteritis (tarmbetændelse) hos unge kalve (især i alderen 1-6 mdr.), som har væsentlig indflydelse på kalvenes vækst og velfærd. 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 økologiske 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 i projektet primært blive fokuseret på staldcoccidiose hos gruppeopstaldede kalve. Dette er indledningsvis sket ved en kortlægning af coccidioseproblemetets omfang og art (herunder bestemmelse af involverede coccidiearter), samt forekomst af kendte risikofaktorer for coccidiose. Med basis i konklusionen af dette arbejde gennemføres detaljerede studier i 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 epitelceller 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).

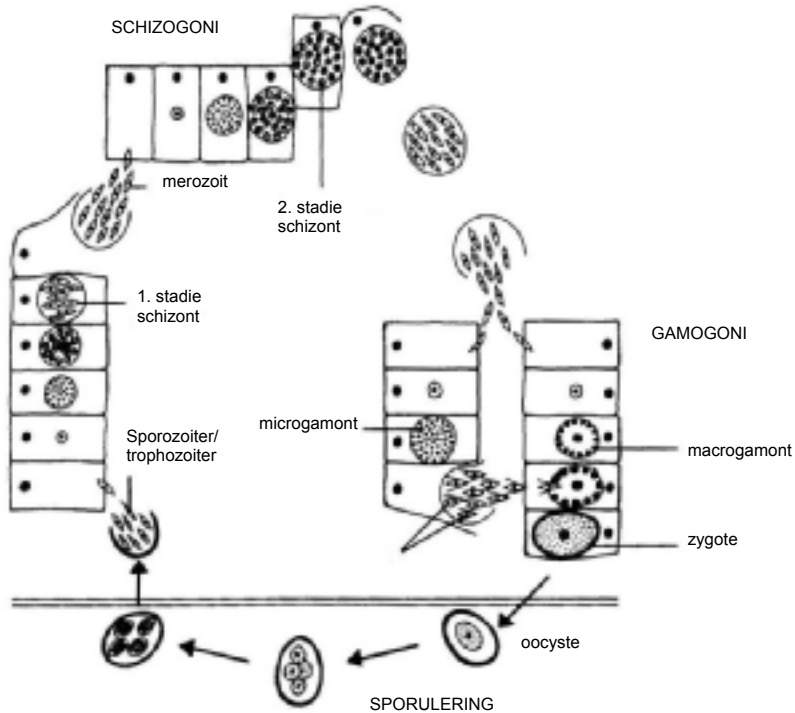
**Tabel 1. Klassifikation af coccidier af veterinær betydning.**

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

### *Coccidier - livscyklus og biologi*

*Eimeria*'s livscyklus er skitseret i Figur 1. 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 sporozoit den infektiøse form, der findes i sporulerede oocyster. Trophozoit (betegnelse umiddelbart efter første invasion af epitelceller) 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 gametocyter. Den hunlige gametocyt (makrogamont) forstørres, oplagrer næringsstoffer og inducerer hypertrofi af både cytoplasma og kerne af

værtscellen. Den hanlige gametocyt (mikrogamont) gennemgår gentagne kernerdelinger og bliver multinukleær. Hver kerne bliver endelig inkorporeret i en biflagellat mikrogamet.

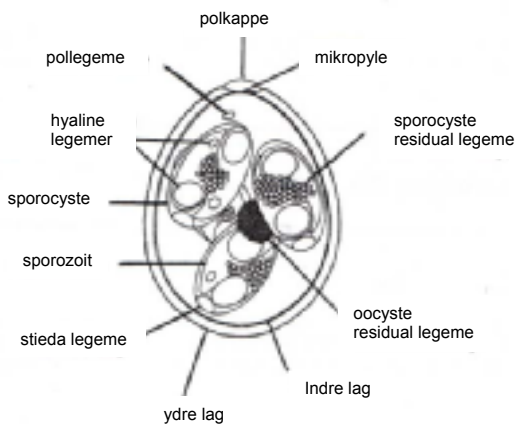


**Figur 1. Livscyklus af *Eimeria* (efter Urquhart et al., 1996).**

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 hyaligranula 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 sporozoiter, hvorved den infektiøse sporulerede oocyste er udviklet, og livscyklus fuldbragt (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 residuallegemerne kan forsvinde ved længere tids opbevaring (Marquardt, 1973).

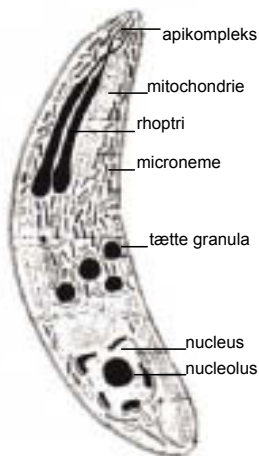
De intracellulære stadier af *Eimeria* er lokaliseret i værtscellen inde i en såkaldt parasitoforvakuole omgivet af en membran. *Eimeria* hører som nævnt til Apicomplexa (se Tabel 1).

Denne gruppe af protozoer har i apex af zoiten et karakteristisk organel i forenden (apikomplekset), en cylinderformet struktur forstærket med ring- og spiralfibriller. Organellet bruges ikke i forbindelse med næringsoptagelsen, men derimod ved parasittens penetration ind i værtscellen. Dette sker i samvirke med tre forskellige sekretoriske organeller, nemlig mikronemer, rhoptrier og tætte granula (Figur 3). Mikronemer 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 vakuolemembranen (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). Parasitten har således adgang til cellens indre uden at aktivere de sædvanlige beskyttende fagocytiske processer.



**Figur 2. Struktur af en sporule-ret *Eimeria* oocyste (Efter Eckert et al., 1995).**

Det antages generelt, at *Eimeria* har en selvbegrænsende livscyklus; men det er foreslået, at coccidierne kunne persistere i værten i en inaktiv form, såkaldte hypnozoiter (Levine, 1985). For nogle coccidiearter hos får synes der at foregå en synkron deling af coccidier (me-rozoiter) og tarm-epitelceller, således at der faktisk er en betydelig forøgelse i multiplikations-raten i forhold til, hvis tarmcellerne ikke delte sig i forbindelse med infektion (Gregory et al., 987).



