

Aus dem Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

**Bovine Kryptosporidiose: Analyse einer integrierten Bekämpfungs-  
maßnahme unter den Bedingungen einer natürlichen Infektionsex-  
position in einem Kälberbestand**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von  
Susanne Erbe  
aus Vacha/Rhön

Leipzig, 2010

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Uwe Truyen

Betreuer: Prof. Dr. Arwid Dauschies

Gutachter: Prof. Dr. Arwid Dauschies, Institut für Parasitologie, Universität  
Leipzig

Apl. Prof. Dr. Martin Kaske, Klinik für Rinder, Stiftung Tierärztliche  
Hochschule Hannover

Tag der Verteidigung: 21.09.2010

*Meiner Familie*

Christian, danke für deine Geduld!

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT</b>	<b>2</b>
2.1	Historie der Kryptosporidien	2
2.2	Taxonomie	3
2.3	Morphologie	5
2.4	Epidemiologie	6
2.5	Entwicklungszyklus	9
2.6	Pathophysiologie	12
2.7	Klinik	13
2.8	Zoonotisches Potential	14
2.9	Nachweis des Erregers	15
2.10	Immunologische Bekämpfung	17
2.11	Medikamentelle Bekämpfung	18
2.12	Hygienische Maßnahmen	23
<b>3</b>	<b>TIERE, MATERIAL UND METHODE</b>	<b>24</b>
3.1	Betrieb	24
3.2	Tiere	24
3.3	Haltung und Fütterung der Kälber	25
3.3.1	Haltung	25
3.3.2	Fütterung	28
3.4	Impfungen	29
3.4.1	Impfungen der Kälber	29
3.4.2	Impfung der Muttertiere	29
3.5	Versuchsaufbau/Plan	29
3.5.1	Wiegen der Tiere	30
3.5.2	Reinigung und Desinfektion	30
3.5.3	Kotprobenentnahme und Bewertung der Kotqualität	31
3.5.4	Klinische Untersuchung	31
3.5.5	Halofuginonbehandlung	33
3.5.6	Sonstige Behandlungen	33
3.6	Labormethoden	34

3.6.1	Nachweis der Oozysten durch Anwendung der Färbung nach Heine (1982) .....	34
3.6.2	Nachweis von Rota-, Coronaviren und <i>E.coli</i> .....	34
3.6.3	Statistik.....	35
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>37</b>
4.1	Ergebnisse Vorversuch .....	37
4.2	Ergebnisse Hauptversuch .....	41
4.2.1	Oozystenausscheidung .....	41
4.2.2	Durchfallsymptomatik .....	45
4.2.3	Beziehung zwischen Oozystenausscheidung und Durchfallsymptomatik.....	50
4.2.4	Körpergewicht .....	55
4.2.5	Körpertemperatur .....	60
4.2.6	Lungensymptomatik .....	65
4.2.7	Ernährungszustand und Trinkverhalten .....	66
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>71</b>
5.1	Oozystenausscheidung .....	72
5.2	Durchfall .....	80
5.3	Gewicht .....	84
5.4	Körpertemperatur und Lungensymptomatik .....	87
5.5	Ernährungszustand und Trinkverhalten.....	88
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>90</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>92</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>94</b>
<b>9</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>117</b>

## Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

°C	Grad Celsius
a.p.	ante partum
bp	Basenpaare
Ca	Kalzium
cm	Zentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	desoxy-Nukleotidtriphosphat
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
g	Gramm
ggr.	Geringgradig
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
hgr.	Hochgradig
IBR	Infektiöse bovine Rhinotracheitis
i.m.	intramusculär
i.z.	intrazisternal
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
LM	Lebendmasse
LT	Lebenstag
m	Meter
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
min	Minute
ml	Milliliter
mM	millimolar
MJ	Megajoule
Na	Natrium
ng	Nanogramm
µl	Mikroliter

µm	Mikrometer
OT	Ortsteil
PCR	Polymerasekettenreaktion
p.i.	post infectionem
qm	Quadratmeter
s	Sekunde
spp.	Spezies
U/l	Units/Liter
UV	Ultraviolett
z.B.	zum Beispiel

# 1 Einleitung

Durchfälle bei Kälbern können in landwirtschaftlichen Betrieben zu massiven Problemen und wirtschaftlichen Einbußen führen. Auslöser dafür stellen neben Rota- und Coronaviren *E. coli* und Salmonellen sowie Kokzidien einschließlich der Kryptosporidien dar.

Kryptosporidien sind der Unterklasse Apicomplexa zuzuordnen. *Cryptosporidium parvum* ist die beim Kalb vorherrschende pathogene Spezies aus dem Genus. Die aus Kryptosporidiose resultierenden Durchfälle treten meist in den ersten Lebenswochen auf.

Der Parasit vermehrt sich im Bürstensaum des Dünndarmepithels, wo er großflächige Alterationen verursachen kann. Die Infektion manifestiert sich in einer wässrigen Diarrhoe, welche Verluste an Flüssigkeit und Elektrolyten zur Folge hat. Die Resorptionsfähigkeit des geschädigten Darmepithels wird herabgesetzt, woraus eine Abmagerung der betroffenen Tiere resultiert. Die Tiere sind geschwächt und anfälliger für Sekundärinfektionen. Bei zusätzlicher Mischinfektion mit anderen Erregern, wie *E.coli*, Rota- oder Coronavirus, kann dies zu schweren gastrointestinalen Erkrankungen bis zum Tod führen. Prophylaxe und Methaphylaxe der Kälberdiarrhoe beinhalten zum Beispiel den Einsatz von Muttertiervakzinen, die einen kolostral induzierten Schutz gegenüber Rota- und Coronaviren sowie *E. coli*- Bakterien vermitteln.

Als wirksames Präparat gegen den ubiquitären Protozoen *Cryptosporidium parvum* steht Halofuginon zur Verfügung. Das Therapeutikum ermöglicht eine prophylaktische und metaphylaktische Bekämpfung der Kryptosporidiose des Kalbes.

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Kryptosporidiose anhand von Felddaten statistisch zu bewerten und zu analysieren. Die Datensammlung beinhaltet Werte zur Oozystenausscheidung, Durchfallsymptomatik, Gewichtszunahme, zum Dehydra-

tationsgrad, Trinkverhalten und zur Lungensymptomatik. Es sollten statistische Beziehungen zwischen den Parametern und erfolgter Halofuginonbehandlung, sowie der integrierten Desinfektion mittels Neopredisan dargestellt werden. In einigen Fällen wurde zusätzlich eine Geschlechtsdifferenzierung der Versuchstiere in die Auswertung einbezogen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Historie der Kryptosporidien

Die Erstbeschreibung von *Cryptosporidium parvum* als Pathogen erfolgte durch PANCIERO, THOMASSEN und GARNE (1971). Als Entdecker der Kryptosporidien gilt TYZZER (1907), welcher gehäuft Protozoen in den Magendrüsen von Labormäusen fand. TYZZER (1907) beschrieb sexuelle und asexuelle Stadien sowie Sporen, die mit dem Kot ausgeschieden wurden. Die unsichere taxonomische Stellung des Parasiten in der Klasse der Sporozoa veranlasste TYZZER (1907), diesen Protozoen *Cryptosporidium muris* zu nennen. Drei Jahre später beschrieb er den gleichen Erreger sehr viel genauer (TYZZER 1910) und postulierte *Cryptosporidium* als neue Gattung und *C. muris* als neue Art. Erfolgreiche Übertragungsversuche auf andere Mausarten konnten durchgeführt werden, und es wurde vermutet, dass endogene Autoinfektionen möglich sind (TYZZER 1910). TYZZER (1912) entdeckte und beschrieb als neue Art *Cryptosporidium parvum*, die sich von *Cryptosporidium muris* in Größe und Entwicklungsort unterscheidet. Die nicht strikt extrazelluläre Lage des Protozoen machte es schwer, die Lokalisation genau zu ermitteln, andererseits gab es keine Hinweise auf eine intrazelluläre Lage (TYZZER 1912). Im Dünndarm eines Kaninchens fand TYZZER (1929) einen Organismus mit gleichem Erscheinungsbild und beschrieb zusätzlich erstmalig die aviäre Kryptosporidiose (TYZZER 1929). Im Caecalepithel eines Huhnes fand TYZZER (1929) alle Entwicklungsstadien, illustrierte diese jedoch ohne genauere Beschreibung oder taxonomische Zuordnung. So wurde *Cryptosporidium meleagridis* erstmals von SLAVIN (1955) im Durchfallkot von Putenküken postuliert.

Im Jahre 1971 wurde das veterinärmedizinische Interesse am Erreger neu geweckt und die vorhandene Pathogenität anerkannt (PANICERA et al. 1971, POHLENZ et al. 1978, TRIZIPORI et al. 1980, STEIN et al. 1983, KROGH und HENRIKSEN 1985, GRAAF et al. 1999). Als die ersten Fälle von schweren Durchfallgeschehen

beim immunsuppressiven Menschen mit *C. parvum* auftraten (NIME et al. 1976, MEISEL et al. 1976), erlangte der Erreger zusätzliches Interesse. Nachdem später weitere Patienten verschiedener amerikanischer Großstädte an Kryptosporidien bedingten Durchfällen litten, gewann der Erreger endgültig weltweites Interesse (ANON. 1982).

HEINE et al. (1984) bewiesen die primäre Pathogenität von *Cryptosporidium*, indem sie zwei gnotobiotische Kälber durch Kaiserschnitt entwickelt und anschließend mit Oozysten von *C. parvum* infiziert haben, welche dann an Durchfall erkrankten.

*Cryptosporidium parvum* war als primär pathogener Erreger bis vor einigen Jahren noch nicht allen diagnostischen Untersuchungseinrichtungen bekannt und wurde somit nicht routinemäßig in Proben von Kälbern mit Diarrhoe untersucht (JOACHIM et al. 2003b). In den letzten Jahren mehren sich nun die Berichte über Durchfälle bei Kälbern, die primär auf Kryptosporidien zurückzuführen sind (CURRENT und GRACIA 1991). HOUSE (1978) und DE LA FUENTE et al. (1998) ordnen die Kryptosporidiose, neben der Rotavirusinfektion, als die wichtigste Durchfallursache bei neugeborenen Kälbern ein.

## **2.2 Taxonomie**

In der Literatur besteht bezüglich der Systematik und Taxonomie immer noch Uneinigkeit. SCHNIEDER et al. (2006) teilten alle derzeit bekannten Erreger von Infektionskrankheiten in subzelluläre Erreger, Prokaryonten und Eukaryonten ein. Die Parasiten im System der Eukaryota (Organismen mit Zellkern und Zytoskelett) lassen sich demnach in Reich/Unterreich und Linie sowie Stamm/Unterstamm und Klasse einteilen. Die biologische Klassifikation eukaryotischer Organismen ist stets im Wandel und ohne international einheitliche Anerkennung. Derzeit ist die Klassifikation auf elektronenmikroskopische Daten der zellulären Ultrastruktur und auf Sequenzdaten der ribosomalen RNA (ssrRNA) zurückzuführen (SCHNIEDER 2006).

Die Gattung *Cryptosporidium* ist der Familie Cryptosporidiidae, der Klasse Coccidiae und dem Unterstamm Apicomplexa (syn. Sporozoa) untergeordnet (TENTER und SCHNIEDER 2006). Aus dem Unterstamm Apicomplexa sind ca. 5000 benannte

Arten, wovon alle Parasiten sind, bekannt (SCHNIEDER 2006). Die Apicomplexa sind dem Stamm Alveolata und dem Reich Mastigota zuzuordnen.

Die internationale Kommission für zoologische Nomenklatur legte für die Benennung von Arten und Gattungen Regeln fest, welche von allen Autoren beachtet werden müssen (SCHNIEDER 2006).

In der Gattung *Cryptosporidium* können viele Arten klassifiziert werden, deren Anzahl noch umstritten ist (OLSON et al. 2004). Anhand morphometrischer und molekularbiologischer Merkmale sowie der vorhandenen Wirtsspezifität können derzeit 14 verschiedene Arten unterschieden werden. Beim Rind sind *C. muris*, *C. parvum*, *C. andersoni* und *C. bovis* bedeutend, welche in der Morphologie der Oozysten nur schwer unterscheidbar sind. Die einzigen Unterscheidungsmerkmale sind der Ort des Befalls im Gastrointestinaltrakt sowie Unterschiede im DNA-Strang (SRETER et al. 2000). SRETER et al. (2000) behaupten, dass *C. andersoni* die beim Kalb vorherrschende Art ist. Nach LINDSAY et al. (2000) gibt es eine strenge Wirtsspezifität von *C. andersoni* für das Rind. *C. andersoni* wurde vorwiegend bei über zwei Monate alten Rindern gefunden (ENEMARK et al. 2002). *C. parvum* parasitiert im Dünndarm von Rindern, aber auch bei vielen anderen Säugetieren wie auch beim Menschen. 1912 wurde *C. parvum* im Dünndarm von Mäusen entdeckt (TYZZER 1912). In einer Studie wurden Oozysten aus einem Kälberisolat auf Lämmer, Schweine, Ratten, Mäuse und Meerschweine übertragen, wobei bei den Mäusen und Meerschweinchen in dieser Studie kein Durchfall ausgelöst werden konnte (TZIPORI et al. 1980). Auch XIAO et al. (2004) behaupten, dass eine natürliche Infektion von *C. parvum* vorwiegend beim Wiederkäuer und Menschen auftritt. MAJEWSKA et al. (2004) zeigten kurze Zeit später natürliche Infektion bei Pferden. Für *C. parvum* sind seit langem verschiedene Genotypen bekannt und zwar Genotyp 1 (humaner Genotyp) und Genotyp 2 (boviner Genotyp). Einige Autoren betrachten Genotyp 1 als eigenständige Art und benannten diese als *C. hominis* (MORGAN et al. 2002). Genotyp 2 besitzt laut PENG et al. (1997) zoonotisches Potential. Die Wirtsspezifität von *C. parvum* ist relativ gering. Das erklärt, weshalb bislang weltweit mehr als 70 empfängliche Säugetierspezies identifiziert wurden (O'DONOGHUE 1995). LEVINE (1984) listete 19 verschiedene Arten auf, die vorher in der Literatur als eigenständig beschrieben wurden. Von den 19 Arten erwiesen sich drei (*C. ctenosauris*, *C. vulpis*, *C. lampropeltis*) als *Sarcocystis* spp., ande-

re wurden mehrmals mit unterschiedlichen Namen versehen. *C. bovis* wurde erst kürzlich in den Vereinigten Staaten bei über zwei Monate alten Kälbern entdeckt und scheint bei diesen kein Durchfall auszulösen (FAYER et al. 2005).

### **2.3 Morphologie**

Morphologisch sind die *Cryptosporidium spp.* kaum unterscheidbar. *C. muris* hat mit einer Größe von etwa 8 µm differenzierbare Oozysten. Auch UPTON und CURRENT (1985) gehen von der Annahme aus, dass sich nur *C. parvum* und *C. muris* wirklich morphologisch klar unterscheiden. *C. muris* zeigt in frisch gewonnenem Kälberkot sporulierte Oozysten von ovoider Gestalt mit den Ausmaßen 7,4 µm x 5,6 µm und besitzt eine Wanddicke von 0,5 µm. Der Weitenindex, der den Quotienten aus Länge und Breite darstellt, beträgt durchschnittlich 1,3 (1,1 bis 1,5). Die Oozystenwand ist glatt und farblos. Eine blasse längliche Naht reicht beidseitig von einem Pol der Oozyste bis maximal zur Hälfte der Oozystenlänge. Um eine 3,4 µm x 3,3 µm große membrangebundene kugelige Form befinden sich 2-40 kleinere Körnchen, die im Durchmesser 0,2-1,3 µm betragen. Der typische Polring, Mitochondrien, Mikrosporen und Conoid fehlen den Sporozoiten beider Arten. Vier wurmförmige Sporozoiten mit einer Länge von durchschnittlich 11,1 µm x 1,0 µm liegen längsseits in der Oozyste, mit ihrem vorderen Ende an dem Pol, von dem die Naht ausgeht (UPTON und CURRENT 1985).

*C. parvum* besitzt sphärische bis ovoide Oozysten, die kleiner sind als die von *C. muris*. Die Größe beträgt 5,0 µm x 4,5 µm, bei einer Oozystenwanddicke von 0,4 µm. Der Weitenindex beträgt 1,1 (1,0 bis 1,3). Der Residualkörper misst 2,4 µm x 2,5 µm. Er wird von einer Anzahl Granula mit dem Durchmesser von 0,2 µm bis 1,2 µm umgeben. Die vier Sporozoiten haben eine Länge von durchschnittlich 4,9 µm x 1,2 µm und liegen längsseits eng am Residualkörper (UPTON und CURRENT 1985). Es gibt dickwandige und dünnwandige Oozysten. Dünnwandige exzystieren schon im Darm des Wirtes ihre Sporozoiten und sind so wahrscheinlich für eine Autoinfektion verantwortlich (CURRENT und REES 1986).

## 2.4 Epidemiologie

Kryptosporidien sind weltweit verbreitet (Tabelle 1). Prävalenzstudien zeigen eine stark variierende Inzidenz der Oozystenausscheidung, die in Abhängigkeit vom Alter, vom Gesundheitsstatus der Tiere sowie den Haltungsbedingungen von 17% bis über 80 % reicht. Eine absolute Prävalenz ist schwierig abzuschätzen, da häufig nur Kälber mit Diarrhoe untersucht wurden und damit die echte Prävalenz unterschätzt wird. Auf der Grundlage zahlreicher Studien (ANONYMUS, 1998) bewegt sich die Infektion ohne Anzeichen von Durchfall je nach Region und Land zwischen 10% und 20%. Mit einem Prozentsatz von 20%-50% müssen aber die unterschiedlichen Untersuchungsmethoden, eventuell vorliegende saisonale Schwankungen und Länderspezifika berücksichtigt werden.

Eine retrospektive Auswertung ergab zwischen 1993 und 1997 im Rahmen der Routinediagnostik von deutschlandweit eingesandten Kot- und Darmproben durchfallkranker Kälber eine Prävalenz von durchschnittlich 26% (JOACHIM et al. 2003). Dennoch liegt der tatsächliche Prozentsatz wahrscheinlich eher bei 40 %, ähnlich wie in Frankreich und den Benelux- Staaten (ANONYMUS 1998). Die hier aufgetretene Differenz liegt in der Betrachtung der Bedeutung neonatalen Kälberdurchfalls in der Routinediagnostik (MOHAMMED et al. 1999). (siehe Abb. 1 Prävalenz des Krankheitserregers in Europa).

HEINE und BOSCH (1981) führten erstmals gezielte Untersuchungen von 597 lebenden und 23 verendeten Kälbern in verschiedenen Rinderbeständen im Raum München und im Kreis Steinfurt durch. Sie wiesen bei insgesamt 39,5% der fünf bis 28 Tage alten Kälber mit Durchfall und bei 13,7% klinisch gesunder Kälber *Cryptosporidium* nach.

PETERS u. Mitarb. (1982) ermittelten im Rahmen von regelmäßigen Untersuchungen bei 85% aller Kälber eine Kryptosporidienausscheidung. Auch STEIN (1983) konnten in vier regelmäßig untersuchten Betrieben eine Befallsintensität von 85%-100% feststellen. Bei 60% der verendeten Kälber konnten sie Präpatenzen von vier bis fünf Tagen (PAVLASEK 1982) bis hin zu 12 Tagen (ANDERSON 1981) ermitteln. NACIRI et al.(1993) und HENRIKSEN und KROGH (1985a,b) wiesen *C. parvum* in den ersten ein bis drei Lebenstagen bei weniger als 1% der zur Sektion

vorliegenden Tiere nach und nur bei 5% der untersuchten Kotproben. Die höchste Prävalenz wurde zwischen dem vierten und 30. Lebenstag gefunden. Die Maximalwerte (24,8%) lagen in dieser Studie zwischen Tag acht und 14 (HENRIKSEN und KROGH 1985a). Weiterhin zeigten sie, dass die Nachweisrate von Oozysten im Kot bei ein bis zwei Monate alten Kälbern unter 10% liegt. Bei noch älteren Tieren fand man gar keine Erreger im Kot, aber dafür ließen sich eine geringe Anzahl von *Cryptosporidium* im Dünndarm bei der Sektion von sogar über zwei Jahre alten Rindern verzeichnen (HENRIKSEN und KROGH 1985 a).