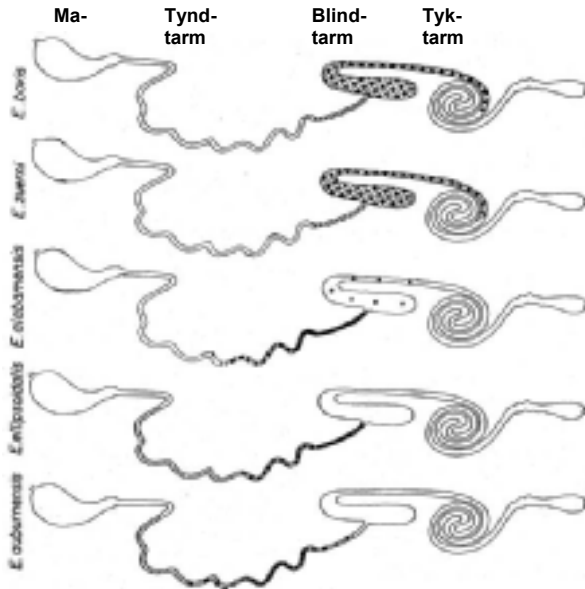
**Figur 3. En zoit af *Eimeria* med angivelse af nogle vigtige organeller (Efter Levine, 1985).**

*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 over for ydre påvirkninger og kan under gunstige forhold overleve uden for 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 coccidieoocyster, 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 solllys 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).

### *Coccidiernes 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 epitelceller. Såvel de to schizogonifaser som gamogonien foregår sædvanligvis i epitelcellerne i den bageste del af tyndtarmen (Figur 4). Ved højgradige infektioner er gametocytter dog også fundet i det overfladiske epitel af caecum og den forreste del af colon. Trophozoiter og schizonte er tillige observeret i de mesenterielle lymfeknuder (jf. Svensson, 1994). I førstegenerations-schizonte kan findes 8-16 merozoiter, medens andengenerationsschizonte indeholder 18-26 merozoiter. Adskillige schizonte 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 (tiden fra optagelse af smitten til start af oocysteudskillelse) er 6-13 dage (gns. 8) og patensperioden (varigheden af oocysteudskillelse) 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 oocyster per gram gødning (OPG) af *E. alabamensis* hos kalve bundet ud på en kontamineret græsmark.

*E. auburnensis* gamonter er lokaliseret subepiteltialt i lamina propria i den bageste del af jejunum (Figur 4). Mikrogamonterne 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 ekscyteres i tyndtarmen, hvor sporozoiterne trænger ind i villi af den bageste halvdel af tyndtarmen (Figur 4), for at invadere endotelceller i chyluskarrene. Schizonterne vokser sig særdeles store ("giant schizonts" op til ca. 400  $\mu\text{m}$ ) og er således makroskopisk synlige (f.eks. Long, 1973). De indeholder op til 100.000 merozoiter. Sådanne første-generationsschizonter 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 ekstraintestinale *E. bovis* stadier (Lindsay et al., 1990). Ved afslutning af første schizogoni, invaderer merozoiterne epitelcellerne i tyktarmskrypterne. Ved afslutning af anden og sidste schizogoni invaderer merozoiter igen tarmkrypternes epitelceller i såvel caecum som colon, hvor gametocyterne vil være at finde (Marquardt, 1973). Præpatensperioden er 17-22 dage og patensperioden er 5-12 dage, varierende bl.a. med 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 maksimalt knap 70.000 oocyster pr. gram gødning (OPG). Denne relativt lave oocysteudskillelse 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 (Figur 4). De kønnede 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 oocysteudskillelse 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 coccidieinfektioner

#### Diagnostik

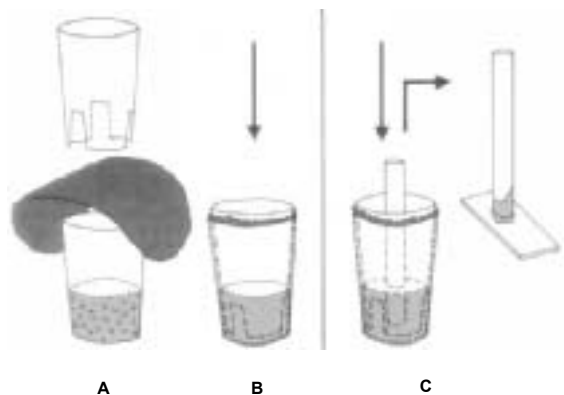
##### Laboratoriemetoder

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

En kvalitativ metode (Henriksen & Aagaard, 1976; Figur 5) er baseret på, at der i det floterede materiale påvises eventuelle coccidieocyster 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 oocysteudskillelse i fæces.**

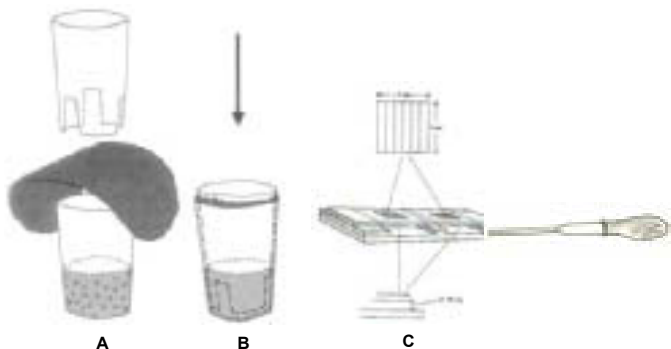
- A:** Filtrering af fæces-flotationsvæskeblanding.
- B:** Blandingen er filtreret.
- C:** Reagensglas dyppes helt ned til bunden af blandingen og en dråbe overføres til objektglas.