Aus epidemiologischer Sicht muss unbedingt zwischen dem Auftreten von Kryptosporidien als alleinige Infektion und der Mischinfektion mit anderen Erregern wie z. B. *E. coli*, Rota- und Coronaviren und Salmonellen unterschieden werden. In einer Studie von MORGAN (1999) wurden bei an Durchfall erkrankten Kälbern Rotaviren und Kryptosporidien als die am häufigsten vorkommende Kombination von Durchfallerregern diagnostiziert. Eine direkte Assoziation mit *E. coli* und dem klinischen Bild der *E. coli*-Septikämie ist eher selten, da die Colibazilliose vornehmlich in den ersten vier Lebenstagen beobachtet und eine Kryptosporidiose erst später diagnostiziert wird. In einer Untersuchung von BALJER et al. (1987) wurden über zwei Jahre lang in Süddeutschland insgesamt 1021 Kotproben durchfallkranker Kälber hinsichtlich der Beteiligung von *E. coli*, Rotaviren, Coronaviren und Reoviren sowie Kryptosporidien beurteilt. Pro Jahr konnten in 17 bis 18% aller Proben *C. parvum*-Oozysten nachgewiesen werden.

POHLENZ (1982) konnte bei 13 von 36 untersuchten Kälbern eine Kryptosporidieninfektion nachweisen. Davon hatten 10 Kälber eine Mischinfektion mit Rota- und Coravirus und/oder *E. coli*. Außerdem stellte er fest, dass bei gleichzeitigem Befall mit *E. coli* der Erkrankungsgrad und Verlauf erheblich schlimmer waren. Die Tiere, welche nur mit Kryptosporidien infiziert waren, zeigten Symptome wie schleimiger, mit Flocken versetzter Kot zwischen dem fünften und sechsten Lebenstag. Sie blieben kümmerer.

FIEDLER und Mitarbeiter (1982) konnten auch gehäuft Kryptosporidien in Verbindung mit Mucosal Disease und Salmonellose nachweisen.

Kryptosporidien treten im ganzen Jahr in den Betrieben auf. Eine saisonale Häufung wurde von SIEBERT und GRÜNDER (1991) besonders in kalten Monaten beobachtet. Es konnte ein Anstieg der Oozystenausscheidung im Oktober bis März verzeichnet werden, wobei in den Monaten Dezember und Januar ein Peak auftrat. Auch FIEDLER et al. (1982) fand diesen Verlauf in einer vierjährigen Untersuchung von 284 zur Sektion anstehenden Kälbern. Seine Ergebnisse berichten über einen massiven Anstieg im November bis in den Monat Mai. In den Untersuchungen von HENRIKSEN und KROGH (1985b) trat der Höhepunkt der Oozystenausscheidung in den Monaten November bis April auf.

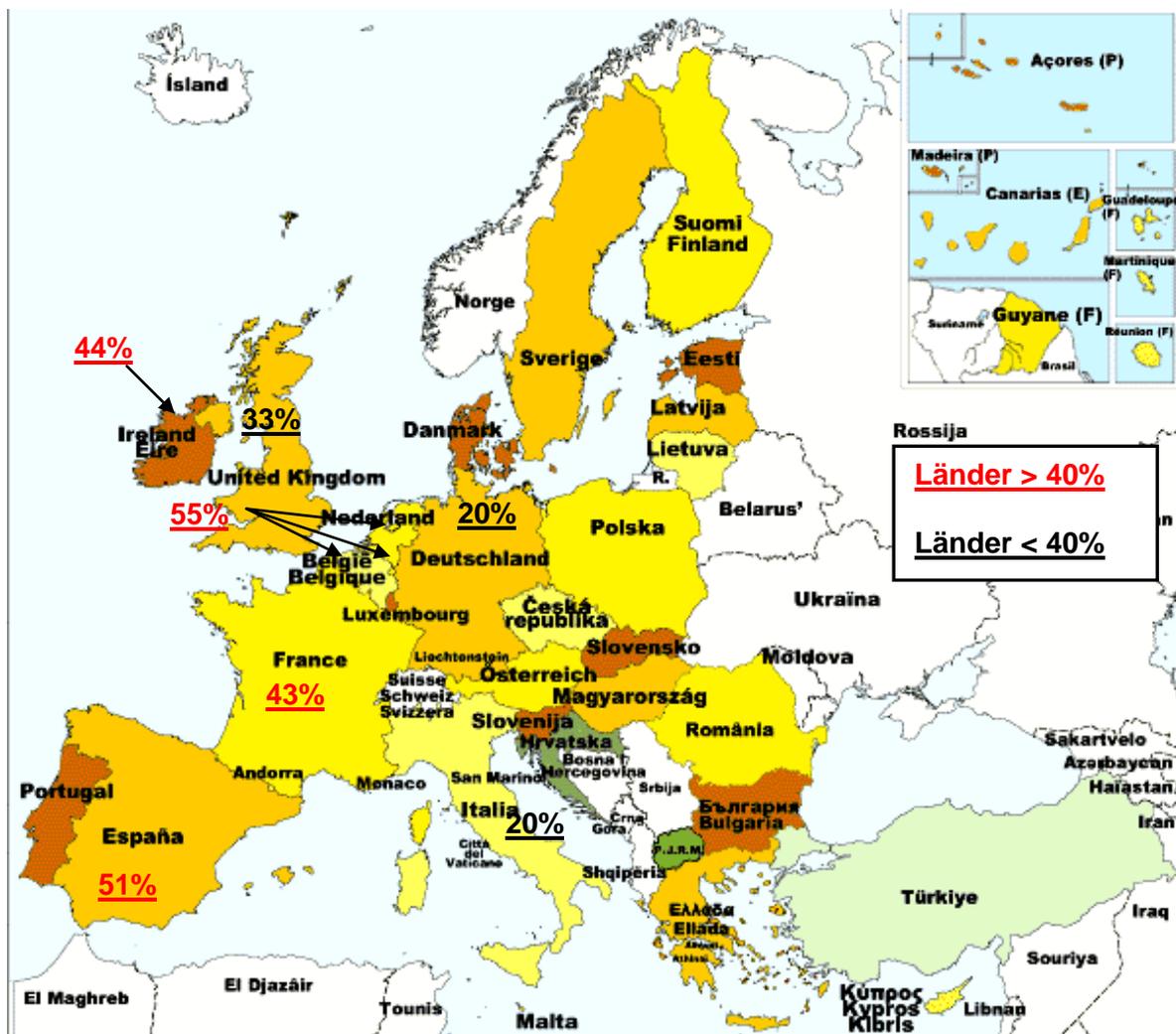


Abbildung 1: Prävalenz von *Cryptosporidium parvum* des Kalbes in einzelnen europäischen Ländern (1998). Die Ergebnisse stammen aus der Routinediagnostik von staatlichen Untersuchungsämtern. (Quelle: Intervet, Deutschland, Halocur –Produktinformationsbroschüre, 1998)

**Tabelle 1: Nachweis von Kryptosporidien bei Kälbern in willkürlich ausgewählten Ländern (nach ROFFEIS 1987)**

Land	Autor	Zahl der untersuchten Kälber	Symptome	Andere Erreger
USA	PANOTERA und Mitarb. (1971)	1 v	+	Keine
	SCHMITZ und SMITH (1975)	1 v	+	Keine
	ANDERSON und HALL (1982)	284	+	Ohne Angaben
Australien	BARKER und CARBONELL (1974)	1 v	+	Keine
Ungarn	NAGY und Mitarb. (1979)	3 v	+	Keine
Schweiz	NAGY und POLHLENZ	132	+	E.coli Coronaviren
Niederlande	DE LEBUW und Mitarb.(1984)	375	+	Rotaviren

v - verendet  
 + - Diarrhoe  
*E. coli* - Escherichia coli

## 2.5 Entwicklungszyklus

Nach oraler Aufnahme von Oozysten werden die darin befindlichen infektiösen Stadien exzystiert. Es treten dabei vier Sporozoitien aus. Diese bananenförmigen, 5,5 µm langen Entwicklungsstadien drängen den Mikrovillisaum des Jejunum und/oder des Ileum auseinander und werden so durch diesen kelchartig umgeben. Nach Bildung einer Haftzone und einer Stoffwechsellamelle, die eine Verschmelzung von Mikrovilli und Parasitenpellikula darstellt, liegen die Sporozoitien zwar intrazellulär, aber extrazytoplasmatisch (ROMMEL 2000).

Der sich aus den Sporozoiten entwickelnde Trophozoit unterliegt nun einer Kernteilung. Ergebnis der Kernteilung stellen Typ I Meronten dar. Sie besitzen durchschnittlich eine Größe von 3,4 x 3,6 µm. In den Typ I-Meronten entwickeln sich schon 48 Stunden nach der Infektion acht 5,0 x 5,6 µm große Merozoiten. Ein Merozoit gleicht strukturell einem Sporozoiten und infiziert erneut Darmepithelzellen, in denen sich wiederum Typ II Meronten bilden. Die Merogonie tritt bis zum siebten Tag *p.i.* auf. In den Typ II-Meronten entstehen jeweils vier Merozoiten (KRULL 2000).

Nach Befall der Darmzellen entstehen aus Typ II Merozoiten vielkernige männliche Mikrogamonten oder jeweils ein einzelliger weiblicher Makrogamet. Bereits 72 Stunden nach der Infektion lassen sich Mikrogamonten mit 16 geißellosen Mikrogameten und 4,6 µm große Makrogameten nachweisen (BÄNDLER 1982).

Im nun folgenden Verlauf der geschlechtlichen Vermehrung (Gamogonie) befruchten die Mikrogameten die Makrogameten (Syngamie) und führen somit zur Ausbildung einer Zygote. Aus dieser entsteht durch Hüllenbildung dick- oder dünnwandige Oozysten, welche ab dem vierten Infektionstag (Präpatenz = Zeitraum von der Infektion bis zur Ausscheidung der Oozysten) in Dünndarm und Rektuminhalt sowie im Kot nachweisbar sind (BOCH et al. 1982, BRÄNDLER 1982, FAYER und UNGAR 1986).

Nach DUBEY et al. (1990) liegen die Präpatenzzeiten zwischen zwei und sieben Tagen und die Patenzzeit (Dauer der Oozystenausscheidung) zwischen einem und zwölf Tagen. Nach KASKE und KUNZ (2003) beträgt die Präpatenz vier Tage und die Patenz vier bis 14 Tage. DUBEY et al. (1990) beschrieben, dass nur befruchtete Makrogameten zu Oozysten heranreifen, die schon innerhalb des Darms sporuliert sind und die Sporozoiten enthalten. Dadurch entsteht die Möglichkeit einer Autoinfektion, wodurch die Infektion im befallenen Wirt aufrechterhalten wird. CURRENT (1985, 1988) vertritt hingegen die Meinung, dass eine Autoinfektion nur von dünnwandigen Oozysten durchführbar ist und dickwandige mit dem Kot ausgeschieden werden.

Die Reproduktionsrate (Anzahl neuer Stadien die aus jedem Sporozoit hervorgehen) von *C. parvum* ist mit  $\geq 10^{10}$  außerordentlich hoch (CASEMORE et al. 1997). Subklinisch erkrankte Rinder können täglich bis zu 7 Millionen Oozysten ausscheiden (SCOTT et al. 1994). BLEWETT (1989) wies in einem Gramm Durchfallkot 5 Millionen Oozysten nach. Für eine Infektion genügen einige 10 bis 100 Oozysten, die bei 20 Grad Celsius bis zu vier Monate infektiös bleiben können (PFISTER 2002). Nach HEINE und BOCH (1994) lassen sich in zwölf Monate altem Kot noch infektiöse Oozysten nachweisen.

Einen Hinweis auf extraintestinales Vorkommen von Kryptosporidien liefern DUBEY et al. (1990), welche den Parasiten in der Konjunktiva des Auges und im Respirationstrakt fanden. FLETA et al. (1985) wiesen den Erreger außerdem in der Gallenblase, den Lymphknoten, den Hoden, den Ovarien, dem Uterus und der Vagina nach.

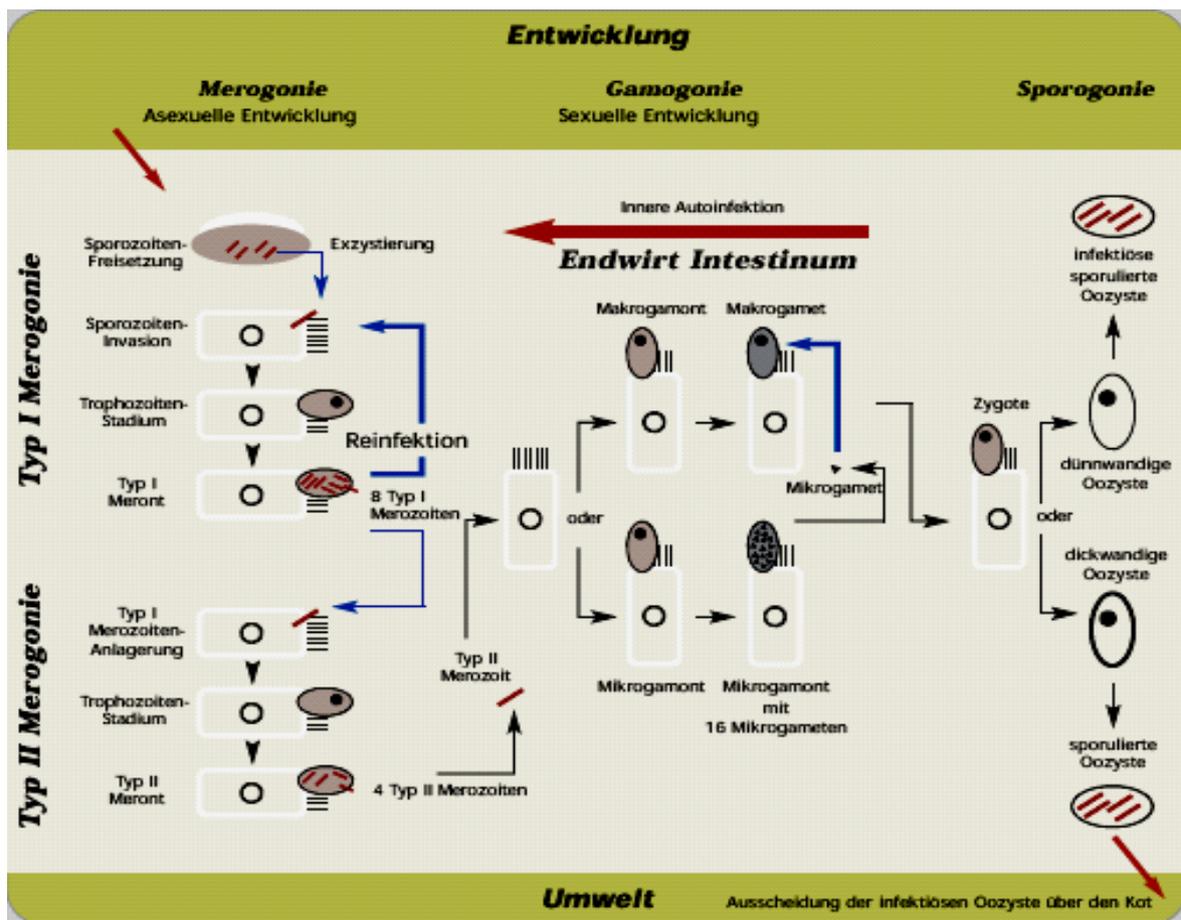


Abbildung 2: Entwicklungszyklus von Kryptosporidien (Quelle: Produktinformation Halocur®, Firma Intervet, Deutschland)

## 2.6 Pathophysiologie

Die durch Kryptosporidien hervorgerufenen pathophysiologischen Veränderungen erklären sich durch die Lage der Entwicklungsstadien. Durch die Anheftung an Epithelzellen der Darmzotten werden diese funktionell beeinträchtigt. Die Darmmukosa wird reduziert, die Oberfläche verkleinert, zahlreiche Mikrovilli gehen verloren und die Darmzotten atrophieren und fusionieren. HEINE et al. (1994) konnten signifikant kürzere Darmzotten bei befallenen Kälbern diagnostizieren. Dies führt zum Verlust wichtiger Verdauungsenzyme, was wiederum zur Folge hat, dass die Nahrungsverdauung, besonders die Spaltung von Zucker und Eiweißen, unzureichend ist. Es kommt zur Malabsorption (NAGY und POHLENZ 1982). Die im Darmlumen osmotisch aktiven Di- und Oligosaccharide binden somit Wasser und verursachen zwangsläufig eine osmotische Diarrhoe (DAHME und WEISS 1988).

Außerdem kommt es durch unzureichende Spaltung des Nahrungsbreis zur Fäulnis und Autolyse und damit zu einer pH-Verschiebung. Der Organismus versucht den pH-Wert durch vermehrte Abgabe von Flüssigkeit aus dem Körpergewebe in den Darm aufrecht zu erhalten, was aber zu einem Verlust lebenswichtiger Salze aus dem Gewebe führt. Die Flüssigkeitsabgabe in das Darmlumen und die entstandene pH-Wert-Verschiebung führen zur vermehrten Darmfüllung und Anregung der Peristaltik. Auch die Möglichkeit einer toxinbedingten sekretorischen Diarrhoe wird von CURRENT (1988) beschrieben.

Histologisch lassen sich die Schleimhautveränderungen vor allem im kaudalen Teil des Jejunums, des Ileums, teilweise auch im Colon erkennen. In diesen Bereichen können im Epithel und in der Lamina propria mononukleäre und vielkernige Entzündungszellen gefunden werden (HEINE et al. 1984, ECKERT et al. 1992). Außerdem ist eine Hyperplasie der Krypten und epitheliale Brücken und Fusionen benachbarter Zotten für eine Infektion mit *C. parvum* typisch (TENTER 2006).

## 2.7 Klinik

Die klinischen Symptome der Kryptosporidiose sind eher unspezifisch und lassen deshalb nicht sofort auf einen Befall mit dem Erreger schließen. Differentialdiagnostisch ist es klinisch nicht möglich, die *Cryptosporidium parvum* induzierte Diarrhoe von der neonatalen Kälberdiarrhoe auf der Basis einer Mischinfektion mit Rota- und Coronavirus zu unterscheiden (KRULL 1999).

Kryptosporidiose stellt eine bedeutende Jungtiererkrankung dar. Vorwiegend tritt die Erkrankung in den ersten vier Lebenswochen auf, wobei die Symptome häufig vom fünften bis 14. Lebenstag sichtbar sind. Der mit einem meist hohen Gewichtsverlust einhergehende profuse Durchfall kann über zwei bis 14 Tage anhalten. Die gelblich-grüne Farbe kann ein Indiz für das Vorliegen von *Cryptosporidium* sein (SCHNIEDER et al. 2006).