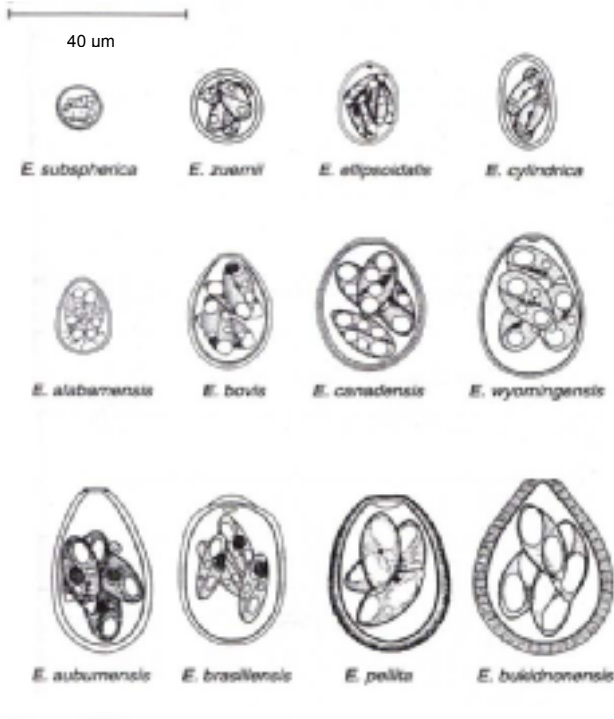
En kvantitativ metode (Henriksen & Korsholm, 1984; Figur 6) er baseret på, at fæces, enten direkte eller efter opkoncentrering, blandes med flotationsmedie i et bestemt forhold, hvorefter en kendt mængde af blandingen overføres til et tællekammer (McMaster tællekammer). Efter kort tids henstand, der 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 (oocyster pr. g fæces) vha. den relevante omregningsfaktor.

**Figur 6. McMaster-metode til kvantitativ vurdering af oocysteudskillelsen i fæces.**

- A:** Fæces blandes med flotationsvæske 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 iltningsmiddel, 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 sporocysteform, residuallegemer m.v.



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

### Artsdifferentiering

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 coccidieocyster efter flotation (Sommer, 1998). Metoden baserer sig på, at et rigeligt referencegrundlag 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	Mikropyle	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 Evt. nopret væg	Gulbrun	-	+	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/pæreformet; 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 el. bleggul	-	+	2-3 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 m. tyk væg nopret	Brun	-	+	10-12 d
<i>E. subspherica</i>	-	9-14 x 8-13 (11 x 10,4)	sfærisk	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: Sporuleringstid (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 & Ga-

jadhar, 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 serumantistoffer mod *E. bovis* og *E. zuernii* er udviklet en ELISA teknik (Oz et al., 1986; Uchida et al., 1995), som imidlertid ikke har bred anvendelse og ikke er kommercielt tilgængelig.

#### Tolkning af diagnostiske 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 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 sandsynlig selv ved lavere OPG-værdier, f.eks. 5.000 OPG af *E. bovis*. Der er kun ringe sammenhæng mellem OPG 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 (få dage), 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).

For at stille en besætningsdiagnose er det nødvendigt pga. oocysteudskillelsens kortvarige forløb at undersøge fæcesprøver fra en betydelig andel af kalvene med symptomer, f.eks. 5-10 kalve pr. flok. Såfremt der for flere af kalvene kan påvises høje OPG'er af de patogene arter, så kan diagnosen coccidiose med nogen sandsynlighed stilles, såfremt symptomerne passer dermed. Det er dog væsentligt at undersøge kalvene også m.h.p. andre patogener (f.eks. *Salmonella*, coronavirus, m.fl.) for at kunne udelukke disse som årsag til aktuelle symptomer.

#### *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 af Fitzgerald i 1980 blevet anslået, at coccidieinfektioner hos kvæg og bøfler på verdensplan årligt kostede ca. 700 millioner USD; 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 kliniske tegn på coccidiose (f.eks. Cornelissen et al., 1995). Cornelissen et al. (1995) undersøgte 38 malkekvægsbesætninger for forekomst af *Eimeria* i 3 aldersgrupper (kalve, ungdyr 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 forekom coccidieinfektioner 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 fæceskontamineret staldbund (Gräfnér 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 højhæk hhv. dårlig kvalitet af underlaget (Autzen et al., 2002). I Belgien blev der for perioden 1960-1974 ved rutinemæssige undersøgelser af ca. 80.000 fæcesprøver fra kvæg fundet en forekomst af *Eimeria* i op til 15% af prøverne (Cotteleer & Famerée, 1978). Baseret på fund i fæcesprøver fra kvæg indsendt til parasitologisk undersøgelse på Danmarks Veterinærinstitut (tidl. Statens Veterinære Serumlaboratorium) i perioden 1994-2000 har forekomsten af *Eimeria*-positive prøver fluktueret mellem 33 til 67% (se Tabel 4).

**Tabel 4. Indsendelser til Danmarks Veterinærinstitut (tidl. Statens Veterinære Serumlaboratorium) 1994-2000 for undersøgelse 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 25 økologiske besætninger

I perioden maj-juni 2001 blev udtaget gødningsprøver fra kalve i fællesboks (indsat i boksen tidligst 3 uger før prøveudtagning) med henblik på bestemmelse af oocystestilstanden. 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 boksens beskaffenhed og kalvenes umiddelbare sundhedstilstand.

Som det fremgår af Tabel 5, fandtes oocyster i 88% af prøverne. Kun ganske få kalve udskilte mere end 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 pr. 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	-	-
<b>Total (258)</b>	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, der varierede mellem 71 og 9978 (gennemsnitligt OPG=1242;  $\sigma_{n-1}$ =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
<b>258</b>	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, og oocysteudskillelsen var høj.

**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, trængninger og evt. død (Ernst & Benz, 1986). De kliniske symptomer tillægges traditionelt tilstedeværelsen af *E. zuernii* og *E. bovis*. Inficerede dyr kan have 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, evt. indeholdende mucus og blod. Blodet kan optræde som tjæreagtig mørkfarvning af fæces eller som strøg eller klumper af blodtilblanding i fæces. Haleområdet 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 ophørt ædelyst forekomme. Varigheden af de kliniske sygdomstegn er normalt 5-12 dage afhængigt af infektionsdosis, men nogle kalve kan gennemgå en lang rekonvalescensperiode, hvor foderoptagelsen og tilvæksten er subnormal. I mildere tilfælde af sygdommen ses kun diarré og reduceret væksthastighed, men ikke nødvendigvis blod i fæces. Mortalitetsraten er normalt lav med undtagelse af tilfælde med massiv vintercoccidiose (se nedenfor), eller hvor 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 (morbidity) sædvanligvis er lav (10-15%). Subkliniske coccidieinfektioner kan optræde med reduceret væksthastighed og evt. kronisk anæmi som de eneste karakteristika. I forbindelse med danske undersøgelser af kalve på græs med subkliniske coccidieinfektioner blev der f.eks. fundet en signifikant reduktion i kg daglig tilvækst blandt kalve, der udskilte mere end 5.000 OPG på et tidspunkt i løbet af sæsonen i forhold til dem, der udskilte mindre end 5.000 OPG i hele forløbet (Nielsen et al., 2003). Også den fækale tørstof-procent var lavere i kalve med de højere OPG-niveauer, men egentlig klinisk coccidiose med diarré var der ikke tale om. Der er ikke lavet mange observationer af tab i forbindelse med subkliniske infektioner. For kliniske tilfælde af eksperimentelle infektionsforløb er det vist, at efter podning med 50.000 oocyster af *E. bovis*, så genvandt alvorligt angrebne kalve ikke de væggtab, der opstod under den kliniske fase af sygdommen, selv efter 10 måneders observationsperiode (Fitzgerald & Mansfield, 1972). Tilsvarende fandt Dauschies et al. (1986), at infektioner med 50-100.000 oocyster af *E. bovis* kunne føre til reduceret foderoptagelse og væggtab. 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 foderoptagelse samt endogent tab af organiske forbindelser via parasitinducerede læsioner i tarmslimhinden snarere end ændringer i tarm-absorption (Dauguschies et al., 1998).

#### *Patogenicitet af de forskellige coccidiearter*

Forskellige coccidiearter kan give anledning til varierende kliniske billeder, og derfor anføres i det følgende specifikke karakteristika for de enkelte coccidiearter.

*E. alabamensis* kan give anledning til profus vandig diarré 3-7 dage efter eksperimentel infektion med maksimal oocysteskillelse (flere millioner OPG) ca. 8-10 dage p.i. (post inoculation). 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 andengenerationsschizonter samt gamonter i kraft af deres subepiteliale beliggenhed kan føre til betydelige epitelskader (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 voldsom, evt. blodtilblandet diarré (Cotteleer & Farmerée, 1978). Reaktionen på makroschizonterne i chylusendotelet er relativt ringe, og omfatter hypertrofi af cellekerne og celleplasma af de inficerede celler - senere tillige infiltration med leukocytter. Reaktionen på de efterfølgende stadier er derimod stærkere. Således er næsten alle epitelceller ved basis af tarmkirtlerne besat af schizonte og gamonter ca. 16-18 dage efter infektion med *E. bovis* oocyster. Kirtlerne er udvidede med celleinfiltrationer subepiteliaalt og udvidede lymfe- og blodkar. I de følgende dage afstødes epitellaget 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 oocysteskillelsen (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 oocysteskillelse for *E. wyomingensis*. Dette strider mod fund af Courtney et al. (1976), der fandt diarré associeret med oocysteskillelse i de relativt få kalve (5 stk.), der faktisk var inficeret.

*E. zuernii* er langt den mest patogene af kvægets *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)). Oocysteskillelsen (maksimum op til ca.  $10^6$  OPG) vil for *E. zuernii* typisk falde sammen med forekomst af diarré ca. 19-23 dage efter infektion (Stockdale & Niilo, 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. Selvom akut bovin coccidiose således ændrer elektrolyt- og vandmetabolismen, synes den overordnede balance at blive opretholdt via fysiologisk adaptation (Dauguschies et al., 1997). Hos kyllinger med klinisk coccidiose er det estimeret, at op til 70% af vægttabet skyldes anoreksi, mens ca. 30% skyldes reduceret tarmabsorption af næringsstoffer (Preston-Mapham & Sykes, 1970). Ved undersøgelse af kalve inficeret med *E. bovis* kunne Dauguschies et al. (1998) bekræfte anoreksi som hovedårsagen til vægtdepression, men de fandt, at det endogene tab af organiske forbindelser via parasitinducerede mukosale læsioner var væsentligere end ændringer i fordøjelse og absorption af næringsstoffer. Selvom fordøjelse og absorption således ikke påvirkes direkte, så kan fejlernæring blive et resultat af udvikling af sygdommen, dels pga. den nedsatte appetit og dels pga. en nedsat evne til at absorbere væske. Efter eksperimentel 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 (Radostits & Stockdale, 1980). Hos kalve, der dels var eksperimentelt inficerede med *E. alabamensis* dels udbundet på en permanent græsmark, er observeret faldende aktivitet af serum 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. De påviste signifikante ændringer var imidlertid uspecifikke indikatorer, 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 inden for det fysiologiske niveau. I sådanne situationer kan et direkte tab af erythrocytter og plasmaproteiner via ødelagte kapillærer i tarmslimhinden forårsage anæmi og hypoproteinæmi (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 villusepitelceller primært i forbindelse med andengenerationsschizogoni 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 epitelceller (Friend & Stockdale, 1980). Patologiske forandringer forårsaget af *E. alabamensis* er karakteriseret ved kataralsk inflammation i tyndtarmen, 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 blind- og tyktarm, har omfattende skader på epitelet hér stor indvirkning på opretholdelse af organismens homeostatiske tilstand (Long, 1973).

### *Reduceret appetit ved infektion*

For at forstå, hvorfor syge kalve har nedsat ædelyst, er der gennem den seneste årrække lavet adskillige eksperimentelle forsøgsoptstillinger (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 oversigtsartikler af Johnson (1998) samt Ingvarsen & Andersen (2000). Der er således overbevisende data, som viser, at både infektiøse patogener og non-infektiøse komponenter fra patogener reducerer foderoptagelse ved at stimulere leukocytter (f.eks. monocytter, makrofager og mikroglia) til produktion af cytokiner. Hvis makrofagerne ikke er i stand til at producere cytokiner såsom interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6) og tumor nekrosis faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 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. I forsøg med mus er der vist en positiv sammenhæng mellem overlevelse og anoreksi og væggtab, 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 makrofagerderiverede cytokiner er vigtige for LPS-induceret sekretion af leptin, og at mindst ét af cytokinerne, TNF- $\alpha$ , 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; Ingvarsen & Boisclair, 2001).