Nach DUBEY et al. (1990) sowie SIEBERT und GRÜNDER (1991) kann die Infektion subklinisch oder klinisch manifest verlaufen, wobei überwiegend Jungtiere im Alter bis zu zwei Wochen (SIEBERT und GRÜNDER 1991, ECKERT et al. 1992) erkranken. Eine Oozystenausscheidung kann bereits 24 Stunden nach Auftreten der ersten klinischen Symptome beobachtet werden (NACIRI et al. 1993). HEINE et al. (1986) beobachteten 48 Stunden *post infectionem* reduzierten Appetit, Vitalitätsverlust und Niedergeschlagenheit der Kälber. Durchfall und bei einigen Kälbern vorherrschende Anorexie stellen allgemein typische Symptome dar (NACIRI et al. 1993). Der einsetzende Durchfall geht mit starken Abdominalschmerzen einher. Der Geruch des Kotes ist über einen Zeitraum von 24- 48 Stunden stechend-faulig. Ab dem zweiten Durchfalltag kann der Kot mit frischem Blut versetzt sein (NAGY und POHLENZ 1982). Nach SCHULZ et al. (1989) variiert die Konsistenz des Kotes zwischen breiig-weich und dünnflüssig-wässrig. Während der akuten Phase ist die Konsistenz des Kotes eher dünnflüssig-wässrig und von graugrüner Farbe, wobei in der chronischen Verlaufsform ein pastöser, gräulicher, mit Schleim, Blut, Galle oder mit unvollständig verdauter Milch versehener Kot aufgefunden werden kann (NAGY und POHLENZ 1982, HENRIKSEN und KROGH 1985 b, NACIRI et al. 1993).

Tiere mit starkem Durchfall werden schnell apathisch und exsikkotisch (NACIRI et al. 1993). FAYER (1997) verzeichnete als weiteres Symptom fiebrige Zustände der Kälber. Je nach Schwere der Infektion und Dauer des Durchfalls kann es zur Heilung oder zum Tod des Tieres kommen (SCHULZ et al. 1998). Je länger der Durchfall anhält, umso bedrohlicher kann die Exsikkose und Dehydratation werden. Von insgesamt 122 mit *C. parvum* infizierten Kälbern wurde bei 30% aller Kälbersektionen eine hochgradige Dehydratation diagnostiziert. Etwa die Hälfte der Tiere waren älter als 14 Tage (HENRICKSEN und KROGH 1985b).

Bei bis zu 100% Morbidität kann die Mortalität 50% und mehr erreichen. Die Auswirkungen einer Maldigestion und Malabsorption führen schnell zu einem erheblichen Gewichtsverlust, damit verbundener Schwäche bis hin zum Festliegen der Tiere in Seitenlage (SCHULZ et al. 1989).

Kryptosporidien verschlimmern gerade in Betrieben mit mangelhafter Hygiene die Situation oft weiter da eine Verbreitung des Erregers schneller und einfacher auftreten kann (RADEMACHER 2000). Ein zusätzlicher Aufwand für die Hygienemaßnahmen und tierärztliche Betreuung der Tiere ist nicht zu unterschätzen und erforderlich, um den Infektionsdruck zu minimieren (DE GRAAF et al. 1999). Da die Ansteckung durch das Personal, Stallgeräte und die Einstreu der Buchten erfolgen kann, spielt das Betriebsmanagement eine bedeutende Rolle (DE GRAAF 1999). Zusätzlich stellen Fliegen einen Vektor der Übertragung dar (GRACZYK et al. 2000, GRACZYK et al. 2002).

## **2.8 Zoonotisches Potential**

Die Infektion mit Kryptosporidien ist auf allen Kontinenten beim Menschen beschrieben worden. In industrialisierten Ländern Europas und Nordamerikas werden Prävalenzraten von 1-3 % und in weniger entwickelten Ländern Asiens und Afrikas von 5 -10 % beschrieben. Die höheren Werte in Entwicklungsländern sind besonders auf die mangelhaften hygienischen Bedingungen zurückzuführen. Das Fehlen von sauberem Trinkwasser und sanitären Anlagen stellen häufige Infektionsursachen dar (CURRENT und GRACIA 1991). Auch Lebensmittel, z. B. Rohmilch und einige Wurstwaren, Badegewässer und sehr enger Kontakt zum Tier sind Infektionswege (CASEMORE 1990).

Oft wird eine signifikant höhere Prävalenz bei Kindern als bei Erwachsenen berichtet. Immungeschwächte (HIV-infizierte, ältere Menschen, Kleinkinder) Personen zeigen gelegentlich eine sehr schwere Verlaufsform, welche bis zum Tode führen kann (MEHLHORN 1993). Die größte bislang aufgetretene Epidemie ereignete sich 1993 in Milwaukee (USA) mit über 400.000 Erkrankten, davon 4.000 krankenhausbedürftigen Personen (MAC KENZIE et al. 1994). Verseuchtes Trinkwasser stellte damals die Infektionsquelle dar.

Der Erreger wird durch orale Aufnahme von fäkal von Mensch und Tier ausgeschiedenen Oozysten übertragen. Deshalb liegt eine besondere zoonotische Gefährdung bei Metzgern, Bauern und Tierärzten (MEHLHORN 1993). Als Symptome sind 3-12 Tage nach der Infektion starke Bauchkrämpfe und heftiger, wässriger Durchfall spürbar. Schon 4 Tage *p. i.* können Millionen Oozysten im Durchfallkot enthalten sein. Ansonsten gesunde Personen erkranken selten lebensbedrohlich, im Gegensatz zu stark immungeschwächten Menschen, scheiden jedoch noch bis zu zwei Wochen Oozysten aus. Wichtig ist die symptomatische Therapie des Elektrolytverlustes. In Deutschland reduzieren hohe Anforderungen an die Trinkwasserqualität das Risiko einer Infektion mit *C. parvum* in der Bevölkerung (MEHLHORN und PIEKARSKI 1993).

## **2.9 Nachweis des Erregers**

Am lebenden Tier kann die Diagnose durch den Nachweis der im Kot vorhandenen Oozysten erfolgen (SCHNIEDER und TENTER 2006). Dazu werden frische Kotproben entnommen, wobei das Volumen eines Kaffeelöffels ausreichend ist (NAGY 1982).

Als koproskopischer Nachweis der Oozysten eignen sich Kotasstrichpräparate wie zum Beispiel:

- Methanolfixierung mit Giemsa- Färbung (POHLENZ et al. 1978, HEINE und BOCH 1981, TZIPORI 1981, HENRIKSEN 1981),
- Modifizierte Ziehl- Neelson- Färbung (HENRIKSON und POHLENZ 1981, GACIA et al. 1983),
- Karbolfuchsin- Nativ Technik (HEINE 1982),

- Methylenblau- Saranin- Färbung (GÜNTHER 1983, BAXBY und BUNDELL 1983),
- Modifizierte PAS- Färbung (HOREN 1983).
- May- Grünwald- Giemsa- Färbung (PETERS 1982)
- Modifizierte Köster- Färbung (HENRIKSEN 1981, KAGERUKA et al. 1984).

Als Anreicherungsverfahren aus Kotmaterial eignen sich zum Beispiel die:

- kombinierte Sedimentations- Flotations- Technik (PETERS et al. 1982)
- Flotationsverfahren mit Kochsalz- oder Zuckerlösung (ANDERSON 1981) und Interferenzkontrastmikroskopie (HEINE und BOCH 1981) oder Phasenkontrastmikroskopie
- Flotation mit gesättigter Zinksulfatlösung sowie Brezalösung (PAVLASEK 1982a)

Außerdem kann frisches aus der Dünndarmschleimhaut gewonnenes Biopsiematerial licht- oder elektronenmikroskopisch untersucht werden (BOOTH 1980, LE CHARPENTIER et al. 1982).

Eine in vielen Labors gebräuchliche Methode für den Nachweis des Erregers aus dem Kotmaterial stellt die HEINE-Färbung dar (HEINE 1982). In diesem Nachweisverfahren wird ein Tropfen Kot mit gleicher Menge Kabolfuchsin vermischt und auf einem Objektträger dünn ausgestrichen, luftgetrocknet und bei 400-facher Vergrößerung mikroskopisch betrachtet. Man kann hier die Oozysten als kleine, kreisrunde, nicht gefärbte, lichtbrechende Gebilde auf rot-orangem Hintergrund erkennen.

Für die zoonotische Abklärung ist die PCR mit oder ohne Genotypisierung zum Nachweis geeignet (IBEN 2001). Die DNA kann mit einem kommerziellen Kit (QIAamp® DNA Stool Mini Kit, Firma Quiagen, Hilden) aus Kotproben extrahiert werden (KEIDEL 2007).

Weiterhin gibt es Schnelltests zum Nachweis der Kryptosporidien. Diese Tests beruhen auf dem Verfahren der Immunochromatographie, wobei die Teststreifenmembran mit monoklonalen Antikörpern beschichtet ist und im positiven Fall eine rote Linie sichtbar wird (Schnelltest BIO K 155, Firma BIO X Diagnostics, Jemelle (Belgien)).

Mit dem ELISA ProSpect®- Testbesteck (Remel, Lenexa, USA) ist eine Nachweismöglichkeit für *Cryptosporidium* spezifisches Antigen in Kotproben möglich (KEIDEL 2007).

GEURDEN et al. untersuchten die Spezifität und Sensitivität zwischen IFA, ELISA und immunochromatographische Schnelltests. Sie kamen zu dem Ergebniss, dass sich alle drei Nachweismethoden nur gering in Sensitivität (IFA 94,8%, ELISA 95,6%, dipstick 91,5%) und Spezifität (IFA 97,4%, ELISA 93,6%, dipstick 87,8%) unterscheiden und somit kommerzielle Schnelltests eine gute Alternative zu labor-diagnostischen Möglichkeiten sind (GEURDEN T et al.2008).Der postmortale Nachweis gelingt zum Beispiel mittels Schnittpräparaten aus dem Ileum, welche anschließend licht- oder elektronenmikroskopisch untersucht werden können (PARCIERA et al. 1971). POHLENZ et al. (1982) stellten fest, das der histologische Nachweis der Kryptosporidien in Darmschnitten nach zwölfstündiger Autolyse bei Raumtemperatur nicht mehr gelingt. Verschiedene Entwicklungsstadien von *C. parvum* können anhand von gefärbten Tupferpräparaten der Dünndarmschleimhaut (Ileum) oder im histologischen Schnitt beim verendeten Tier nachgewiesen werden (SCHNIEDER et al. 2006).

## **2.10 Immunologische Bekämpfung**

Eine symptomatische Therapie ist bei schweren Durchfallgeschehen unumgänglich. Dazu gehören besonders der Ausgleich des Flüssigkeits- sowie Elektrolytverlustes (IBEN 2001).

Im Feldversuch wurde eine Vakzinierung mit inaktivierten Oozysten an einer natürlich infizierten Kälbergruppe durchgeführt. Gleichzeitig fand innerhalb der ersten zehn Lebenstage eine Gabe von Milchsäure-bildenden Bakterien bei einer anderen Kälbergruppe statt. Beide Tiergruppen zeigten keinerlei Verbesserung hinsichtlich der Syptome mit Kryptosporidien (HARP et al. 1996)

In einer anderen Studie erhielten Kälber in den ersten Lebensstunden Hyperimmun-Kolostrum von Kühen, welche einige Wochen vor Ende der Trächtigkeit Oozysten i.m. und ins Euter (*i.z.*) verabreicht bekamen. Die Oozystenausscheidung und die Dauer des Durchfalls waren geringer als in der Kontrollgruppe. Jedoch waren selbst diese Kälber vor einer Infektion nicht geschützt (FAYER et al. 1989).

HARP et al. (1996) verabreichten in einem weiteren Versuch Kälbern im Verlauf von sieben Tagen Kolostrum von Kühen, die zuvor mit *C. parvum* Oozysten i.m. infiziert wurden. Im Ergebnis gab es keine Veränderung in der Ausprägung der Kryptosporidiose im Vergleich zu Kälbern, welche Kolostrum gesunder Kühe erhielten. Beide Gruppen hatten Durchfall und zeigten eine Oozystenausscheidung.

Eine deutlich geringere Oozystenausscheidung und eine bessere Gewichtsentwicklung zeigten Lämmer, deren Mütter mit DNA Impfstoff intranasal immunisiert wurden. Auf welchen Wege letztendlich die Immunität übertragen wurde, ist nicht bekannt, da sowohl im Kolostrum als auch im Serum der Muttertiere Antikörper gegen *C. parvum* gefunden wurden (SAGODIRA et al. 1999).

### **2.11 Medikamentelle Bekämpfung**

Die meisten gegen Kokzidien gerichteten Präparate zeigten sich wirkungslos oder wirkten erst in hohen, toxischen Dosen, wie Lasalocid-Natrium in einer Dosis von 3 mg/kg LM (GÖBEL 1986). Lasalocidbehandlungen führten nachweislich zu einer deutlichen Reduzierung der Ausscheidung an Oozysten durch Zellwanddefekte an allen Parasitenstadien (GÖBEL und SCHNEIDER 1985). Die schweren Nebenwirkungen, wie beispielsweise Dyspnoe infolge von Lungenödemen, verhinderten jedoch einen breit angelegten therapeutischen Einsatz. Im Versuch von MOON et al. (1982b) verendeten sechs von zehn Kälbern nach Lasalocidbehandlung oder mussten aufgrund der schwerwiegenden Symptomatik euthanasiert werden. Ebenso zeigten VARGA et al. (1995), dass weder Lasalocid noch Monensin, Narasin oder Salinomycin eine Reduzierung der Oozystenausscheidung zur Folge haben. CASTRO-HERMIDA et al. (2002) bewiesen eine komplette Unterdrückung der künstlich induzierten Kryptosporidieninfektion im Versuch an neugeborenen Mäusen. Die Mäuse bekamen alle zwölf Stunden 6,75 mg/kg KGW Lasalocid. Die Unterdrückung konnte nur beobachtet werden, wenn die metaphylaktische Applikation ab eine Stunde vor der Inokulation oder als Therapie beginnend am dritten Tag nach der Inokulation der Oozysten erfolgte. Lasalocid fand auch Einsatz in Ankara als Behandlungsversuch bei natürlich infizierten Kälber. Nach dreitägiger Gabe von 8 mg/kg KGW Lasalocid-Natrium ging die Oozystenausscheidung bei den meisten

der elf behandelten Kälber zurück. Ein Kalb der Untersuchungsgruppe starb jedoch an den Folgen einer klinischen Kryptosporidiose (SAHAL et al. 2005).

POWELL et al. (1976) beschrieben verschiedene Antibiotika und Sulfonamide als wirksam, was MOON et al. (1982 b) sowie GÜNTHER (1982, 1986) dementierten. ANGUS et al. (1984) behandelten ebenso erfolglos Lämmer mit Trimethoprin und Sulfadiazin, ergänzt durch parenterale Gabe von Oxytetracyclin. PAVLASEK et al. (1983) sowie FISCHER (1983) konnten mit Sulfonamiden keinen Effekt auf die Kryptosporidienausscheidung erzielen. Eine Reduzierung konnte lediglich im Versuch mit Mäusen bei Behandlung mittels Arprinocin, Salinomycin, Sulfaquinoxalin und Dinitolmid erreicht werden (ANGUS et al. 1984).

In einer anderen Studie erhielten immunsupprimierte Ratten über 11 Tage hinweg 120 mg/kg KGW Sulfadimethoxin pro Tag über das Trinkwasser und Futter. Behandelte Tiere zeigten signifikant weniger Parasitenstadien pro Villus in der Darmsektion der letzten zwei cm Ileum als die Kontrollgruppe (REKG et al. 1988). FAYER (1992) verabreichte neugeborenen, mit *C. parvum* infizierten Kälbern 5 g Sulfadimethoxin über 21 Tage und konnte keine therapeutische Wirkung beobachten.

Diclazuril und Toltrazuril aus der Gruppe Benzenacetonitrile zeigten keine ausreichende Reduktion der Oozystenausscheidung (SRETER et al. 1999).

Aminoglykoside wie Paramomycinsulfat bewirkten nach einer zehntägigen Behandlung *post partum* in einer Dosis von 100 mg/kg KGW eine Verzögerung der Oozystenausscheidung und des Durchfallgeschehens. Nachdem das Medikament abgesetzt wurde, begann auch der Durchfall und die Oozystenausscheidung erneut (GRÜNBERG et al. 2002).

MOON et al. (1982) setzten einen Ornithin- Dekarboxylasehemmer ohne Erfolg bei Ferkeln ein. Erfolglose Therapiemaßnahmen mit Sulfonamiden, Furazolidon, Metronidazol und Tetracyclinen wurden auch in der Humanmedizin beschrieben (BOOTH und DONIACH 1980; SLOPER et al. 1982). VELDHUYZEN VAN

ZANTEN et al. (1984) setzten hingegen Amprolium erfolgreich bei zwei HIV-infizierten Patienten ein.

Die Wirksamkeit von Decoquinat gegen Kryptosporidien wurde in einer französischen Studie bei künstlich infizierten Ziegenlämmern beobachtet. In der Studie wurden 2,5 mg/kg KGW Decoquinat den Lämmern für 21 Tage täglich oral verabreicht. Es konnte eine Verringerung der durchschnittlichen Oozystenausscheidung von 14,1 auf 11,6 Tage nachgewiesen werden (MANCASSOLA et al. 1997).

In einer amerikanischen Studie wurden experimentell infizierten Kälbern täglich 2 mg/kg KGW Decoquinat über den Milchaustauscher verabreicht, wodurch weder die Oozystenausscheidung noch die Durchfalldauer gegenüber der Kontrollgruppe reduziert wurden (MOORE et al. 2003). LALLEMAND et al. verglichen in einer Studie von 90, sieben bis zehn Tage alten Kälbern Halofuginon-hydrobromid und Decoquinat. Dreißig Tiere erhielten sieben Tage täglich 100mg/kg KGW Halofuginon-Hydrobromid und 30 Tiere 2,5mg/kg KGW sieben Tage täglich Decoquinat oral. Am siebten, 14., 21. und 28. Tag wurde der Kot auf Oozysten untersucht. Die Kotbeschaffenheit und der Dehydratationsgrad wurden täglich beurteilt. Im Ergebnis zeigte Halofuginon eine Reduzierung der Oozystenausscheidung im Gegensatz zu Decoquinat. Jedoch konnte bei beiden Medikamenten kein Einfluss auf die Durchfallsymptomatik und den Dehydratationsgrad nachgewiesen werden (LALLEMAND et al. 2006).

Große Aufmerksamkeit erhielt das Anthelmintikum Nitazoxanid in der Humanmedizin. Der Einsatz bei immunsupprimierten Menschen zeigte eine deutliche Hemmung (93%) der Entwicklung von *C.parvum*. Paromomycin erzielte dagegen nur eine Hemmung von 82%. Die folgenden Behandlungsversuche an Mäusen und Ferkel zeigten keine zufriedenstellenden Ergebnisse, da im Verlauf der Durchfall unverändert war (THEODOS et al. 1998).

Das einzige derzeit auf EU-Ebene zugelassene Arzneimittel für die Veterinärmedizin speziell für das Kalb ist Halocur® mit dem Inhaltsstoff Halofuginon-Laktat. Halofuginon ist ein bromo-chloriniertes Chinazolinonderivat (STEUBER und KROKER 1999, LINDSAY und BLAGBURN 1995), das aus dem Wurzelextrakt (Alkalo-

id) von *Dichroae febrifuga* gewonnen wird (SCHOLTYSIK und STEUBER 2003). Es ist chemisch in die Gruppe der Quinazolidone einzuordnen.

In den 1990er Jahren wurde die Wirkungsweise von Halofuginon verschiedentlich untersucht. NACIRI et al. (1993) testeten Halofuginon in unterschiedlicher Dosierung (30, 60 oder 120 mg/kg LM, *p.i.*, vom zweiten bis achten Lebenstag), wobei für die niedrigste Dosis kein Einfluss auf den Durchfall gezeigt werden konnte. Bei Anwendung von 60 mg/kg LM konnten pastöse Durchfälle beobachtet werden. Bei 120 mg/kg LM wurden aber weder wässrige noch pastöse Diarrhoe sowie eine deutliche Senkung der Oozystenausscheidung registriert. PEETERS et al. (1993) konnten diese Ergebnisse bestätigen. KRULL (2003) zeigte, dass das Mittel besonders für Problembestände geeignet ist. In einer Studie, in der Halofuginon und Sulfadimidin in ihrer Wirkung verglichen wurden, stellten JOACHIM et al. (2003) fest, dass Halofuginon den Durchfall und die Dehydratation nicht komplett unterdrückt, die Anwendung jedoch zu einer wesentlichen Besserung der Situation führt.