### *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.

Eksperimentelle infektioner har vist, at kalve inficeret med coccidier og tarmnematoder af slægterne *Cooperia*, *Strongyloides*, og *Trichostrongylus* udvikler kraftigere coccidiose (vurderet ved antal coccidier 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., 1959a,b; 1960a,b; Benz & Ernst, 1976). I lam viste eksperimentelle infektioner med først coccidier og 2 uger senere tarmnematoden *Nematodirus battus*, at coccidierne forstærkede 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 over for nematodeinfektioner 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 immunosupprimerende effekt af infektionen. Dette er set i praksis ved, at kalve, der var behandlet med coccidiostatika, havde en lave-

re 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 over for coccidiose

### *Råmælksforsyning og immunitet*

Den nyfødte kalv gennemløber i de første uger efter fødslen en modningsproces, der medfører betydelige ændringer i såvel de cardio-respiratoriske, metaboliske samt endokrine systemer. Dertil er kolostrumoptagelsen 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 (IGF-I), som er til stede i høje mængder i råmælk, påvirke udviklingen og funktionen af fordøjelseskanalen hos den nyfødte kalv (Blum & Hammon, 2000). Kolostrum bør indtages/tildeles så tidligt som muligt efter fødslen for at sikre den mest optimale absorption af både immunglobuliner, fedtsyrer og vitaminer, idet der er vist en tidsmæssig effekt af både tildelingstid og -mængde på mængdeforholdet i plasma af de essentielle aminosyrer og af glutamin/glutamat. Desuden er vist betydelige effekter af råmælk sammenlignet med mælkeerstatninger på koncentrationen af hormoner (især insulin, glucagon, IGF-I og cortisol) i plasma afhængig af tid og mængde af tildelt kolostrum (Blum & Hammon, 2000). Det er ligeledes vist, at den totale absorption af IgG til plasma faldt 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 med start henholdsvis 12, 24, 36 og 48 timer efter fødslen, hvilket indikerede et lineært fald i IgG absorptionen over tid (Matte et al., 1982).

Råmælakens 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 (Le Jan, 1996). 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 IgG<sub>1</sub>, mens der kun er små mængder IgG<sub>2</sub>, IgA og IgM til stede i mælken hos kvæg i modsætning til hos f.eks. menneske, svin, hest og hund (Newby et al., 1982).

### *Ernæringsstatus*

Den mest afgørende managementfaktor til sikring af en effektiv kolostrumbeskyttelse af den nyfødte kalv er dog kolostrummængden. Det blev i tre amerikanske Holstein malkekvægsbesætninger (A, B og C) vist, at serumkoncentrationen af IgG<sub>1</sub> var mindre end 10 mg/ml 48 ti-

mer efter fødslen hos 61,4% af alle kalve (serum immunglobulin målt på 165 kalve fra besætning C), der pattede koen som eneste råmælkskilde. Tilsvarende havde kun 19,3% af kalve (serum immunglobulin målt på 83 kalve fra besætning B), der pattede fra en pattespand et IgG<sub>1</sub>-niveau mindre end 10 mg/ml, når kalvene blev tildelt 1,9 l råmælk umiddelbart efter fødslen og fik supplerende råmælk med 12 timers intervaller i de første 48 timer herefter. Det mest konstante niveau af IgG<sub>1</sub> blev opnået i den tredje besætning, hvor 10,8% af kalvene (serum immunglobulin målt på 334 kalve fra besætning A), der var sondefodrede, havde et tilsvarende lavt serum IgG<sub>1</sub>-niveau, når de fik tildelt ca. 3 l råmælk med mindst 100 g IgG<sub>1</sub> som totalindhold i det optagne volumen mælk (Besser et al., 1991). Fra den samme undersøgelse viste resultater fra logistisk regression, at kalve, der havde fået tildelt nedfrosset kolostrum eller havde fået kolostrum fra køer med en lang goldperiode, havde en øget risiko for en ”fejl” i overførsel af immunglobulin. Risikoen for svigt i den passive immunglobulin overførsel steg fra 1% til 4,2%, når råmælk fra køer med 60-dages goldperiode havde været nedfrosset før brug, ligesom risikoen blev forøget fra 1% til 1,7% , når goldperioden steg fra 60 dage til 90 dage. Forfatterne konkluderede, at fodring af alle kalve med 3-4 l frisk råmælk fra første ud-malkning sikrede kalvene passiv beskyttelse (Besser et al., 1991), og en sådan mængde er langt større end den mængde, kalven optager ved at patte koen naturligt. Mastitis hos koen er vist også at være en risikofaktor for manglende passiv råmælksbeskyttelse (Perino et al., 1995).

### *Immunitetsudvikling*

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, der oftest vil have været eksponeret tidligere. Udelukkende aldersbetinget resistens er ikke beskrevet. Typisk har coccidierne en stor opformeringskapacitet, og de er under størstedelen af infektionen placeret intracellulært, hvorved kontakten med værtens forsvarsmekanismer minimeres. Sporozoiterne frigives i tarmlumen, hvorefter de penetrerer mukuslaget, som dækker mukosa og invaderer epitelcellerne. Antigener er til stede på sporozoitoverfladen, mod hvilken værtsreaktionen rettes. Udviklingen fra sporozoit til schizont foregår intracellulært og med antigenshift. Værten har således ikke mulighed for at reagere på det nye antigen, med mindre dette bliver præsenteret på værtscellens overflade. 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. Gametocyterne 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 (IgG<sub>1</sub>) mod *E. bovis* førstegenerationsmerozoitter 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 infektion ved 15-ugers alderen (Fiege et al., 1992). På gårdniveau er coccidieinfektioner hos kvæg undersøgt i to 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*. 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 udgangsniveauet inden for 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 førstegenerationsschizonterne udgjorde et stærkt antigenstimulus, som især involverede CD4<sup>+</sup> Th1-cellerne i det primære *E. bovis* infektionsforløb, mens cytotoxiske CD8<sup>+</sup> 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 inden for de første leveuger, er det ligeledes vist, at både CD4<sup>+</sup> og CD8<sup>+</sup> T-celler spiller en vigtig rolle i udvikling af immunresponsen efter primære og sekundære infektioner med denne parasit hos kalve (Abrahamsen, 1998). Et celledieret immunsvaret 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). Responset starter med genkendelse af de parasitderiverede antigener i mukosa, Peyer pletterne og i de drænerende lymfeknuder. Recirkulering af lymfocytterne bringer B- og T-celler tilbage til mukosa. B-cellerne danner immunoglobulin 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 intraepitelliale lymfocytter til dannelse af uspecifikke og specifikke inflammationsreaktioner såsom mastocytose, bægercel-

lehyperplasi, villusatrofi, krypthyperplasi, plasmacelle 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. Eksperimentelt er det vist, at subklinisk inficerede fedekalve på 10-12 mdr. udviklede klinisk coccidiose og massiv oocysteudskillelse efter immunsupprimerende behandling med dexamethason (Roth et al., 1989).