Das heute auf dem Markt befindliche Handelspräparat Halocur® (Intervet, Unterschleissheim) ist eine gelbe, homogene und klare gebrauchsfertige Lösung, welche unter anderem Benzoessäure zur antimikrobiellen Stabilisierung sowie Tartrazin als Farbstoff enthält, um bei der oralen Administration über Milch eine Überdosierung zu vermeiden. Die Anwendung erfolgt beim Kalb oral zur Pro- und Metaphylaxe in mit dem Erreger nachweislich befallenen Betrieben. Die Behandlung sollte in den ersten 24 bis 48 Lebensstunden erfolgen. Um eine Verminderung des Durchfalls bei diagnostiziertem Befall zu erreichen, muss die Behandlung innerhalb von 24 Stunden nach Einsetzen der Symptome beginnen. Dabei sind alle Kälber, die Kontakt mit an Durchfall erkrankten Neugeborenen hatten, sowie alle im Bestand neugeborenen Tiere in gleicher Weise zu behandeln (SCHOLTYSIK und STEUBER 2003).

Kälber mit einer Lebendmasse zwischen 30 und 45 kg erhalten einmal täglich 8 ml Halofuginon an sieben aufeinander folgenden Tagen, Kälber mit 45 bis 60 Kilogramm Lebendmasse bekommen 12 ml verabreicht. Ist die Körpermasse niedriger oder höher, muss eine genaue Dosisanpassung erfolgen (2 ml/10 kg LM oder 100 µg Halofuginon/kg LM). Die orale Gabe sollte möglichst zur gleichen Tageszeit und

nach dem Trinken getätigt werden. Tiere, die länger als 24 Stunden an Durchfall leiden, sollten von der Behandlung ausgeschlossen werden. Die therapeutische Breite von Halofuginon liegt im Hinblick auf die Unbedenklichkeit im Falle einer Überdosierung bei der doppelten Dosis. Diese geringe therapeutische Breite des Medikamentes ist bei der täglichen Dosisberechnung zu berücksichtigen. Die Dosis sollte strikt eingehalten werden, zumal das Mittel nur langsam aus dem Körper eliminiert wird (SCHOLTYSIK und STEUBER 2003). Im Falle einer Überdosierung, welche sich durch blutigen Kot, Rückgang der Futteraufnahme, Apathie und Dehydratation äußert, muss die Behandlung sofort abgebrochen werden. Bei Anwendung der dreifachen normalen Dosis traten Todesfälle auf.

Betroffene Tiere sind mit unverdünnter Milch oder Milchaustauscher zu tränken sowie in Abhängigkeit von der Schwere des Krankheitsgeschehens per Infusion zu rehydrieren (KRULL 1999). Die Rückstandskonzentration von Halofuginonlaktat wurde in Muskulatur, Fett, Leber und Niere 5, 10 und 15 Tage nach siebentägiger Gabe gemessen, wobei am Tag 10 die Werte für Muskulatur und Fettgewebe unterhalb der Nachweisgrenze von 10 ng/g und somit deutlich unter dem MRL Wert von 30 ng/g lagen. Am Tag 15 befanden sich auch die Werte für Leber und Niere unterhalb dieser Grenze. Die Wartezeit für essbares Gewebe beträgt 13 Tage (KRULL 1999).

## 2.12 Hygienische Maßnahmen

Nach KASKE und KUNZ (2003) ist das Hygienemanagement für die Kontrolle der Kälberkryptosporidiose von entscheidender Bedeutung. PFISTER (2002) gibt eine Liste von Vorschlägen für die Lösung des Problems an, in welcher die regelmäßige Reinigung und Desinfektion der Kälber- und Abkalbeboxen neben Kolostrumgabe, Mutterschutzimpfungen gegen andere Erreger wie *E. coli*, Rota- und Coronavirus, eine wesentliche Bedeutung haben. Erkrankte Kälber sollten von gesunden getrennt aufgestellt werden, da erstere massiv Oozysten ausscheiden können (KASKE, KUNZ 2003). Die Behandlung sollte immer alle Tiere erfassen, dabei aber erst an gesunden Tieren und danach an kranken Tieren erfolgen, um eine Verschleppung von Oozysten zu vermeiden. Eine Stiefel- und Kleiderreinigung oder -desinfektion müssen nach dem Kontakt mit kranken Tieren durchgeführt werden. Weiterhin muss auf eine Reinigung der für die Fütterung erforderlichen Gerätschaften und Einrichtungen geachtet werden. Besondere Risiken bestehen in Betrieben ohne geregelte Lüftung und mit unzureichenden Erneuerung des Einstreus (MOHAMMED et al. 1999).

BOCH et al. (1982) schlugen den Einsatz von kochendem Wasser (Dampfstrahlgerät) zur Reinigung der Kälberbuchten vor. FAYER und LEEK (1984) zeigten im Versuch mit Mäusen, dass Oozysten, welche eine Minute mindestens 72,4°C oder zwei Minuten mindestens 64,2°C heißen Wasser ausgesetzt wurden, zu keiner Infektion führten. Die Mäuse der Kontrollgruppe wurden mit Oozysten infiziert, welche zuvor auf Raumtemperatur erwärmten Wasser ausgesetzt waren. Alle Tiere entwickelten eine Infektion.

Eine stark reduzierte Infektiösität konnte in einer amerikanischen Studie nach der Bestrahlung von oozystenhaltigem Trinkwasser mit UV- Licht beobachtet werden. In einer Dosierung von 10 mJ/cm<sup>2</sup> erwies sich die Bestrahlung als effektiv (CLANCY et al. 2004).

STEIN et al. 1983 prüften vier Desinfektionsmittel (Dekaseptol® und Meysept GS® (Schwefelkohlenstoff, Phenol, Chloroform), Lysococ® (Schwefelkohlenstoff und Phenol), Inicoc® (Phenole, Alkohole, Perchloräthylen)) auf die Wirksamkeit gegen Kryptosporidien, wobei keines der Mittel eine ausreichende

Oozystenabtötung bewirkte. Eine geringe Wirksamkeit konnte bei Meysept® beobachtet werden.

Der Einsatz von Branntkalk (Calciumoxid) in Konzentrationen von 1%, 5% und 10% zeigte nach ZINTL et al. (2010) eine Abnahme der Lebensfähigkeit der Oozysten.

Das Desinfektionsmittel Neopredisan® ist heute im Zusammenhang mit der Halofuginongabe das Desinfektionsmittel der Wahl. Neopredisan® enthält als Wirkstoff 4-Chlor-m-Kresol und ist gut biologisch abbaubar. In einer Verdünnung von 3 % und einer Einwirkzeit von einer Stunde ist es gemäß eines Gutachtens des Institutes für Parasitologie der Humboldt Universität Berlin (PROF. DR. DR. H.C. TH. HIEPE, DR. MIELKE 1998) wirksam. In einer Titrationsreihe zur Bestimmung der *in-vitro* Infektiosität von *C. parvum* für HCT-8-Zellen reduzierte das Desinfektionsmittel ab einer Konzentration von 0,25% die Lebensfähigkeit der Oozysten von *C. parvum* auf unter 1% (JOACHIM et al.2003a). Eine einmalige Desinfektion der Kälberställe mit 3% Neopredisan ohne gleichzeitige Halofuginonbehandlung führte jedoch nicht zu einer ausreichenden Erregerverdünnung, um die Oozystenausscheidung oder Klinik der Erkrankung zu beeinflussen (KEIDEL 2007).

## **3 Tiere, Material und Methode**

### **3.1 Betrieb**

Die der Studie zugrunde liegenden Versuche wurden in der Kälberanlage der Agrargenossenschaft Ulstertal e. G., OT Bremen, Kranluckerstrasse 18, 36419 Geisa (Rhön) durchgeführt. Im Betrieb sind 703 Rinder und 607 Kälber aufgestellt. Im Jahr 2007 fanden 784 Abkalbungen statt. Die aktuelle Milchleistung (2007) liegt durchschnittlich bei 7840 Liter (4,1% Fett, 3,44% Eiweiß).

### **3.2 Tiere**

Alle Kälber der Versuchsgruppen gehören der Rasse Schwarzbuntes Milchvieh an und befanden sich in einem separaten Gebäude auf dem Gelände des Studi-

enbetriebes. Alle frisch geborenen Kälber werden einzeln oder zu zweit nach erfolgter Kolostrumaufnahme von dem Reproduktionsteil (Abbildung 3a) in die Kälberanlage verbracht. Sie verbleiben somit höchstens einen halben Tag im Reproduktionsstall. In der Kälberanlage sind die männlichen Tiere bis zum 6. Lebensmonat aufgestallt und werden anschließend in den 2 km entfernten Mastbetrieb transportiert. Die weiblichen Tiere hingegen werden für die eigene Aufzucht in dem Betrieb der Agrargenossenschaft aufgestallt. Für die Studie standen 123 Kälber, davon 62 Tiere männliche und 61 Tiere weibliche Tiere zur Verfügung.

### **3.3 Haltung und Fütterung der Kälber**

#### **3.3.1 Haltung**

Die Kälber werden in einem tief mit Stroh eingestreuten Laufstall geboren. Der Stall bietet für jedes Muttertier ausreichend Platz stressfrei abzukalben. Nach erfolgter Kolostralmilchaufnahme (Euter oder Nuckeleimer) sowie Neugeborenenpflege, werden die Tiere ca. sechs Stunden *post partum* in einer sauberen Transportkiste in den auf dem Betriebsgelände befindlichen Kälberstall verbracht.

Dort gelangen sie in einen der zwölf ca. 42 qm großen Räume (K0 Bereich) (Abbildung 3b), welche für 20 Kälber jeweils ausreichend Platz bieten. Die Räume sind mit Betonfußboden und Betonwänden sowie einer unmittelbar unter der Decke befindlichen Fensterzeile und einem dort angebrachten Ventilator für die Frischluftzufuhr ausgestattet. Zutritt zum Raum erhält man nur über eine Holzschiebetür (Abbildung 3c), welche von einem ca. 100 m langen Flur/ Gang des Gebäudes ausgeht (Abbildung 3d).

Die Kälberställe sind tief mit Stroh eingestreut. Alle zwei Wochen wird das Stroh in den Buchten gegen frisches Stroh ausgetauscht. Die Tränkeversorgung erfolgt über den Milchautomaten (DeLeval Kälbertränkeautomat, CF 2000 Pulver und Kombi, Engen). Außerdem stehen eine zusätzliche Wassertränke und eine Heuraufe zur freien Verfügung der Kälber. Die Futteraufnahme bzw. die Trinkmenge jedes Kalbes wird täglich per Computer erfasst. Der Transponder, welcher diese Daten individuell für jedes Tier erfasst, befindet sich in den Halsbändern der Kälber. Die Tiere bleiben zwei bis vier Wochen in diesen Buchten und werden anschließend je nach Anzahl neugeborener Kälber in einer weiteren Bucht aufgestallt.

Vor jeder Neubelegung der Buchten erfolgt eine Reinigung mittels Kärcher (Kärcher 720 MX, Rotationsdüsen, Illingen) ohne zugefügtes Reinigungsmittel und eine Desinfektion mittels Neopredisan® (Menno Chemievertrieb GmbH, Norderstedt). Die gereinigten Buchten lagen zwei Tage brach. Mit Erreichen des ca. 80. Lebenstags werden die Kälber abgesetzt und in den K1- und darauf folgend in den K2-Bereich umgestallt (Abbildung 3a). Dort befinden sie sich wieder in Gruppen von ca. 20 Tieren pro Bucht. In diesen Bereichen sind die Räume nicht geschlossen, es existieren mehrere Abteile, welche durch Metallzäune und Türen voneinander getrennt werden (Abbildung 3f). Die Kälber werden erst mit einem halben Jahr in die Nachbarbetriebe umgestallt, um dort entsprechend ihres Nutzungsziels weiter betreut zu werden.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

**Abbildung 3: Studienbetrieb: (a) Bucht im Abkalbestall, (b) K0 Bereich, (c) Schiebetüren zu den Kälberbuchten (K0 Bereich), (d) Flur zu den Kälberbuchten, (e) K1/K2 Abteile, (f) K1**

### 3.3.2 Fütterung

An den ersten drei Lebenstagen erhalten die Kälber mehrmals täglich bis zu drei Liter Kolostrum. Die erste Kolostrumaufnahme erfolgt nach der Geburt am Euter der Mutter und anschließend über die Automaten (DeLaval Kälbertränkeautomat, CF 2000 Pulver und Kombi, Engen) der Kälberanlage in welche die Kälber ca. sechs Stunden nach der Geburt transportiert werden. Im K0-Bereich des Kälberstalls wird die Fütterung eines Milchaustauschers (MAT) über die oben genannten Automaten getätigt. Dieser MAT (Kälberstarter Bremen, Kornhaus Vertriebs-GmbH, Kassel) ist ein Milchaustauschfutter für Aufzuchtkälber und wird dem Alter der Kälber entsprechend in steigenden Anteil der Milch zugesetzt (Tabelle 2). (Zusammensetzung MAT: 37,5% pfl. Molkenfettkonzentrat, 15% Sojabohnenproteinkonzentrat, 10% Molkenpulver, teilentzuckert, bis 3% Kaseinat Na/ Ca, bis 0,67% L-Lysin-HCL, bis 0,5% Weizenquellstärke, bis 0,32% DL Methionin, 22% Rohprotein, 0,7% Rohfaser, 19% Rohfett, 7,8% Rohasche, 1,2% Calcium, 0,6% Phosphor, 2,1% Lysin). Die verwendete Milch stammt von frisch abgekalbten Kühen und wird täglich den Automaten zugesetzt.

**Tabelle 2: Zusammensetzung der Kälbertränke für Milch und Milchaustauscher (MAT) bis zum 80. Lebenstag**

Alter der Kälber [d]	Milchanteil der Tränke [%]	MAT-Anteil der Tränke [%]
10	90	10
15	80	20
20	70	30
40	50	50
80	0	100

Die Trinkmenge der Kälber wird in den ersten acht Tagen von 3 Liter auf 5 Liter, bis zum 13. Lebenstag von 5 Liter auf 6 Liter, bis zum 17. Tag von 6 Liter auf 7 Liter und letztendlich bis zum 22. Lebenstag auf ca. 8 Liter gesteigert. Weiterhin stehen allen Kälbern des K0- und K1-Bereiches ab dem 16. Lebenstag Pellets, Getreideschrot, Heu und Maissilage sowie Wasser *ad libitum* zur Verfügung.

## **3.4 Impfungen**

### **3.4.1 Impfungen der Kälber**

Alle Kälber werden im Alter von 14 Tagen mit dem IBR Marker Impfstoff BOVILIS® IBR (Intervet, Unterschleißheim) *intranasal* geimpft. Eine Wiederholungsimpfung erfolgte im Alter von drei Monaten *intramuskulär* und anschließend halbjährlich. Eine weitere Impfung gegen Trichophytie (TRICHOVAC®LFT 130 Impfstoffwerk Dessau -Tornau GmbH, Rodleben) wird ca. zwei Wochen im Anschluss der IBR Impfung durchgeführt und 10-14 Tage später geboostert.

### **3.4.2 Impfung der Muttertiere**

Jedes Muttertier wird sechs bis acht Wochen *a. p.* und zwei Wochen vor dem errechneten Abkalbetermin mit TRIVACTON® (Merial, Hallbergmoos), einem Kombinationsimpfstoff gegen *E. coli* (F5/K99, Y, 31A, F41) Rotavirus und Coronavirus, vakziniert. Die IBR Impfung erfolgt laut Sanierungsprogramm alle sechs Monate mit dem gleichen Impfstoff, welcher zur Grundimmunisierung der Kälber genutzt wird.

## **3.5 Versuchsaufbau/Plan**

Im Vorfeld der Untersuchung erfolgte eine stichprobenartige Voruntersuchung von 20 zufällig gewählten Kälbern im Alter von einem bis 28 Tagen. Von diesen Kälbern wurden über einen Zeitraum von 12 Tagen jeweils sechs Kotproben rektal entnommen. Die Kotprobenentnahme erfolgte jeden zweiten Tag. Anschließend wurde die Kotprobe mittels Heine-Färbung zum Nachweis von Oozysten bearbeitet. Danach wurden die Oozysten auf dem Objektträger in zehn zufällig ausgewählten Blickfeldern unter dem Mikroskop ausgezählt und der Mittelwert der Oozystenanzahl gebildet.

Die Hauptuntersuchung umfasste einen Beobachtungszeitraum vom ersten bis zum 28. Lebenstag der Kälber. Die zu untersuchenden Kälber wurden in zwei Gruppen wie folgt eingeteilt:

- Gruppe H+: Diese Tiere wurden in einer mittels Kärcher (Kärcher 720 MX, Illingen) gereinigten und anschließend mit Neopredisan® (Menno Chemie-Vertrieb GmbH, Norderstedt) desinfizierten Bucht aufgestellt. Zusätzlich wurden die Kälbern 24 bis 48 Stunden nach der Geburt beginnend für sieben Tage mit Halofuginon (Intervet, Unterschleißheim) behandelt,

- Gruppe H-: Diese Gruppe diente als unbehandelte Kontrolle. In den Buchten fand nur eine Reinigung mittels Hochdruckreiniger (Kaltwasser, ohne Reinigungsmittel) statt.

Die Tiere wurden nach ihrem Geburtstermin randomisiert auf die Gruppen verteilt. Insgesamt wurden 123 Kälber, davon 62 männliche und 61 weibliche Tiere untersucht. Neunundzwanzig männliche Tiere wurden der Gruppe H+ und 33 der Gruppe H- zugeteilt. Von den weiblichen Tieren wurden 33 Tiere der Gruppe H+ und 28 der Gruppe H- zugeordnet. Es wurden 62 Tiere mit Halofuginon behandelt und 61 Tiere bildeten die unbehandelte Kontrollgruppe. Alle Tiere blieben für 28 Tage in der für sie vorgesehenen Bucht.

### **3.5.1 Wiegen der Tiere**

Alle Tiere wurden wöchentlich im Zeitraum von 28 Tagen, beginnend am ersten Lebenstag, gewogen. Als die Tiere ca. ein halbes Jahr alt waren, kurz bevor die männlichen Kälber aus dem Bestand verbracht werden sollten, fand eine zusätzliche fünfte (25. Lebenswoche) Wiegung statt. Die erste Gewichtbestimmung jedes Kalbes fand am ersten Lebenstag statt. Die verwendete Waage „FX 15“ ist ein elektronisches Messgerät (Texas Trading, Windach) für ein Gewicht von 0 kg bis 2000 kg. Die Genauigkeit des Gerätes liegt bei +/- 0,5% des angezeigten Gewichtes. Jedes Tier wurde einzeln auf die Plattform des Wiegekäfigs gestellt und anschließend das Gewicht auf dem Waagenmonitor abgelesen und mit der Ohrmarke des Tieres notiert.

### **3.5.2 Reinigung und Desinfektion**

Alle Kälberbuchten wurden vor jeder Neubelegung mit einem Hochdruckreiniger „Kärcher 720 MX“ (Kärcher, Illingen) gesäubert. Der Kärcher war mit Rotationsdüsen ausgestattet und wurde an einen Kaltwasserhahn angeschlossen. Die Desinfektion der Buchten, in welche die Kälber der Gruppe H+ aufgestallt wurden, erfolgte mit der im Lieferumfang des Desinfektionsmittels Neopredisan® enthaltenen Menno® (Menno Chemievertieb GmbH, Norderstedt) Pumpspritze. Diese wurde an einen Kaltwasserschlauch angeschlossen. Je nach entsprechend benötigter Verdünnungsstufe konnte eine Düse/ Dosierspitze an der Spritze montiert werden, so-

dass man eine Anwendungskonzentration von 3% erhielt. Desinfiziert wurden der gesamte Stallboden sowie Einrichtungsgegenstände, alle Wände bis auf ca. 1,50 Höhe und die Türen über eine Dauer von zwei Stunden. Vor jedem Stallabteil lagen Desinfektionsmatten, um eine Erregerverschleppung zu verhindern. An den Türen wurden Warnschilder, mit dem Hinweis, die Desinfektionsmatte und Einmalhandschuhe zu benutzen, angebracht. Die Buchten der Gruppe H- wurden intensiv mittels Kärcher gereinigt.

### **3.5.3 Kotprobenentnahme und Bewertung der Kotqualität**

Die Kotprobenentnahme der zur Studie zugehörigen Tiere erfolgte am 1., 4., 7., 10., 13., 16., 19., 22., 25. und am 28. Lebenstag. Zur Entnahme wurden die Kälber an der Wand fixiert und mittels Untersuchungshandschuh der Kot rektal entnommen. Im Anschluss wurde der Handschuh verknotet und mit der entsprechenden Ohrmarkennummer beschriftet, um dann in einem Sammelbehälter transportiert zu werden. Gleichzeitig wurde der Kot nach seiner Konsistenz wie folgt beurteilt:

0= normal (geformter bis pastöser Kot)

1= breiig mit einzelnen festen Bestandteile

2= dünnflüssig/ wässrig

### **3.5.4 Klinische Untersuchung**

An den Tagen, an welchen die Kotproben entnommen wurden (siehe 3.5.3), erfolgte eine intensive klinische Untersuchung der Kälber. Es wurden das Allgemeinverhalten, der Ernährungszustand, das Trinkverhalten, der Dehydratationsgrad und die Herzfrequenz sowie der Auskultationsbefund der Lunge beurteilt. Zusätzlich wurde die rektale Körpertemperatur gemessen und notiert. Die Beurteilung erfolgte wie folgt:

#### Allgemeinverhalten (Adspektion der Kälber)

1=ruhig und aufmerksam

2=apathisch

3=somnolent

4=komatös

### Ernährungszustand (Adspektion der Kälber)

1=gut bis sehr gut

2=vermindert

3=kachektisch

### Trinkverhalten (Auswertung der elektronischen Tränkegrafik)

1=normal

2=vermindert

3=trinkt nicht

### Dehydratationsgrad (Ziehen einer Hautfalte im Lid- bzw. Halsbereich der Kälber und Adspektion)

1=Hautelastizität erhalten

2=Hautelastizität vermindert

3=kein Verstreichen der Hautfalte (ingesunkene Augäpfel)

### Herzfrequenz (Auskultation)

X Schläge pro Minute

### Auskultation Lunge

1=ohne Befund (ggr. verschärftes vesikuläres Atemgeräusch)

2=laryngotracheales, tracheobronchiales bzw. bronchobroncholäres Atemgeräusch

Körpertemperatur (rektale Messung mittels Digital-Thermometers)

x Grad Celsius

### **3.5.5 Halofuginonbehandlung**

Die Behandlung mit Halofuginon (Halocur®, Intervet, Unterschleißheim) erfolgte innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geburt sowie an den darauf folgenden sechs Tagen mit dem mitgelieferten Oraldoser. Dazu wurde den Tieren entsprechend den Anwendungsempfehlungen 8 ml Lösung oral eingegeben. Die Eingabe erfolgte immer morgens nach der Tränkeaufnahme. Ab einem Gewicht von 45 kg wurden 12 ml verabreicht. Dies entspricht einer Dosis von ca. 120 µg/kg KGW.

### **3.5.6 Sonstige Behandlungen**

Bei Vorliegen einer anderen Erkrankung als Diarrhoe wurden ausschließlich Medikamente ohne Wirkung auf Kokzidien/Kryptosporidien eingesetzt. Es traten Pneumonien sowie vereinzelt Gelenk- und Nabelentzündungen auf. Für den Einsatz von Antibiotika gegen die Pneumonien lagen nach Entnahme von nasalen Tupferproben Resistenzteste vor, anhand derer ich die Auswahl des Arzneimittels vornahm. Die Ergebnisse der Tupferproben wiesen gehäuft *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* und bakterielle (aerobe) Mischkulturen nach. Somit kamen Enrofloxacin (Baytril® 5% od. 10%, Bayer Vital GmbH) und Florfenicol (Nuflor®, Essex Tierarznei) zur Therapie der Bronchopneumonien zum Einsatz. Nabelentzündungen wurden mit Procain-Benzylpenicillin, Dihydrostreptomycinsulfat (Penicillin-Dihydrostreptomycin-Suspension 45 Mega®, aniMedica) behandelt. Zur Fieber und Arthritidenbekämpfung wurde Metamizol-Natrium (Metapyrin®, Serum-Werk-Bernburg AG) eingesetzt sowie Florfenicol nach Antibiotogramm. Verdauungsprobleme (exkl. Diarrhoe) wurden mit Buscupan compositum® (Boehringer Ingelheim) behandelt. Zur Behandlung von Durchfällen bei Tieren welche nicht der Studie zugehörig waren, wurden Amoxicillin/Clavulansäure (Synulox®RTU, Pfizer) oder Procain-Benzylpenicillin, Dihydrostreptomycinsulfat (Penicillin-Dihydrostreptomycin-Suspension 45 Mega®, aniMedica) eingesetzt. Zusätzlich wurden Elektrolyttränken angeboten (diakur®, Böhringer Ingelheim). Bei Verweigerung der Tränke fanden

Infusionen mit isotonische NaCl 0,9% (Serumerk, Bernburg), G5% (Serumwerk, Bernburg) oder Na-Bicarbonat-Lösungen (Serumwerk, Bernburg) statt.

### **3.6 Labormethoden**

#### **3.6.1 Nachweis der Oozysten durch Anwendung der Färbung nach Heine (1982)**

Es wurde ein Tropfen Karbolfuchsin auf einen Objektträger gegeben und mit etwa einer gleich großen Menge Kot vermischt. Für den Mischvorgang wurde ein Holzspatel benutzt, der nach Gebrauch sofort entsorgt wurde. Anschließend wurde das hergestellte Gemisch mit Hilfe eines zweiten Objektträgers dünn ausgestrichen und an der Luft getrocknet. Auf den getrockneten Ausstrich wurde nun ein Tropfen Immersionsöl und ein Deckgläschen gegeben. Anschließend konnte die mikroskopische Untersuchung in 400-facher Vergrößerung erfolgen. Es wurden in zehn zufällig ausgewählten Gesichtsfeldern die vorhandenen Oozysten gezählt und notiert und von diesen zehn Ergebnissen der Mittelwert gebildet. Die Untersuchung wurde für jede Kotprobe in gleicher Weise an zwei Präparaten durchgeführt.

Die Oozysten stellen sich als kleine, mehr oder minder kreisrunde, lichtbrechende, nicht gefärbte Gebilde vor rot-orangem Hintergrund dar.

Die Befallsintensität wurde nach folgendem Index bewertet:

0=keine oder weniger als durchschnittlich 1 Oozysten pro 10 Gesichtsfeldern

1=ggr. Infektion, durchschnittlich 1-5 Oozysten pro 10 Gesichtsfeldern

2=mgr. Infektion, durchschnittlich 6-50 Oozysten pro 10 Gesichtsfeldern

3=hgr. Infektion, durchschnittlich  $\geq 50$  Oozysten pro 10 Gesichtsfeldern

#### **3.6.2 Nachweis von Rota-, Coronaviren und *E.coli***

In den Fällen, in denen wässriger Kot bei negativem Oozystennachweis vorhanden war, wurde die Kotprobe auf Rota- und Coronavirus sowie eine *E. coli*-Infektion getestet. Hierfür wurden Schnellteststreifen (BIO K 152, Bio K 153) der Firma BIO X Diagnostics, Jemelle Belgien, zum Antigennachweis in Kotproben verwendet.

Das Testprinzip beruht auf lateraler Immunochromatographie, wobei monoklonale Antikörper für Rota- und Coronaviren auf der Testmembran aufgebracht sind. Im Falle eines positiven Nachweises wird die T-Linie (Testlinie) auf dem Steifen sichtbar und kann mit der Control-Linie verglichen werden.

Die Untersuchung auf Mischinfektion von anderen Kotproben, als dünnflüssige ohne Oozystenbefund, wurde in dieser Studie nicht mit einbezogen, was das Vorkommen dieser Mischinfektionen nicht widerlegen soll.

### **3.6.3 Statistik**

Die Statistik wurde mit SPSS 14.0 für Windows angefertigt. Die wesentlichen Parameter, die hier untersucht wurden (Oozystenwerte, Körpertemperatur, Durchfall, Gewicht, Ernährungszustand, Trinkverhalten und Gewichtszunahme) sind mit Ausnahme des Durchfalls und der Oozystenindices eindeutig intervallskaliert. Die Angaben zum Durchfall und der Oozystenindex dagegen bestehen aus einer dreistufigen Kategorisierung, die damit ebenso eindeutig ordinal skaliert sind.

Soweit intervallskalierte Variablen ausgewertet wurden, verwendete ich parametrische statistische Verfahren (Varianzanalysen, T-Test). Die Voraussetzung, dass die Varianzen aller Faktorstufen hinsichtlich der abhängigen Variablen gleich sind, wurde mit dem Levene-Test geprüft. Hat der Levene-Test eine Signifikanz von  $\geq 5\%$ , geht man von der Homogenität der Varianzen aus. Definitiv nicht gleich sind die Varianzen bei einer Signifikanz von  $\leq 5\%$  was bedeutet, dass es systematische Unterschiede zwischen den Faktorstufen gab, und die Voraussetzungen an das mathematische Modell der Varianzanalyse nicht erfüllt waren. Im Fall der nachgewiesenen Inhomogenität senkt man das konventionelle Signifikanzniveau für die Varianzanalyse auf 1% Irrtumswahrscheinlichkeit.

Lediglich bei der ordinal skalierten Variablen wurde auf nicht parametrische Verfahren für Ordinaldaten zurückgegriffen (Kruskal-Wallis-Test).

Für die systematischen Einzelvergleiche, die im Rahmen der Varianzanalyse durch den Scheffe-Test erreicht werden, wurden im Signifikanzfall Mann-Whitney-U-Tests berechnet. Der Scheffe-Test vergleicht die Mittelwertunterschiede der Faktorstufen

unter Berücksichtigung und Korrektur möglicher Zufallssignifikanzen, die bei sehr vielen Einzelvergleichen auftreten können (Faktorstufen= Behandlungsgruppe und Kontrollgruppe). Alle Faktorstufen wurden paarweise verglichen hinsichtlich ihrer Mittelwerte in der Gruppe und der Mittelwerte zwischen den Gruppen. Als Ergänzung zu den Einzelvergleichen erfolgte der Test auf homogene Untergruppen anhand des Duncan-Tests. Es wurde untersucht, ob sich einzelne Faktorstufen zu in sich homogenen Untergruppen zusammenfassen ließen. Im positiven Fall bedeutet das, dass es keine signifikanten Abweichungen zwischen zusammengefassten Faktorstufen gab.

Für die Korrelationsberechnungen wurden Rangkorrelationen mit dem Spearman-Koeffizienten als nichtparametrisches Korrelationsverfahren verwendet, sobald die Variable Durchfall an der Korrelation beteiligt war. Da alle anderen Variablen intervallskaliert waren, wurden ansonsten Korrelationen mit dem Pearson-Korrelationskoeffizienten berechnet. Dabei zeigt ein Koeffizient von 0-0,30 einen schwachen Zusammenhang, 0,30-0,70 einen mittleren und 0,70-1,0 einen engen statistischen Zusammenhang. Der allgemeine Kennwert des Korrelationskoeffizienten liegt bei -1 und +1. Ein Wert von -1 oder 1 gibt einen direkten Zusammenhang an, wobei ein Wert von 0 die Unabhängigkeit der Variablen ausdrückt

Der T-Test wurde zum Vergleich von Mittelwertunterschieden in der Gewichtszunahme, Anzahl an Durchfalltage und Anzahl der Tage mit Oozystenausscheidung angewandt. Zur Prüfung der Anwendbarkeit des T-Tests wurde vorher stets ein Levene-Test auf Varianzhomogenität durchgeführt.

Die Größenwerte der errechneten Signifikanzwerte werden durch das Signifikanzniveau (P) bzw. der Irrtumswahrscheinlichkeit erklärt. Werte von  $P \geq 0,05$  bestätigen die Nullhypothese und bedeuten, dass keine Signifikanz vorliegt,  $P \leq 0,05$  zeigt eine Signifikanz an. Im Fall von  $P \leq 0,01$  ist der beobachtete Effekt hoch signifikant.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse Vorversuch

Im Vorversuch wurde die Oozystenausscheidung bei 20 Tieren im Alter von einem bis 28 Tagen über einen Zeitraum von 12 Tagen beurteilt, um einen Gesamteindruck über die Inzidenz des Auftretens von Kryptosporidien in dem Bestand zu bekommen. In dieser Untersuchungsgruppe waren acht Tiere über eine Woche und höchstens vier Wochen alt und zwölf Tiere höchstens eine Woche alt. Von diesen zwölf Tieren waren vier neugeborene Kälber. Jedes Tier wurde sechsmal im Abstand von einem Tag untersucht. Im gesamten Untersuchungszeitraum zeigten 57,5% der Tiere keine Oozystenausscheidung, an mindestens einem Termin 25% eine geringgradige, 10% eine mittelgradige und 7,5% eine hochgradige Oozystenausscheidung. Am ersten Untersuchungstag schieden acht Tiere (40%), am zweiten Tag 13 Tiere (65%), am dritten Tag elf Tiere (55%), am vierten und fünften Tag sieben Tiere (35%) und am sechsten Untersuchungstag fünf Tiere (25%) Oozysten aus (Abbildung 4). Eine hochgradige Oozystenausscheidung konnte an den ersten drei Untersuchungszeitpunkten festgestellt werden. Eine mittelgradige Oozystenausscheidung fand an fünf der sechs Untersuchungstage statt. An allen sechs Untersuchungstagen konnte in den Kotproben mindestens eines Tieres zumindest eine geringgradige Oozystenausscheidung nachgewiesen werden.

Am ersten Untersuchungstag hatten 20% der Tiere eine hochgradige, 5% eine mittelgradige und 15% eine geringgradige Oozystenausscheidung, 60% waren negativ. Am zweiten Tag zeigten 10% hochgradig, 15% mittelgradig, 40% geringgradig und 35% keine Oozysten im Kot. Am dritten Tag hatten 15% eine hochgradige, 55% eine mittelgradige, 35% eine geringgradige und 45% keine Oozystenausscheidung. Am vierten Tag konnte bei 25% der Tiere eine mittelgradige, bei 10% eine geringgradige und bei 65% keine Oozystenausscheidung beobachtet werden. Am fünften Tag zeigten 10% mittelgradige, 25% geringgradige und 65% keine Oozystenbefunde im Kot. Zum letzten Untersuchungszeitpunkt hatten 25% der Tiere eine geringgradige und 75% keine Oozystenausscheidung (Abbildung 4).

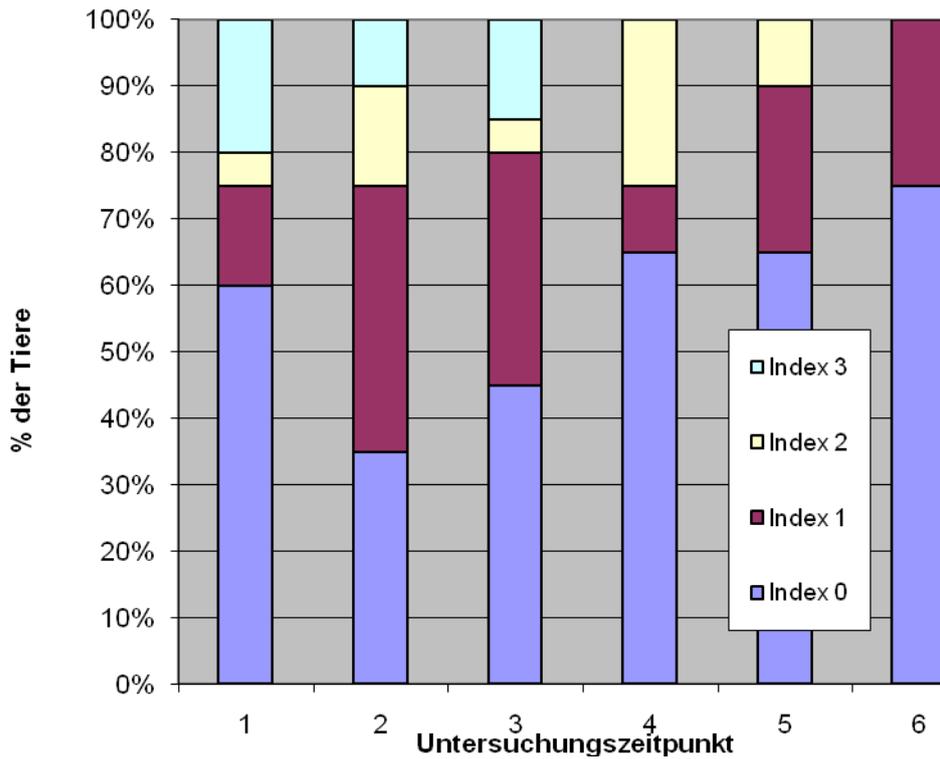


Abbildung 4: Semiquantitative Prävalenz der Oozystenausscheidung (Index 0-3; 0=negativ, 1=geringgradig, 2=mittelgradig, 3=hochgradig) an sechs Untersuchungszeitpunkten im gesamten Untersuchungszeitraum von 12 Tagen

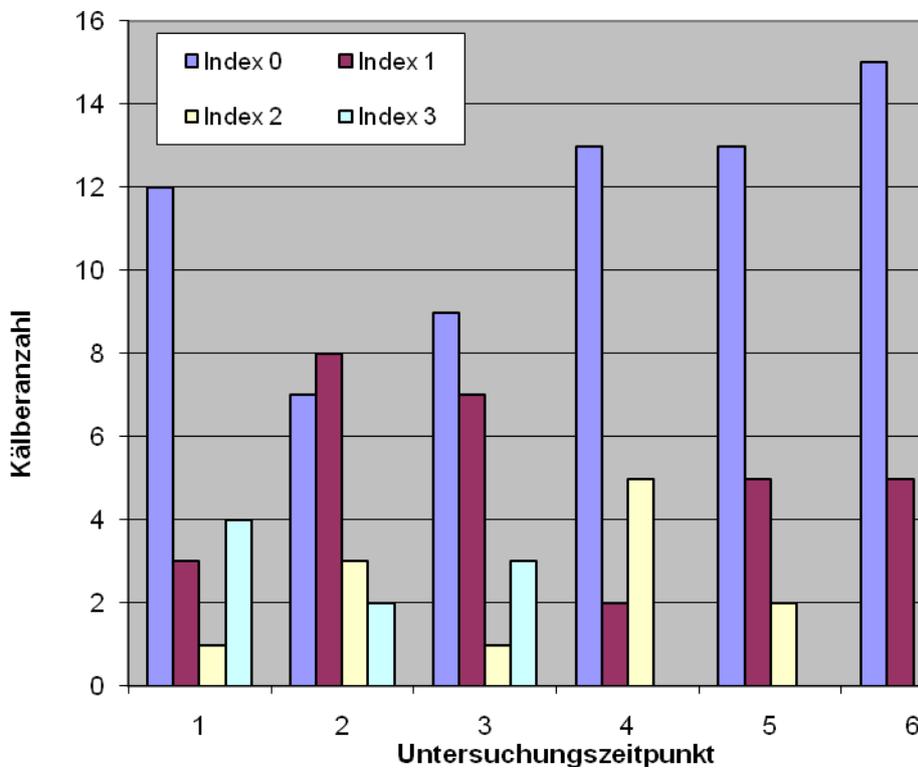


Abbildung 5: Oozystenausscheidung (Index 0-3; 0=negativ, 1=geringgradig, 2=mittelgradig, 3=hochgradig) bei Kälbern (n=20) zu sechs Untersuchungszeitpunkten im gesamten Untersuchungszeitraum von 12 Tagen

Einen Oozystenindex von 3 zeigten am ersten Untersuchungstag vier Tiere. Eines dieser Tiere war jünger als eine Woche und drei älter als eine Woche. Am zweiten Tag hatten zwei Tiere und am dritten Tag drei Tiere den Oozystenindex 3. Alle diese Tiere waren jünger als eine Woche (Abbildung 5).