Coccidiose er en typisk multifaktoriel lidelse, idet et sygdomsudbrud vil være afhængigt af smittepresset i omgivelserne, samt hvorvidt dyrene er særligt modtagelige. Dyrene kan f.eks. have supprimeret immunsvare pga. generaliseret infektion eller anden tarminfektion, eller være under indvirkning af forskellige stressfaktorer såsom høj belægningsgrad, sammenblanding, pludseligt foderskift, træk, kulde og regn el.lign. Under sådanne forhold kan akut coccidiose optræde hos kalve i alle aldre.

## 6. Miljøets betydning for udvikling af coccidiose

### *Staldcoccidiose*

Det intensive landbrug med opstaldning af mange dyr på begrænset plads 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. Kontaminering af nærmiljøet opbygges gradvist ved sammenbringning af kalve i fællesbokse, og ved kontinuerlig indtagelse af oocyster med efterfølgende reinfektion til følge. Betydningen af opstaldning i fællesbokse frem for i enkeltbokse er illustreret ved et forsøg af Pavlásek et al. (1984). Ud af 46 kalve blev 30 placeret i fællesboks, medens 16 blev placeret i enkeltboks. Samtlige kalve i fællesboksen udskilte coccidieoocyster 3 uger efter sammenbringning, hvorimod kun 20% af enkeltbokskalvene udskilte oocyster. Disse kalve blev derefter lukket sammen i en fællesboks, og 3 uger senere var også 100% af disse kalve oocysteudskillere. Tilsvarende undersøgelse er foretaget af Hiepe et al (1978), hvor kalve i individuelle bokse kun lavgradigt og lavprævalent (10%) udskilte oocyster, mens de allerede 10 dage efter flytning udskilte betydeligt højere OPG-niveauer, og 4-6 uger efter sammenbringning var 100% af kalvene inficeret og udskilte gennemsnitligt 126.000 OPG.

Coccidieinfektion opnås ved indtagelse af foder (eller strøelse) og vand kontamineret med fæces fra klinisk syge dyr eller fra "carrier" dyr, eller ved at kalvene slikker på pelsen, hvis denne er tilsmudset med gødning. 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). For tæt opstaldning er endvidere vist at give socialt stress, som kan reducere foderoptagelse og foderudnyttelse (Ingvarsen & Andersen, 1993), og som formodentlig også kan bidrage til øget modtagelighed for coccidiose. Den optimale gruppestørrelse er vist at være 4-6 kalve pr. boks for at minimere det sociale stressniveau fra gruppen (Oetjen, 1993). De danske anbefalinger om arealstørrelse pr. kalv i fællesbokse kan ses nedenfor i Tabel 8. Der findes ingen anbefalinger vedrørende gruppestørrelse.

**Table 8. Recommended minimum requirements for space for calves in shared stalls of different types (after Anonym, 2001).**

<b>Kalvevægt (kg)</b>		<b>&lt; 60</b>	<b>60</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>200</b>	<b>300</b>	<b>400</b>
<b>Bokstype</b>								
Fællesboks med strøelse / dybstrøelse	Boksareal	1,5	1,8	2,2	2,6	3,2	3,8	4,4
	Min. m <sup>2</sup> /dyr							
Fællesboks med kort, u-strøet ædeplads	Boksareal	1,7	1,9	2,3	2,7	3,4	4,2	4,8
	Strøet areal	1,4	1,6	1,9	2,2	2,7	3,3	3,8
Fællesboks med lang, u-strøet ædeplads	Boksareal	1,7	1,9	2,4	2,9	3,7	4,4	5,2
	Strøet areal	1,2	1,4	1,7	2,0	2,5	3,0	3,5

Staldklimaet (herunder temperatur og luftfugtighed) har væsentlig indflydelse på coccidiosisens sporuleringshastighed, idet staldtemperaturer på 17-18°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 fandt man, at kalvene kun udskilte få oocyster, og der forekom kun enkelte eller ingen kliniske udbrud (Gräfner et al., 1978). Coccidiosis optræder bl.a., 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. En høj relativ luftfugtighed (>80%) øger ligeledes antallet af infektive oocyster i miljøet, og der er f.eks. observeret tre til fire gange højere oocysteskillelse samt 33-66% flere kliniske sygdomstilfælde i besætninger med fejl i ventilationsystemet end i korrekt ventilerede stalde (Gräfner et al., 1985). Coccidiosis kan også forekomme i svære tilfælde selv under tørre betingelser, hvilket tyder på, at andet end oocystekontamination er af betydning ved udløsning af klinisk sygdom.

Gulvets udformning påvirker også oocysteforekomsten, idet kalve i dybstrøelse antagelig har højere oocysteskillelse end kalve på spalter. Placering af fodertrug, høhæk og vandforsyning over gulvhøjde, så fækal forurening undgås, minimerer kalvens optagelse af infektive oocyster. Manglende hygiejnetiltag, herunder dårlig rengøring og desinfektion af bokse (Autzen et al., 2002) samt manglende udtømning og rengøring af foder- og mælkespande kan være årsag til høj oocysteskillelse og hyppige udbrud af coccidiosis (Gräfner et al., 1985). Sammenfattende kan konkluderes, at coccidiosisens mulighed for at akkumuleres som infektive stadier i modtagelige individers nærmiljø (smittepresset) er påvirket af adskillige faktorer, som bør kunne reguleres gennem veltilrettelagt produktionsstyring og høj hygiejnstandard, hvorved de kliniske udbrud af coccidiosis tilsyneladende undgås (Cornelissen et al., 1995).

### *Græsmarkscoccidiose*

Græsmarkscoccidiose forekommer dels som såkaldt "udbindingscoccidiose", dels som coccidiose-udbrud senere i græsningssæsonen. Ved udbindingscoccidiose optager førstegangsgræssende kalve infektiøse 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). I forbindelse med udbindingscoccidiose optræder diarré hos kalvene ca. 4-7 dage efter udbindingen, og oocysteudskillelsen toppe sædvanligvis på 8.-10. græsningsdag. Idet den væsentligste smittekilde er overvintrede oocyster, er brug af vedvarende græsgange stærkt relateret til udbrud af denne coccidioseform (Svensson et al., 1994). En effektiv forebyggelse omfatter især foldskifte mellem græsningssæsonerne, således at førstegangsgræssere altid indsættes på "rene" arealer, mens andetårs 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 høg fra kontaminerede marker, da overlevelse i høg 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. Dette er også observeret under danske forhold, hvor otte forskellige *Eimeria* arter blev identificeret i hver af to besætninger under observation med oocysteudskillelse 3-4 uger efter udbinding fra 60-70% hhv. 75-100% af dyrene (Nielsen et al., 2003). Tilfælde af klinisk coccidiose sidst på græsningssæsonen opstår typisk 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 græsningssæson har med succes været benyttet til at "rense" inficerede arealer, fordi reinfektion med *E. alabamensis* er af mindre klinisk betydning for ungdyrene, og oocysteudskillelsen ved reinfektion er lavere end ved primærinfektionen som kalv (Svensson, 2000).