Am ersten Untersuchungstag hatte ein Tier den Oozystenindex 2, dieses Tier war jünger als eine Woche. Am zweiten Tag zeigten drei Tiere den Oozystenindex 2. Zwei dieser Tiere waren jünger als eine Woche und ein Tier älter. Am dritten Untersuchungstag war das Tier mit Index 2 jünger als eine Woche. Zu den anderen Untersuchungszeitpunkten waren jeweils zwei Tiere, welche einen Oozystenindex von 2 zeigten, jünger als eine Woche, die restlichen Tiere mit einer Oozystenausscheidung von Index 2 waren älter als eine Woche (Abbildung 5).

Einen Oozystenindex von 1 zeigten am zweiten Tag drei Tiere, wovon zwei jünger als eine Woche waren. Am zweiten, dritten, vierten und sechsten Untersuchungstag waren jeweils zwei Tiere dieser Kategorie jünger als eine Woche, am fünften zeigte nur ein Tier, das jünger als eine Woche war, einen Oozystenindex von 1 (Tabelle 3).

Keine Oozystenausscheidung (Index 0) zeigten am ersten Untersuchungstag acht Kälber, die jünger als eine Woche waren, am zweiten und dritten Termin sechs Kälber, am vierten und sechsten Termin fünf Tiere, am fünften Untersuchungstag vier und am sechsten fünf Tiere (Tabelle 3, Abbildung 5)

Die kumulative Prävalenz betrug 90%. Zwei Tiere (10%) schieden zu keinem der sechs Untersuchungszeitpunkte Oozysten aus.

**Tabelle 3: Oozystenausscheidung (Index 0=negativ, Index 1= geringgradig, Index2=mittelgradig, Index 3=hochgradig) und Zuordnung der Kälber nach ihrem Alter (jünger als eine Woche und älter als eine Woche, aber höchstens 28 Tage alt) im Vorversuch von 12 Tagen zu sechs Untersuchungszeitpunkten.**

Unter- su- chung stag	Alter der Kälber	Index 0		Index 1		Index 2		Index 3	
		< 1 Woche	> 1 Woche						
1		8 (40%)	4 (20%)	2 (10%)	1 (5%)	1 (5%)	0 (0%)	1 (5%)	3 (15%)
2		6 (10%)	1 (5%)	2 (10%)	6 (30%)	2 (10%)	1 (5%)	2 (10%)	0 (0%)
3		6 (10%)	3 (15%)	7 (35%)	5 (35%)	2 (10%)	3 (15%)	3 (15%)	0 (0%)
4		8 (40%)	5 (25%)	2 (10%)	0 (0%)	2 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
5		9 (45%)	4 (20%)	1 (5%)	4 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
6		10 (50%)	5 (25%)	2 (10%)	3 (15%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Somit konnte in allen Altersgruppen eine Oozystenausscheidung beobachtet werden. Eine hochgradige und mittelgradige Oozystenausscheidung trat vor allem bei Kälbern jüngeren Alters (< 1 Woche) und an den ersten Untersuchungstagen auf. Gegen Ende des Untersuchungszeitraums waren im Fall von Ausscheidung nur geringe Oozystenzahlen festzustellen.

## 4.2 Ergebnisse Hauptversuch

### 4.2.1 Oozystenausscheidung

Die mit Halofuginon behandelten Kälber (H+) schieden bis zum 10. Untersuchungstag eine weitaus geringere Menge an Oozysten aus (Index  $0,03-0,18^*$ ) als die nicht behandelten Kälber (H-) ( $0,06-1,62^*$ ) (Abbildung 6). Danach stieg die Ausscheidung in der Halofuginon-Gruppe deutlich an, während sie bei den unbehandelten Tieren nach einem Höhepunkt am 10. Untersuchungstag wieder stark abfiel. Der Peak der Werte lag in der behandelten Gruppe am Tag 16, danach sanken die Werte rapide ab. Dagegen zeigten die nicht behandelten Kälber (H-) in der 2. Lebenswoche (vom 7. bis 13. Tag) nahezu gleichbleibend hohe Werte. Gegen Ende des Untersuchungszeitraumes näherten sich die Kurven beider Gruppen (ab dem 22. Tag in der Kontrollgruppe, ab dem 25. Tag in der behandelten Gruppe) dem Nullwert. Der Verlauf der Ausscheidungskurven war in beiden Gruppen ähnlich, war aber in Gruppe (H+) zeitlich etwa um den Behandlungszeitraum verschoben.

Teilt man den Beobachtungszeitraum in drei Abschnitte (Abschnitt 1= Behandlungszeitraum = 1.-7. Tag, Abschnitt 2 = erwartetes Maximum der Oozystenausscheidung = 8.-16.Tag, Abschnitt 3 = Spätphase der Ausscheidung = 17.-28.Tag), ausgehend von der Annahme, dass sich Kälber in einer kontaminierten Umgebung innerhalb der ersten Tage nach der Geburt infizieren, so zeigten 13 Kälber der Behandlungsgruppe im Abschnitt 1 eine Oozystenausscheidung, wobei 12 Tiere eine geringgradige und ein Tier eine mittelgradige Ausscheidung an Oozysten hatten. In der Kontrollgruppe gab es in diesem Zeitraum 32 Tiere mit Oozystennachweis, davon wiesen 22 Tiere eine geringgradige, 2 Tiere eine mittelgradige und 8 Tiere eine hochgradige Ausscheidung auf. Die Intensität der Oozystenausscheidung der H+ Gruppe war im Behandlungszeitraum (Abschnitt 1) insgesamt deutlich und statistisch signifikant ( $P < 0,01$ , Tabelle 4) geringer als in der H- Gruppe.

In Abschnitt 2 hatten 38 behandelte Tiere an mindestens einem Termin Oozysten im Kot (19 Tiere geringgradig, 13 Tiere mittelgradig und sechs Tiere hochgradig).

---

\* Arithmetisches Mittel der Index-Mittelwerte

In der Kontrollgruppe waren insgesamt 49 Tiere Ausscheider (zehn Kälber geringgradig, 30 mittelgradig und neun hochgradig).

Die Mittelwerte der Oozystenausscheidung bei den Kälbern der Gruppen H+ und H- waren im Abschnitt 2 jeweils höher als im Abschnitt 1 und waren in der H- Gruppe im Abschnitt 2 um fast das Doppelte höher als die der H+ Gruppe. Dieser augenfällige Unterschied war aber nicht statistisch signifikant ( $P = 0,283$ , Tabelle 4). Auffallend war die hohe individuelle Varianz der Werte, so dass die Standardabweichung die Mittelwerte deutlich übertraf. In diesem Zeitraum lag der Peak der Ausscheidung von Gruppe H+, der nach Beendigung der Behandlung auftrat.

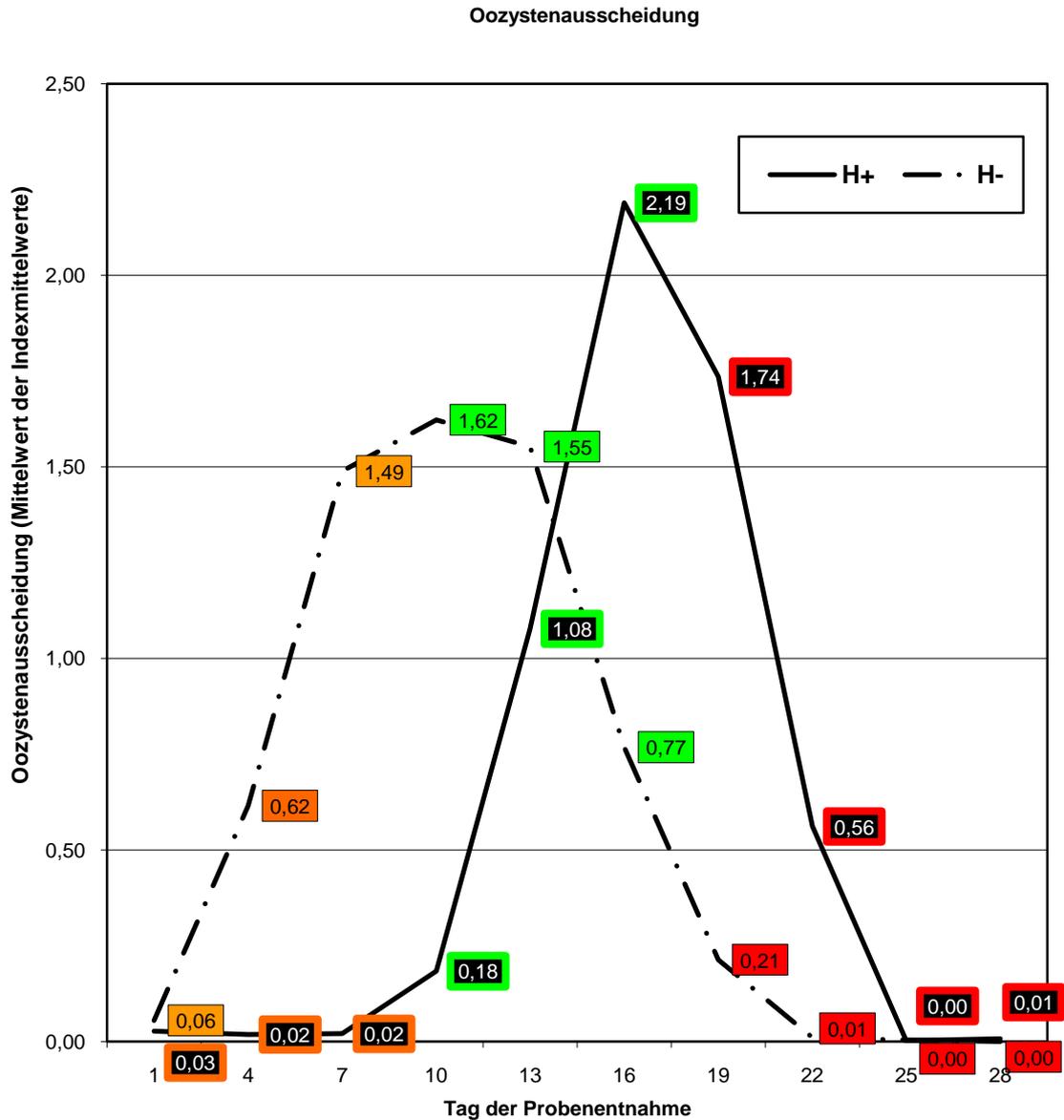
Im Abschnitt 3 zeigten 29 behandelte Tiere (H+) Oozysten im Kot (davon acht Tiere an mindestens einem Termin geringgradig, 15 Tiere mittelgradig und sechs Tiere hochgradig). In der Kontrollgruppe (H-) wurden bei neun Tieren Oozysten gefunden, sieben Kälber fielen mit geringgradiger und zwei Tiere mit mittelgradiger Ausscheidung auf.

Im Abschnitt 3 sind die Mittelwerte der Oozystenausscheidung der Gruppe H+ über den Zeitraum fast identisch mit denen im Abschnitt 2. In der Gruppe H- fallen die Werte hingegen deutlich ab. Es gibt zwischen H+ und H- Kälbern mit  $P = 0,024$  einen signifikanten Unterschied in der Oozystenausscheidung (Tabelle 4). Unbehandelte Tiere zeigen in diesem Untersuchungsabschnitt eine im Vergleich zu in der Präpatenz behandelten Kälbern geringere Oozystenausscheidung.

Insgesamt ist in der mit Halofuginon behandelten Gruppe H+ eine geringere Oozystenausscheidung im Behandlungszeitraum und der folgenden Woche zu verzeichnen, der Unterschied war aber nur in Abschnitt 1 statistisch signifikant. Zwei Wochen nach Beendigung der Behandlung übertraf die Ausscheidung in Gruppe H+ diejenige in Gruppe H-. Der Höhepunkt der Oozystenausscheidung in der H+ Gruppe (16. Tag) verschiebt sich, im Vergleich zu dem der H- Gruppe (10. Tag) auf einen späteren Zeitpunkt im Beobachtungszeitraum. Das Geschlecht der Tiere ließ keinen Zusammenhang mit der Oozystenausscheidung erkennen ( $P > 0,05$ )

**Tabelle 4: Gruppenstatistik und Signifikanzprüfung für die Oozystenausscheidung der H+ (n = 62, behandelt) und H- (n = 61, nicht behandelt) Gruppe im Zeitraum von 1. - 7. Lebenstag (Abschnitt 1), 8. - 16. Lebenstag (Abschnitt 2) und 17. - 28. Lebenstag (Abschnitt 3)**

Oozystenausscheidung	Gruppe	Mittelwert (Mittelwert der Tagesmittelwerte)	Standardabweichung	Signifikanz im Levene-Test	Signifikanz im T-Test (P)
Abschnitt 1	H-	0,11	0,321	0,000	0,006
	H+	0,00	0,000		
Abschnitt 2	H-	0,22	0,454	0,044	0,283
	H+	0,13	0,389		
Abschnitt 3	H-	0,02	0,130	0,000	0,024
	H+	0,12	0,331		

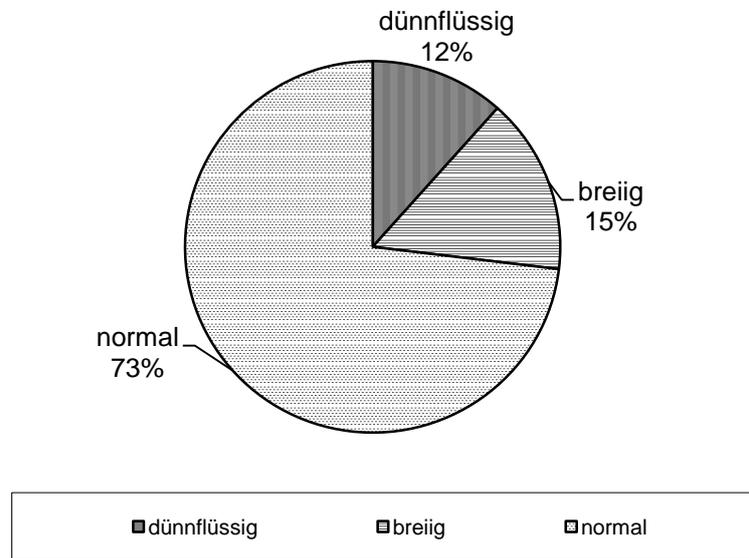


**Abbildung 6: Oozystenausscheidung der mit Halofuginon behandelten Kälber (H+, n = 62) und nicht behandelten Kontrolltiere (H-, n = 61) im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen. Abschnitt 1: 1.-7. Lebenstag (orange), Abschnitt 2: 8.-16. Lebenstag (grün), Abschnitt 3: 17.-28. Lebenstag (rot).**

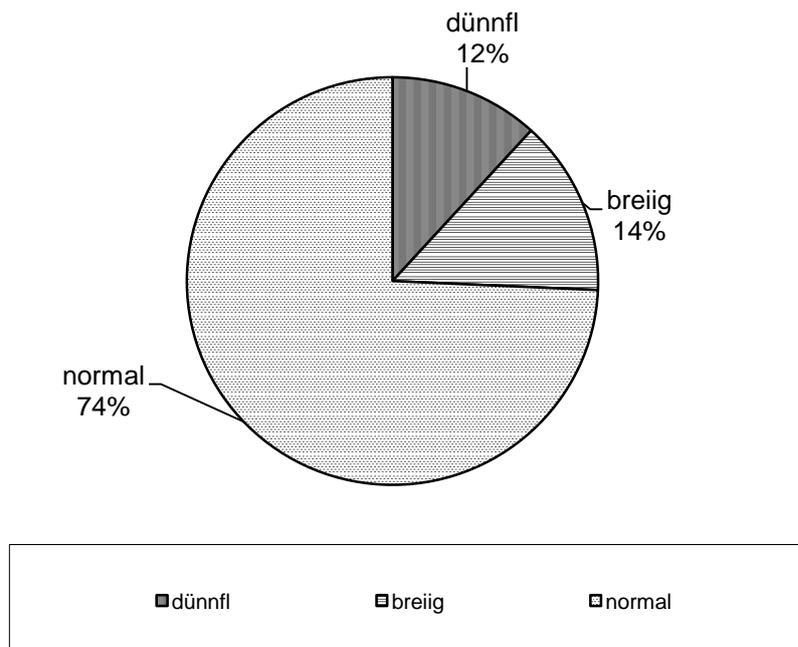
Über den gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen betrachtet konnten bezüglich des individuellen Mittelwertes sechs Kälber dem Befallindex 0 (0 Oozysten) zugeordnet werden. Diese sechs durchgängig negativ gebliebenen Kälber gehörten alle der H+ Gruppe an. 20 Tiere hatten maximal den Index 1, 64 den Index 2 und 33 Tiere den Index 3 .

#### **4.2.2 Durchfallsymptomatik**

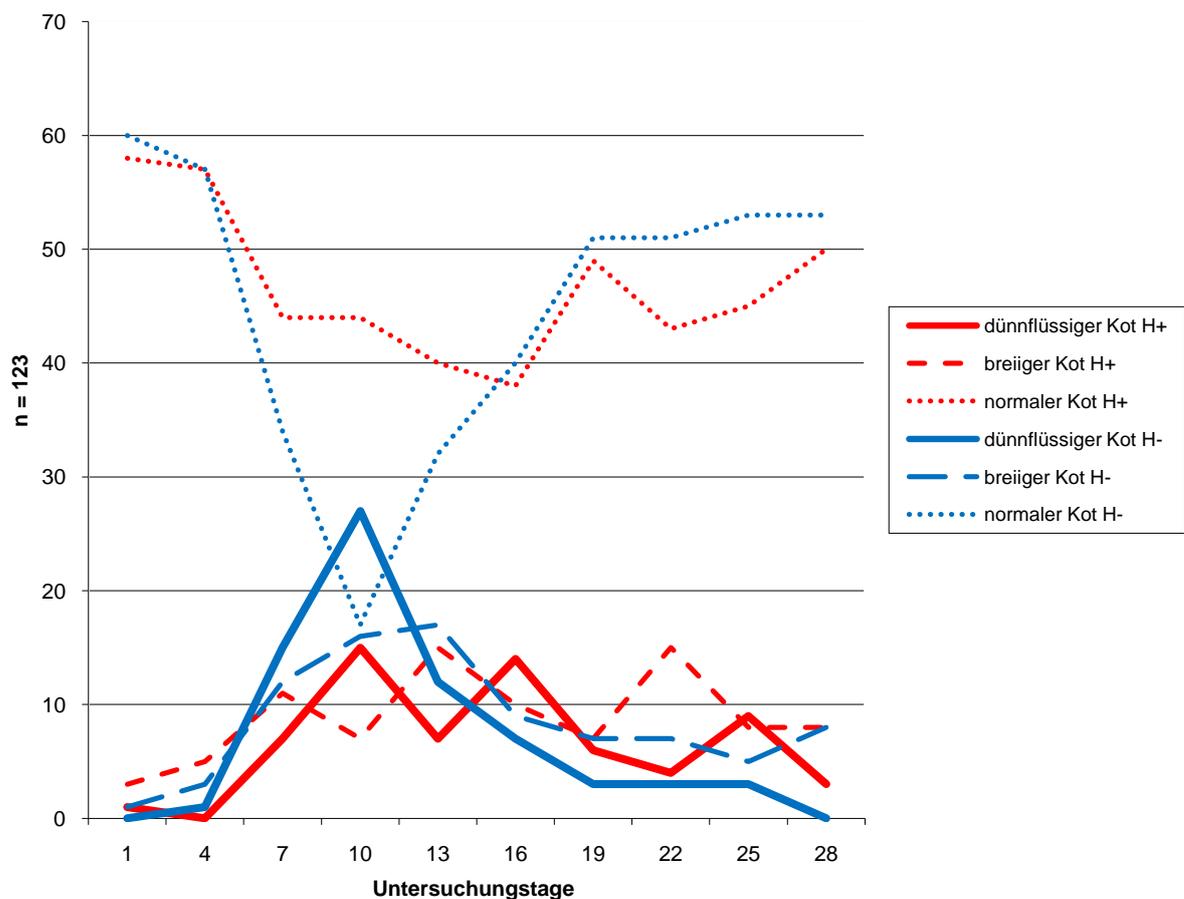
Im Untersuchungszeitraum wiesen behandelte Tiere (H+) von Beginn an bis zum 13. Lebenstag deutlich weniger häufig dünnflüssigen Kot auf als unbehandelte (H-) Tiere. In der dritten Woche (ab 14. LT) nach Absetzen der Behandlung war anschließend dünnflüssiger Kot öfter bei Kälbern der Halofuginongruppe zu beobachten (Abbildung 8). Die prozentuale Verteilung der Kotbeschaffenheit zeigt, dass die Probenkonsistenz in der Gruppe H+ zu 12% an mindestens einem Termin dünnflüssig, zu 15% breiig und zu 73% normal war. Bei den H- Tieren (12% dünnflüssig, 14% breiig und 74% normal) war die Kotbeschaffenheit insgesamt sehr ähnlich (Abbildung 7 und 8).



**Abbildung 7: Prozentuale Verteilung der Kotbeschaffenheit Halofuginon behandelter Kälber (H+, n=62) im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen**



**Abbildung 8: Prozentuale Kotbeschaffenheit nicht behandelter Kälber (H-, n=61) im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen**



**Abbildung 9: Anzahl der Kotproben mit dünnflüssiger, breiiger und normaler Konsistenz bei Kälbern der Gruppe H+ (n=62) und H- (n=61)**

In der zweiten Lebenswoche (7., 10., 13. LT) hatten mehr H+ als H- Kälber Kot normaler Konsistenz, während in der ersten Lebenswoche kein Unterschied zwischen den Gruppen auffiel (Abbildung 9).

Die Signifikanzprüfung zeigt an zwei (10. und 25. LT.) der zehn Tage einen signifikanten Unterschied zwischen H+ und H- Tieren. Am 10. Lebenstag war die Durchfallsymptomatik bei H- Tieren signifikant ( $P = 0,000$ ) öfter vorhanden, dagegen wiesen H+ Tiere am 25. Lebenstag signifikant ( $P = 0,037$ ) öfter dünnflüssigen Kot auf (Tabelle 5).

**Tabelle 5: Signifikanzprüfung für das Auftreten von Durchfall (dünnflüssiger Fäzes) bei mit Halofuginon behandelten (H+, n = 62) und unbehandelten (H-, n = 61) Kälber im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen**

Dünnfl. Kot	Mann-Whitney-U	Wilcoxon-W	Signifikanz (P)
4. LT	1832,500	3723,500	0,752
7. LT	1600,500	3491,500	0,171
10. LT	1168,500	3059,500	0,000
13. LT	1495,000	3325,000	0,099
16. LT	1465,000	3235,000	0,052
19. LT	1699,500	3410,500	0,925
22. LT	1462,000	3173,000	0,103
25. LT	1410,500	3121,500	0,037
28. LT	1581,500	3292,500	0,407

Die behandelten Kälber zeigten zu fünf Messzeitpunkten (1., 16., 26., 22., 25.LT) die höhere Anzahl an Proben mit breiiger Kotkonsistenz, an zwei Tagen (19., 28.LT) die gleiche Anzahl und an drei Zeitpunkten (7., 10., 13.LT) eine geringere als die Kälber der unbehandelten Gruppe (Abbildung 9).

Die Kotkonsistenz blieb eindeutig im Zeitverlauf der drei Untersuchungsabschnitte (Abschnitt 1:1.-7.LT, Abschnitt 2: 8.-16.LT, Abschnitt 3: 17.-28.LT) nicht stabil und änderte sich nachweislich im zweiten Abschnitt, als mehr Tiere der H- Gruppe dünnflüssigen Kot zeigten. Im dritten Untersuchungsabschnitt hatten H+ Kälber öfter eine dünnflüssige Kotkonsistenz als die H- Tiere.

Es zeigten sich an den drei Untersuchungsabschnitten nur geringe Mittelwertunterschiede zwischen H+ und H- Tieren. Etwas höhere Werte wiesen die H- Kälber zwischen dem 1. und 7. Lebenstag auf, welche sich aber nicht signifikant von denen der H+ Kälber unterschieden. Im zweiten Abschnitt war der Mittelwert der H- Gruppe um 1/3 höher als bei der H+ Gruppe aber mit  $P = 0,058$  dennoch nicht signifikant verschieden. Im dritten Abschnitt des Untersuchungszeitraums war der Mittelwert der H+ Gruppe fast doppelt so hoch wie der Mittelwert der H- Gruppe und dieser Unterschied ist mit  $P = 0,039$  signifikant. Das Durchfallgeschehen ist im Untersuchungszeitraum vom 1.-16.Lebenstag in der H+ Gruppe weniger ausgeprägt als in der Kontrollgruppe (H-). Vom 16. – 28. Lebenstag war in der H+ Gruppe im Gegensatz zur H- Gruppe öfter Durchfall vorhanden.

In dem Behandlungszeitraum waren 2,2% der Kotproben der H+ Gruppe von dünnflüssiger, 5,2% von breiiger und 43,2% von normaler Konsistenz. In der H- Gruppe waren 4,3% der Kotproben dünnflüssig, 4% breiig und 41% normal. In der H- Gruppe gab es damit fast doppelt so viele dünnflüssige Kotproben als in der H+ Gruppe, ein dramatisches Durchfallgeschehen bestand allerdings in diesem Zeitraum in keiner der beiden Gruppen.

In der zweiten Lebenswoche hatten in der H+ Gruppe 29,9% der Kotproben eine normale Konsistenz, 9,2% waren breiig und 9,7% dünnflüssig. In der H- Gruppe waren 28,2% der Kotproben von normaler Konsistenz, 10,5% breiig und 12,5% dünnflüssig.

In der dritten und vierten Lebenswoche hatten in der H+ Gruppe 30% der Kotproben eine normale Konsistenz, 9,1% waren breiig und 3,9% dünnflüssig. In der H- Gruppe wurden 48,5% der Kotproben einer normalen Konsistenz, 6,4% einer breiigen und 2,1% einer dünnflüssigen Konsistenz zugeordnet.

Von insgesamt 1230 untersuchten Kotproben wurde 67mal dünnflüssiger Kot in der H+ und 71 mal dünnflüssiger Kot in der H- Gruppe verzeichnet. In der H+ Gruppe trat 89 mal breiiger und 468 mal normaler Kot auf, wobei in der H- Gruppe 92 mal breiiger und 448 mal normaler Kot auftrat (Tabelle 6).

**Tabelle 6: Prozentuale Verteilung der Kotkonsistenz von insgesamt 1230 Kotproben aus der H+ und H- Gruppe**

Gruppen	dünnflüssige Kotproben (n=136)	breiige Kotproben (n=180)	Normale Kotproben (n=914)
H+	5,4% (66)	7,2% (88)	38,0% (467)
H-	5,7% (70)	7,4% (92)	36,3% (447)

Das Durchfallgeschehen war insgesamt im Versuchszeitraum, unabhängig von der Gruppenzuordnung, verhältnismäßig schwach und in beiden Gruppen in vergleichbarer Intensität und Extensität ausgeprägt. Es unterscheidet sich allerdings die Dy-

namik des Durchfallgeschehens. Die Tiere der H- Gruppe litten vermehrt in der zweiten Lebenswoche an Durchfall, der mit Beginn der dritten Lebenswoche deutlich abnahm. In der H+Gruppe trat die Erkrankung erst eine Woche nach Absetzen der Behandlung auf, die anschließend wie in der zweiten Lebenswoche der Gruppe H- verlief.

Rota- oder Coronaviren sowie *E. coli* konnten bei acht dünnflüssigen, Oozystennegativen Kotproben differentialdiagnostisch nicht nachgewiesen werden. Ein Effekt des Geschlechtes auf das Durchfallgeschehen war nicht erkennbar ( $P > 0,05$ ).

#### **4.2.3 Beziehung zwischen Oozystenausscheidung und Durchfallssymptomatik**

Für die Frage, ob grundsätzlich Kryptosporidiose und Durchfallgeschehen im Studienbetrieb im Zusammenhang stehen, spielten weder das Geschlecht noch die Halofuginonbehandlung eine Rolle, so dass beides im Folgenden nicht berücksichtigt wird. Es ergab sich eine signifikante Beziehung zwischen Oozystenausscheidung und Durchfallssymptomatik (Rangkorrelation; Spearman-Koeffizient) an folgenden Messzeitpunkten: am ersten LT ( $p=0,03$ ), am 4. LT ( $0,004$ ), am 7. LT ( $p=0,006$ ), am 13. LT ( $p=0,015$ ), am 16. LT ( $p=0,000$ ) und am 22. LT ( $p=0,016$ ). Je mehr Oozysten gezählt werden konnten desto stärker war die Durchfallssymptomatik (Tabelle 7). An vier (10., 19., 25., 28. LT) der zehn Messungen bestehen dagegen Nullkorrelationen (stochastische Unabhängigkeit der Merkmale). Zu den Zeitpunkten, in denen nachweisliche korrelative Beziehungen bestanden, sind sie in der Stärke des Zusammenhanges nur schwach bis mäßig ausgeprägt, aber aufgrund der Fallzahlen meist deutlich signifikant (Tabelle 7).

Zu den ersten Messzeitpunkten, am 1., 4. und 7. Lebenstag, ergaben sich schwache bis mäßige Korrelationen mit einem Korrelationskoeffizienten von etwa 0,30 (0,261 bis 0,329), was einer Varianzaufklärung zwischen knapp 7% und 10% entspricht. In allen Fällen war der Zusammenhang positiv, d.h. je mehr Oozysten ausgeschieden wurden, desto stärker war Durchfall ausgeprägt. Alle drei, wenn auch schwachen Beziehungen, sind hochsignifikant auf dem 1%-Niveau abgesichert.

Am 10. Lebenstag war dagegen gar kein Zusammenhang jenseits reiner Zufallseffekte nachweisbar, am 13. Tag gab es wieder einen schwachen positiven Zusammenhang in Höhe von 0,224, der auf dem 5%-Niveau abgesichert ist.

Am 16. Lebenstag war der Zusammenhang mit 0,384 wieder etwas stärker. Am 19. Lebenstag war dann erneut kein statistisch bedeutsamer Zusammenhang mehr feststellbar, wohingegen am 22. Tag ein schwacher Korrelationskoeffizient von 0,224, der aber auf dem 5%-Niveau abgesichert werden konnte, auftrat (Tabelle 7).

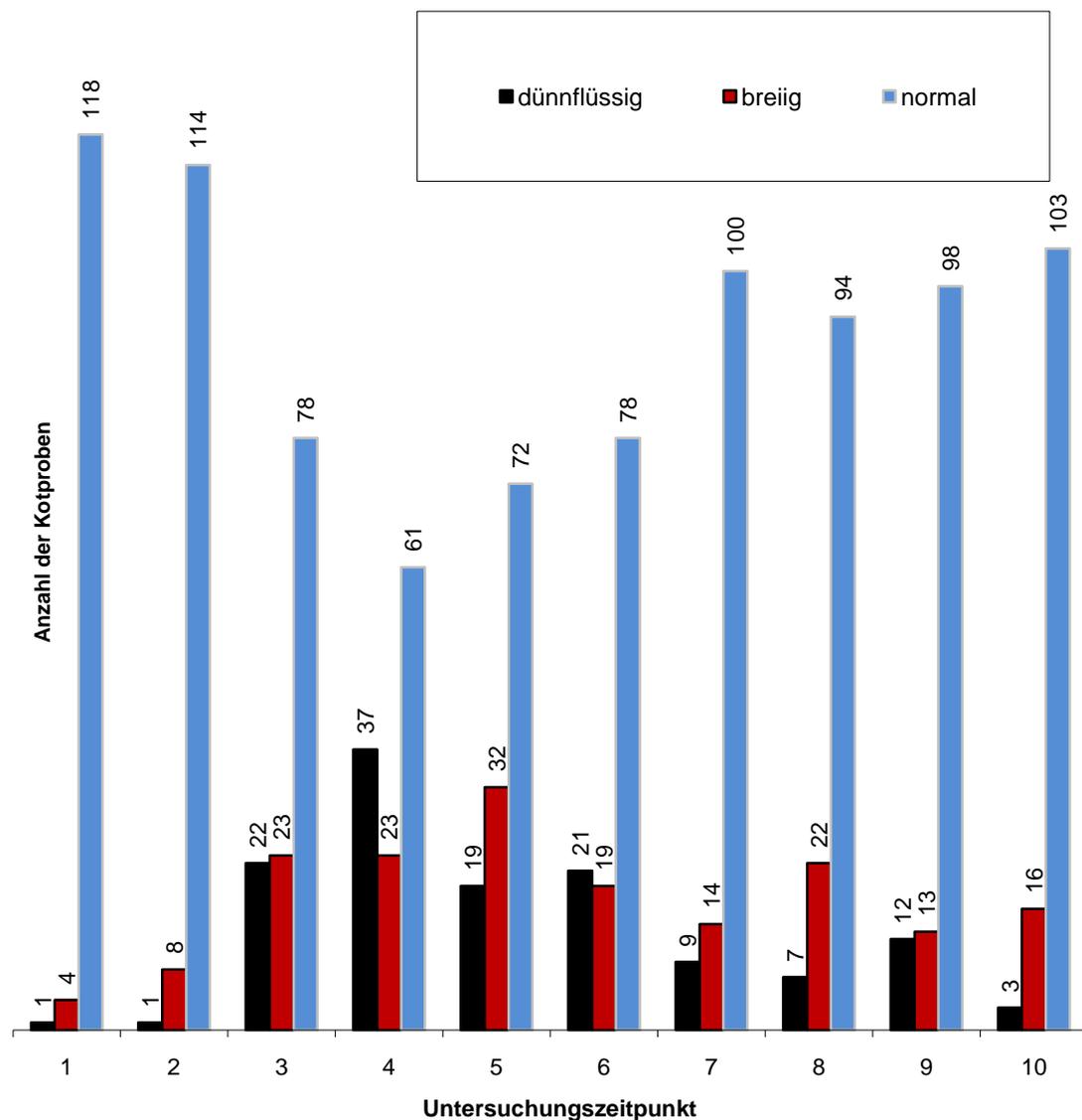
**Tabelle 7.: Korrelation und Signifikanzprüfung der Beziehung Oozystenausscheidung und Durchfallssymptomatik unter Vernachlässigung der Gruppenzugehörigkeit**

Korrelation zwischen Oozystenausscheidung und Diarrhoe (dünnflüssiger Kot) aller Kälber (Spearman Rho)		
Untersuchungszeitpunkt (Lebenstag)	Korrelationskoeffizient	Signifikanz (2-seitig)
1	0,270**	0,003
4	0,261**	0,004
7	0,329**	0,000
10	0,133	0,149
13	0,224*	0,015
16	0,384**	0,000
19	0,084	0,372
22	0,224*	0,016
25	-0,086	0,363
28	-0,063	0,505

\*\* Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (2-seitig).

\* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (2-seitig).

In der Gegenüberstellung der Oozystenausscheidung und der festgestellten Kotbeschaffenheit war auffällig, dass bei steigender Oozystenausscheidung die Anzahl der Tiere mit dünnflüssigen Kot zunahm und der Anteil normaler Kotbeschaffenheit abnahm (Abbildung 10). Die höchste Anzahl an Kälbern mit normalen Kot kam an den Tagen mit der geringsten Oozystenausscheidung vor. Breiiger Kot ist immer mit Oozystenausscheidung einhergegangen, wobei bei steigenden Werten der Oozystenanzahl im Kot das Auftreten breiiger Kotkonsistenz geringgradig zunahm. Außerdem ist dünnflüssiger Kot zusätzlich an zwei Tagen ohne gleichzeitige Oozystenausscheidung aufgetreten und war somit nicht mit *Cryptosporidium*-Befall assoziiert.



**Abbildung 10: Kotbeschaffenheit (dünnflüssig, breiig, normal) der untersuchten Proben aller Kälber (n=123) im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen**

Die Korrelation zwischen Durchfallssymptomatik und Oozystenausscheidung aller Tiere ergab im Behandlungszeitraum (1.-7. LT) einen signifikant positiven Zusammenhang von  $r = 0,207$ ,  $P = 0,023$ . Im zweiten Abschnitt (10.-16.LT) konnte keine signifikante Korrelation ( $P = 0,293$ ,  $r = 0,098$ ) errechnet werden. Dies galt auch für den dritten Abschnitt (19.-28.LT) mit  $r = 0,011$  und  $P = 0,909$ .

Betrachtet man den Zusammenhang zwischen Oozystenausscheidung und Diarrhoe in den drei Untersuchungsabschnitten getrennt für die mit Halofuginon behandelten (H+) und unbehandelten Tiere (H-), so ist für den ersten Abschnitt (1.-7.LT)

eine schwache, nicht signifikante ( $p = 0,057$ ) Korrelation ( $r = 0,247$ ) bei den un-  
behandelten Tieren nachweisbar. In der H+ Gruppe konnte keine Korrelation gese-  
hen werden, da es zu keiner Oozystenausscheidung kam.

Bei Betrachtung der Anzahl der Tage mit Oozystenausscheidung und Anzahl der  
Tage mit dünnflüssigem Durchfall ist eine schwach positive Korrelation von 0,195,  
die auf dem 5% Niveau signifikant ( $p=0,036$ ) ist, aufgetreten ( $N=115$ ). Die Varianz-  
aufklärung ist 4% und entspricht einer Korrelation von  $r=0,195$  ( $r^2=0,04$ ).

Eine höhere Anzahl an Tagen mit Oozystenausscheidung korreliert positiv mit einer  
höheren Anzahl an Durchfalltagen ( $P =0,036$ ).

In der Anzahl an Tagen mit Durchfall und Oozystenausscheidung unterschieden  
sich die Mittelwerte behandelte (H+) und unbehandelte (H-) Tiere über den ge-  
samten Untersuchungszeitraum nicht signifikant. Tendenziell hatten unbehandelte  
Kälber (H-) die leicht höhere Anzahl an Tagen mit dünnflüssigem Kot und an Tagen  
mit geringgradiger bis hochgradiger Oozystenausscheidung, wobei die Differenz  
der Mittelwerte bei ca. 0,1 Tagen lag (Tabelle 8 und 9).