## 7. Forebyggelse af coccidiose

### *Managementfaktorer*

Total udryddelse af coccidier er ikke muligt pga. parasittens udbredte forekomst og resistens i miljøet (e.g. Bejsovec, 1991; Cornelissen et al., 1995; Chibunda et al., 1997; Fayer et al., 2000). Derfor er forebyggende tiltag, som forhindrer opbygning af smittepresset i nærmiljøet væsentlige. Ligeledes skal tiltag, der styrker kalvens robusthed og sundhedsstatus generelt være i fokus. Det er således essentielt, at kalvene allerede fra fødslen sikres optimal råmælks-tildeling 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 det at tildele 3-4 liter kolostrum enten i sutteflaske eller med sonde hurtigst muligt efter fødslen, og i hvert fald inden for de første 12 timer.

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 ikke-inficerede græsmarker) fra første leveuge mindsker risikoen for diarré, letter fravænningen og stimulerer tidlig udvikling af drøvtyggerfunktionen. Før indsættelse af kalvene i fællesbokse skal boksene 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 stress, hvorved risikoen for nedsat immunkompetence øges med øget oocysteudskillelse til følge. Derfor gælder det om at minimere stressfaktorerne bedst muligt. For eksempel bør holdstørrelsen generelt ikke overstige 10 kalve jf. observation af Oetjen (1993) om, at den optimale gruppestørrelse er vist at være 4-6 kalve pr. boks for at minimere det sociale stressniveau. Ligeledes må belægningsgraden ikke overstige de anbefalede mindstemål (se Tabel 8). Stringent holddrift er 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 oocysteudskillelsen til følge, hvorved smittepresset evt. gennembryder de øvrige kalves immunitet (Fiege et al., 1992). Selve boksen bør indrettes, så fækal forurening af hø, 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*

Foranstaltninger såsom gradvis overgang ved foderskift, gruppering i små grupper, hvor det sociale stressniveau er begrænset, adgang til overdækkede og trækfri kalvehytter i tilfælde af dårligt vejr, samt adgang til velstrøede og tørre hvilearealer, er alle faktorer, der bidrager til minimering af de stressfaktorer, som i værste fald udløser klinisk coccidiose.

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 (83%) og

115 (71%) i de to typer af landbrug. Mens hovedparten af de konventionelle besætninger (58%) benyttede profylaktisk anthelmintikabehandling, anvendte de økologiske producenter i stedet for strategisk græsmarksmanagement. Det er ikke meddelt, hvorvidt coccidiostatika blev anvendt. 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 inden for samme græsningssæson, indsættelse på arealer, hvor der havde været høstet hø eller ensilage først, eller ved alternerende afgræsning med andre dyrearter (især heste). Ved nærstudier af parasitbelastningen i 15 økologiske svenske besætninger i græsningssæsonerne 1997 og 1998 blev fundet lave til moderate niveauer af *E. alabamensis* i de fleste besætninger, og der blev ikke registreret kliniske udbrud af coccidiose. Forfatterne konkluderede, at benyttelse af parasitfrie græsmarker ved udbinding og supplerende tilskuds foder til kalvene syntes at være effektive faktorer ved kontrollen af mave-tarmparasitter herunder *E. alabamensis* (Höglund et al., 2001). Det er væsentligt at erindre, at kalvene generelt vil være inficeret og oocysteudskillende, allerede inden de bindes ud på græsmarken (jf. f.eks. Nielsen et al., 2003) og derved bidrager til at kontaminere arealet straks fra udbindingstidspunktet. Forebyggelse af staldcoccidiose vil således også medvirke til at mindske smittepresset på græsmarken for de samme dyr.

### *Aktiv immunisering*

En længere række forsøg er gennemført for at afprøve muligheden for at 'vaccinere' kalve mod coccidiose. Det angives f.eks., at der kan induceres immunitet i kalve mod *E. bovis* infektion eller sygdom ved at give en stor dosis (f.eks. 50.000 oocyster) på én gang eller delt i få portioner (Senger et al., 1959; Dauschies et al., 1986). Andre har derimod fundet, at indtagelse af lave oocystmængder (110 oocyster i løbet af 11 dage) fører til nogen beskyttelse over for 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) svækkelse af infektionen førende til betydelig reduktion i oocysteudskillelse hhv. patologiske følger af challengeinfektionen (Stockdale et al., 1982). Høje (fra 250.000 til  $10^6$ ) enkelt doser 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). Resultater fra studier af *E. alabamensis* infektioner varierer, idet nogle ikke har kunnet demonstrere tydelig effekt af aktiv 'vaccination' (Davis et al., 1955), hvorimod andre studier har givet indikation på udvikling af resistens over for *E. alabamensis* efter en initial inokulation af kalve med  $1-8 \times 10^7$  oocyster, idet kalvene efter challengeinfektion udskilte stærkt reducerede oocystmængder (Soekardono et al., 1975). Endelig har også radioaktivt behandlede oocyster af *E. zuernii* været anvendt som vaccine i dosis på 30.000 oocyster pr. kalv med nogen positiv effekt (Mielke et al., 1993). Trods disse adskillige tiltag til at udvikle vacciner eller immuniseringsstrategier er der endnu ingen, der er viderebearbejdet til markedsføring. Ligeledes kan

man heller ikke finde nogen endegyldig anbefaling af, hvorledes man selv kunne immunisere sine dyr.

Ovenstående resultater kunne antyde, at en kort eksponering for et smittet miljø (f.eks. kendt smittet fællesboks eller græsmark) efterfulgt af en 'hvileperiode' medens infektionen udviklede sig og førte til immunitetsudvikling inden den egentlige eksponering til miljøet, muligvis kunne føre til mere resistente kalve. Imidlertid vil det formodentligt være mindst lige så effektivt at forebygge coccidiose ved at tilstræbe høj hygiejne samt styrkelse af kalvens generelle immunkompetence fra fødselen. Dette vil ikke være forskelligt mellem hhv. konventionelle og økologiske kvægbesætninger, men vigtigheden af den højest mulige hygiejnestandard understreges naturligvis i økologiske besætninger, hvor medicinforbruget generelt skal være lavt både i relation til forebyggelse og behandling.



## 8. Pasning af kalve med coccidiose

Ved infektion med de to mest patogene coccidiearter, *E. bovis* og *E. zuernii*, beskadiges tyndtarmsafsnittene ikke i væsentlig grad, hvorimod 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 blot ved, at dyrene drikker vand, 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). Det er naturligtvis kun den orale indgiftsmåde, der kan anvendes af landmanden.

I forbindelse med canadiske erfaringer, er opstillet følgende råd i forbindelse med udbrud af vintercoccidiose på besætningsniveau (Radostits & Stockdale, 1980). Disse retningslinier er opstillet for konventionelt drevne besætninger.

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.

Modifikationer til forebyggelse af udbrud af staldcoccidiose i henhold til det økologiske regelsæt:

- Kælvningsboksene skal være rengjorte og velstrøede mellem indsættelse af køer.
- Konstant supplement af hø med god kvalitet fra høhæk til kalvene, så de ikke æder strøelse fra underlaget.
- Styret tildeling af råmælk (3-4 l) foruden den mængde, som kalven selv optager ved at patte hos koen.
- Permanent adgang til vand for kalve gennem hele mælkefodringsperioden.
- Undgå sammenblanding af kalve med forskellig alder i en gruppe.
- Undgå løbende indsættelse i en gruppe.

## 9. Konklusion

Coccidiose er vidt udbredt - også i danske økologiske malkekvægsbesætninger. Nogle coccidierarter er hyppigere forekommende end andre, men forekomsten af selv store 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 immunstatus 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 (tilstrækkelig 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.
- Anonym, 2001. Tværfaglig rapport "Indretning af stalde til kvæg -Danske anbefalinger: 3.udg. 2001". Landbrugets Rådgivningscenter, 114 pp
- 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 Vettidsskr. 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. 7<sup>th</sup> 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* Tubanguì 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 bovines 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* Tubangui 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. Parasitol. Int. 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., Scholtzseck, 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.
- Hiepe, T.V., Romeyke, D. & Jungmann, R., 1978. Untersuchungen über Kokzidien-Infektionen des Kalbes unter den Bedingungen der industriemässigen Rinderproduktion mit einem Beitrag zur Bekämpfung. *Monatsh. Vet. Med.* 33, 904-910.
- 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. & Hessle, 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.
- Ingvartsen, K.L. & Andersen H.R., 1993. Space allowance and type of housing for growing cattle. A review of performance and possible relation to neuroendocrine function. *Acta Agric. Scand., Sect.A, Animal Sci.* 43, 65-80.
- Ingvartsen, K.L. & Andersen H.R., 2000. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.* 83, 1573-1597.

- Ingvarstsen, K.L. & Boisclair, Y.R., 2001. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21, 215-250.
- Johnson, R.W., 1998. Immune and endocrine regulation of food intake in sick animals. *Dom. Anim. Endocrinol.* 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, pp. 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.

- Nielsen, B.K., Thamsborg, S.M. & Kristensen, T., 2003. Feed supplements for young dairy breed calves after turn-out to pasture: effect on weight gain and subclinical coccidiosis in organic production systems. *Acta Agri Scand.* In press.
- 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.
- Priestholm, M., 1999a. Økokalve er for magre [Organic calves are too lean. In Danish] *Organic Farming*, 23<sup>rd</sup> April, p. 9.
- Priestholm, M., 1999b. For mange økokalve dør [Too many calves die in organic farming. In Danish] *Organic Farming*, 10<sup>th</sup> September, p. 9.
- 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., Ugglä, A. & Shirley, M.W., 1999. PCR identification of chicken *Eimeria*: a simplified read-out. *Avian Pathol.* 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, Ph.D.-afhandling, Sveriges Landbruksuniversitet, 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., Hesse, 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.

## DJF Foulum

Postboks 50, 8830 Tjele  
Tlf. 8999 1900. Fax 8999 1919  
djf@agrsci.dk. www.agrsci.dk

Direktion  
Administration

Afdeling for Råvarekvalitet  
Afdeling for Husdyravl og Genetik  
Afdeling for Husdyrnæring og Fysiologi  
Afdeling for Husdyrsundhed og Velfærd  
Afdeling for Jordbrugsproduktion og Miljø

Afdeling for Mark- og Stalddrift  
Kommunikationsafdelingen  
Centerdrift Foulum

## DJF Årslev

Kirstinebjergvej 10, 5792 Årslev  
Tlf. 6390 4343. Fax 6390 4390

Afdeling for Havebrugsproduktion

## DJF Flakkebjerg

Flakkebjerg, 4200 Slagelse  
Tlf. 5811 3300. Fax 5811 3301

Afdeling for Plantebiologi  
Afdeling for Plantebeskyttelse  
Centerdrift Flakkebjerg

## DJF Bygholm

Postboks 536  
Schüttesvej 17, 8700 Horsens  
Tlf. 7629 6000. Fax 7629 6100

Afdeling for Jordbrugsteknik  
Driftsfunktion

## DJF Sorgenfri

Skovbrynet 14, 2800 Kgs. Lyngby  
Tlf. 4587 8055 . Fax 4593 1155

Skadedyrlaboratoriet

## Enheder på andre lokaliteter

Afdeling for Sortsafprøvning  
Teglværksvej 10, Tystofte  
4230 Skælskør  
Tlf. 5816 0600. Fax 5816 0606

Askov Forsøgsstation  
Vejenvej 55, 6600 Vejen  
Tlf. 7536 0277. Fax 7536 6277

Den økologiske Forsøgsstation  
Rugballegård  
Postboks 536, 8700 Horsens  
Tlf. 7629 6000. Fax 7629 6102

Foulumgård, Postboks 50  
8830 Tjele  
Tlf. 8999 1900. Fax 8999 1919

Jyndevad Forsøgsstation  
Flensborgvej 22, 6360 Tinglev  
Tlf. 7464 8316. Fax 7464 8489