**Tabelle 8: Gruppenstatistik für die Anzahl an Tagen mit Oozystenausscheidung und dünn-  
flüssigen Kot bei behandelten (H+) und nicht behandelten (H-) Kälbern**

	Halofuginon	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwer- tes
Anzahl der Tage mit Aus- scheidung	H-	58	2,17	1,216	0,160
	H+	57	2,09	1,154	0,153
Anzahl der Tage mit dünnflüssigem Kot	H-	59	1,14	1,008	0,131
	H+	58	1,03	1,228	0,161

**Tabelle 9: Anzahl der Tage mit Durchfall und gleichzeitiger Oozystenausscheidung**

<b>Statistiken</b>		Anzahl Tage Ausscheidung	Anzahl Tage Durchfall dünnflüssig
N	Gültig	115	117
	Fehlend	8	6
Mittelwert		2,13	1,09
Median		2,00	1,00
Standardabweichung		1,181	1,119

#### 4.2.4 Körpergewicht

Die behandelten Tiere (H+) waren in den ersten fünf Lebenswochen im Mittel jeweils geringfügig leichter als die H- Kälber, die Mittelwerte lagen aber nur um weniger als 1 kg unter denen der nicht behandelten Tiere. Am letzten Messzeitpunkt (25. Lebenswoche) waren dagegen die behandelten Tiere schwerer, und zwar im Mittel um 5,8 kg (Tabelle 10).

**Tabelle 10: Entwicklung der Gewichte (kg) der Tiere der Gruppen H+ und H- bis zur 25. LW**

		Deskriptive Statistiken		
		Mittelwert	Standardabweichung	N
Gewicht 2. Lebenswoche	H-	46,9	6,18	58
	H+	47,0	5,71	56
	Gesamt	46,9	5,93	114
Gewicht 3. Lebenswoche	H-	54,1	7,20	58
	H+	53,3	7,43	56
	Gesamt	53,7	7,30	114
Gewicht 4. Lebenswoche	H-	62,9	7,90	58
	H+	62,3	10,30	56
	Gesamt	62,6	9,12	114
Gewicht 5. Lebenswoche	H-	72,3	9,95	58
	H+	71,4	9,52	56
	Gesamt	71,8	9,71	114
Gewicht 25. Lebenswoche	H-	136,1	21,46	58
	H+	141,9	22,41	56
	Gesamt	138,9	22,03	114

Die Standardabweichungen und damit auch die Varianzen lagen meist eng beieinander, lediglich in der 4. Lebenswoche wiesen die behandelten Tiere eine deutlich höhere Streuung auf als die unbehandelten Tiere.

Männliche Tiere lagen, unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit, während der ersten fünf Wochen des Versuchsablaufes im Gewicht im Mittel generell höher als weibliche Kälber (Tabelle 11). In der 25. Lebenswoche waren die weiblichen Tiere

in beiden Versuchsgruppen zwar schwerer im Gewicht als die männlichen, aber nicht signifikant ( $P=0,402$ ).

**Tabelle 11: Vergleich der Gewichte (kg) zwischen den Kälbern getrennt nach Geschlecht und Behandlung im Untersuchungszeitraum**

Gruppe	Mittelwert	Standardabweichung	N
<b>Gewicht 2. Lebenswoche</b>			
weiblich H+	46,1	5,8913	31
weiblich H-	44,8	5,3152	26
männlich H+	47,6	5,9473	29
männlich H-	48,3	6,4796	33
<b>Gewicht 3. Lebenswoche</b>			
weiblich H+	52,3	7,3428	29
weiblich H-	51,5	6,8027	26
männlich H+	54,9	7,8520	28
männlich H-	55,7	7,5299	33
<b>Gewicht 4. Lebenswoche</b>			
weiblich H+	60,7	9,4393	29
weiblich H-	59,3	7,5791	26
männlich H+	64,6	11,1223	28
männlich H-	65,9	6,9312	32
<b>Gewicht 5. Lebenswoche</b>			
weiblich H+	70,4	8,7751	29
weiblich H-	69,4	10,3855	26
männlich H+	72,9	10,4772	28
männlich H-	74,6	9,0638	32
<b>Gewicht 25. Lebenswoche</b>			
weiblich H+	145,4	25,6772	28
weiblich H-	141,1	19,2222	26
männlich H+	138,5	18,4300	28
männlich H-	131,9	22,5826	32

Die geschlechts- und behandlungsbezogenen Gewichtsunterschiede in der 2., 3., 4., 5. und 25. Lebenswoche sind nicht signifikant (Tabelle 12). In der Gewichtszunahme über den Beobachtungszeitraum sind lediglich die Mittelwerte der weiblichen und behandelten Tiere (H+) auffallend höher als die Mittelwerte der männlichen unbehandelten Tiere (H-), dieser Unterschied ist nicht signifikant ( $P=0,303$ ).

**Tabelle 12: Signifikanzprüfung der Unterschiede im Gewicht.**

Messzeitpunkt	F / df <sub>treat</sub> ; df <sub>error</sub>	Varianzaufklärung	P
2. Lebenswoche	2,002 / 3 ; 115	5,0%	0,118
3. Lebenswoche	2,193 / 3 ; 112	5,5%	0,093
4. Lebenswoche	3,612 / 3 ; 111	8,9%	0,051
5. Lebenswoche	1,808 / 3 ; 111	4,7%	0,150
25. Lebenswoche	1,994 / 3 ; 110	5,2%	0,119
Gewichtszunahme	3,496 / 3 ; 110	8,7%	0,018

In der Gewichtszunahme zeigten die behandelten Kälber (H+) um 7 kg höhere Mittelwerte als die Kälber der H- Gruppe. Die Mittelwerte der H+ Gruppe lagen damit um 7,6% über den Werten der H- Gruppe (Tabelle 13). Dieser Unterschied ist tendenziell zwar erkennbar, aber aufgrund der hohen Streuung mit  $p = 0,095$  nicht signifikant.

**Tabelle 13: Gruppenstatistik für die Gewichtszunahme (kg) der H+ (n=62) und H- (n=61) Gruppe vom 1. Lebenstag bis 25. Lebenswoche bei Vernachlässigung des Geschlechtes**

Gewichtszunahme	Gruppe	Mittelwert	Standardabweichung	N
vom 1.Lebenstag- 25.Lebenswoche	H+	99	21,24012	62
	H-	92	21,69350	61

Die Mittelwerte der Gewichtszunahme vom ersten Lebenstag bis zur 25. Lebenswoche unterschieden sich zwischen den Gruppen H+ und H-, wenn die Kälber nach Geschlecht und Behandlung getrennt betrachtet wurden. Die maximale Differenz von 16,5 kg lag zwischen weiblichen behandelten und männlichen unbehandelten Tieren. Generell wiesen die weiblichen behandelten Tiere höhere Gewichtszunahmen als die männlichen behandelten Kälber auf, was aber nicht signifikant war ( $P=0,303$ ). In beiden Geschlechtern nahmen die Behandelten signifikant ( $P=0,031$ ) mehr zu als die unbehandelte Kontrolle (Tabelle 14). Im Vergleich von Tieren gleichen Geschlechts wirkt sich also eine Behandlung positiv auf das

Gewicht aus. Vergleicht man die H+ und H- Gruppen aber insgesamt, wird dieser positive Effekt durch die ungleichen Anteile männlicher und weiblicher Tiere in den Gruppen und aufgrund der geschlechtsabhängigen Entwicklung überdeckt. An einzelnen Tagen ist dieser Effekt nicht sichtbar, wohl aber über die Versuchsdauer.

**Tabelle 14: Deskriptive Statistik der Gewichtszunahme zwischen dem ersten Lebenstag und der 25. Lebenswoche für die H+ und H- Gruppen beider Geschlechter (relative Zunahme: Endgewicht–Startgewicht/Startgewicht\*100)**

Gruppe	Mittelwert	Differenz der Mittelwerte	Relative Zunahme (%)	Standardabweichung	N
Weiblich H+	102,704	3,2	140,8	23,7817	28
Weiblich H-	99,538		139	18,7361	26
Männlich H+	95,268	9,0	110	18,0209	28
Männlich H-	86,263		89,7	22,3753	32
<b>Gesamt</b>	<b>95,540</b>		<b>120</b>	<b>21,6456</b>	<b>114</b>
Abhängige Variable: Gewichtszunahme 1. Lebenstag bis 25. Lebenswoche					

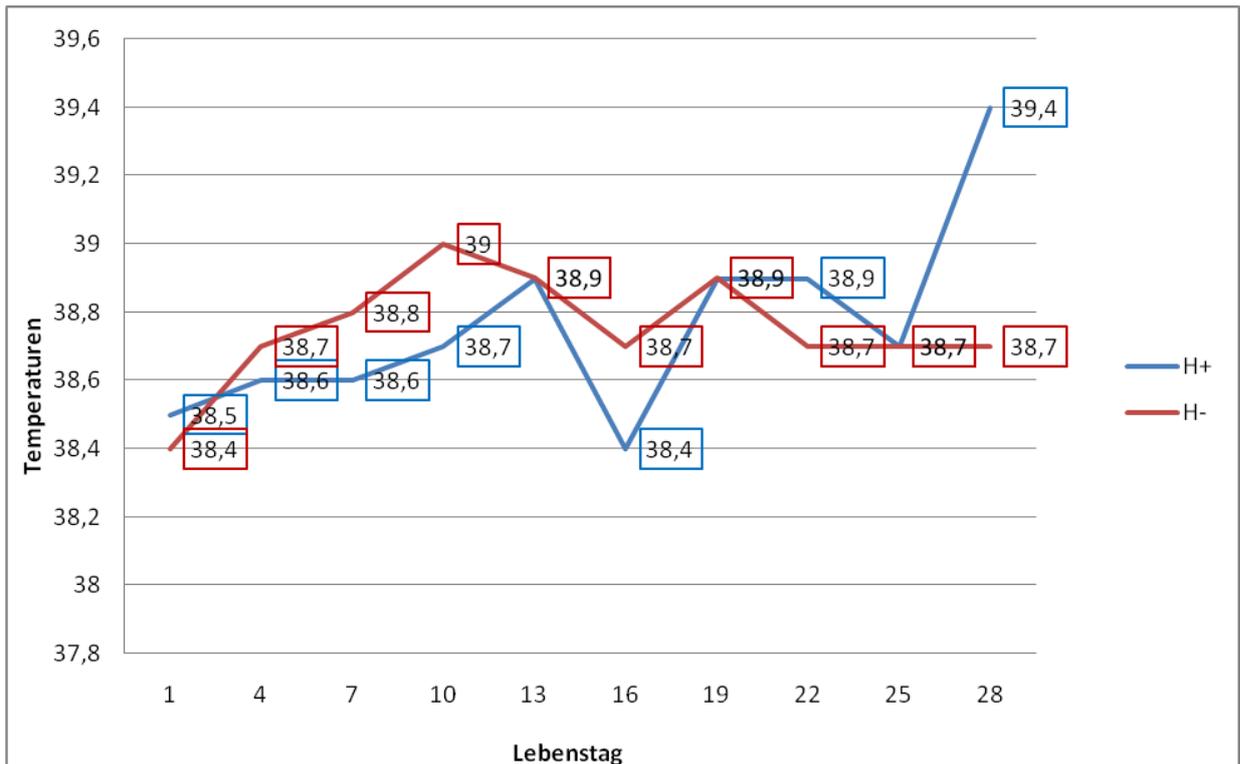
In der Signifikanzprüfung der Effekte Zeitfaktor, Gruppenunterschied und Interaktion aus Gruppenunterschied und Zeit machte der Faktor Zeit 96,8% der Varianz aus und war mit (P=0,000) höchst signifikant. Die beiden anderen Faktoren waren mit P=0,192 und P=0,732 nicht signifikant. Die Gruppenzugehörigkeit (H+, H-) machte über die sechs Messzeitpunkte 0,1% der Gesamtvarianz aus. Der Interaktionseffekt aus Gruppenunterschied und Zeit betrug 6,5 % der Varianz. Die Gruppen (H+, H-) unterschieden sich hinsichtlich des Verlaufs der Gewichtsentwicklung nicht signifikant. Die Signifikanz zwischen H+ und H- Tieren kam nur in der zusätzlichen Aufteilung nach männlichen und weiblichen be- oder unbehandelten Tieren zum Vorschein. Die geringen Unterschiede in der Gewichtsentwicklung der H+ und H- Gruppen lagen im Bereich der zufälligen Schwankungen, oder wurden durch die ungleiche Geschlechtsverteilung überdeckt.

Gewichtszunahme und die Durchfallsymptomatik waren über den gesamten Beobachtungszeitraum nicht signifikant korreliert (p=0,101, r= -154). Tendenziell war

eine höhere Gewichtszunahme mit weniger Durchfallsymptomatik verbunden, aber wahrscheinlich auf Grund der Fallzahlen nicht signifikant.

#### 4.2.5 Körpertemperatur

Der Verlauf der Körpertemperatur war über den gesamten Beobachtungszeitraum statistisch unauffällig. Es konnte kein Geschlechtseffekt nachgewiesen werden. Tendenziell waren bis zum 19. Lebenstag durchschnittlich geringere Temperaturen in der Halofuginongruppe (H+) sichtbar. Ab dem 19. Lebenstag lagen die Mittelwerte der Kontrollgruppe (H-) in niedrigeren Bereichen (Abbildung 11).



**Abbildung 11: Durchschnittliche Körpertemperatur (C°) der Halofuginongruppe (H+, n = 62) und der Kontrolle (H-, n = 61) im gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen.**

In der unbehandelten Gruppe (H-) wiesen 56 Kälber (91,8%) im Beobachtungszeitraum an mindestens einem Untersuchungstag Fieber auf, davon waren 22 Tiere (37%) mit Temperaturen ab 40 °C auffällig geworden. Auch von den Tieren der behandelten Gruppe (H+) zeigten 45 Fieber (72,6%). Davon hatten zehn Tiere (16,3%) Temperaturen über 40 °C. 17 Kälber (27,4%) der behandelten Gruppe (H+) und 5 Tiere (8,2%) der unbehandelten Gruppe (H-) zeigten nie Temperaturen über 39,2 °C (Tabelle 15). Die Behandlung konnte das Auftreten von Fieber nicht verhindern, aber es waren insgesamt weniger Tiere betroffen.

**Tabelle 15: Anteil von Körpertemperaturmessungen der Kälber der Gruppen H+ (n=62) und der H- (n=61) mit normaler oder an mindestens einem Untersuchungstag erhöhter Körpertemperatur**

Gruppe	Normale Körpertemperatur (38,5°C-39,2°C)	Erhöhte Körpertemperatur (über 39,2°C)
H+	27,4%	72,6%
H-	8,2%	91,8%
Körpertemperatur von über 40°C		
H+	16,3%	
H-	36,97%	

Statistisch zeigte sich am 10. Lebenstag ein signifikanter ( $P = 0,039$ ) Unterschied der Körperinnentemperatur der Kälber beider Gruppen. An diesem Tag war die Varianzaufklärung größer als 5 % der Gesamtvarianz bei geringen Mittelwertunterschieden. Im zusätzlichen Einzelvergleich konnte ein konkreter Gruppenunterschied für den 10. Lebenstag nicht bestätigt werden, da die Körpertemperaturwerte in den Tiergruppen von Messzeitpunkt zu Messzeitpunkt wechseln. Zu den anderen Untersuchungszeitpunkten lag die Varianzaufklärung im Bereich geringer bis marginaler Effektstärken (Tabelle 16).

**Tabelle 16: Signifikanzprüfung der Unterschiede in der Körpertemperatur aller Tiere an den einzelnen Untersuchungstagen**

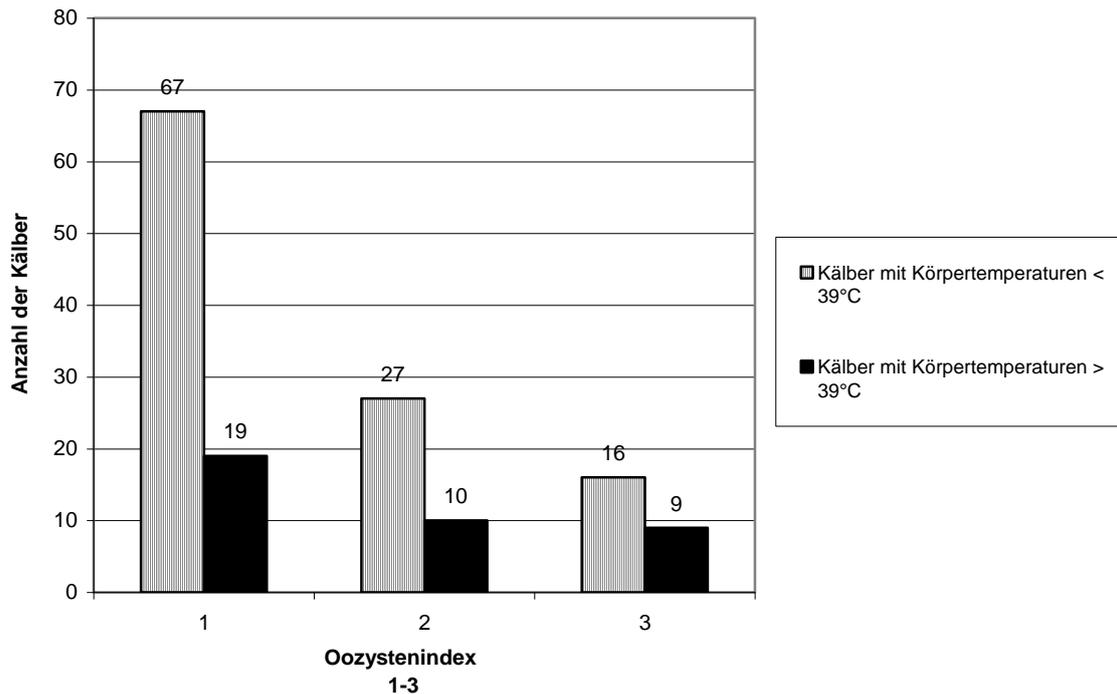
Messzeitpunkt	F / df <sub>treat</sub> ; df <sub>error</sub>	Varianzaufklärung	P
1. Lebenstag	1,077 / 3 ; 119	2,6%	0,362
4. Lebenstag	1,077 / 3 ; 118	2,7%	0,362
7. Lebenstag	1,296 / 3 ; 118	3,2%	0,279
10. Lebenstag	2,878 / 3 ; 116	6,9%	0,039
13. Lebenstag	0,565 / 3 ; 114	1,5%	0,639
16. Lebenstag	0,801 / 3 ; 113	2,1%	0,496
19. Lebenstag	0,403 / 3 ; 112	1,1%	0,751
22. Lebenstag	0,412 / 3 ; 111	1,1%	0,745
25. Lebenstag	1,013 / 3 ; 111	2,7%	0,390
28. Lebenstag	0,094 / 3 ; 111	0,3%	0,963

Die Korrelation der Oozystenausscheidung mit der Körpertemperatur zu jedem der zehn Messzeitpunkte zeigte in allen Fällen einen schwachen bis sehr schwachen Zusammenhang. Nur am 28. Lebenstag ( $P = 0,036$ ) konnte ein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden, der mit  $r = .196$  (das entspricht knapp 4% Varianzaufklärung) immer noch marginal, aber auf dem 5%-Niveau signifikant war (Tabelle 17).

**Tabelle 17: Korrelation zwischen Oozystenausscheidung und Körpertemperatur im Beobachtungszeitraum von 28 Tagen**

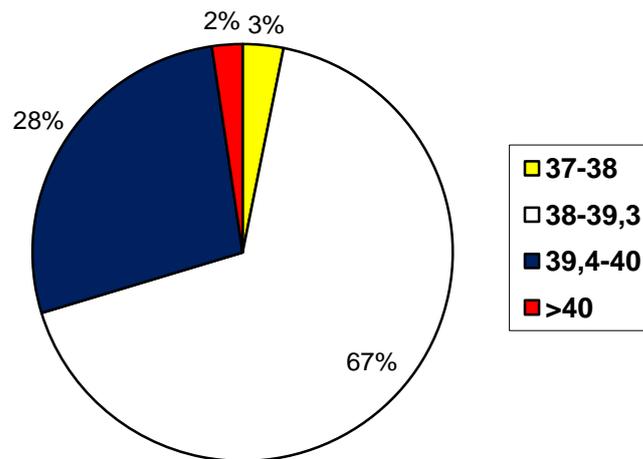
Lebenstag	r-Wert	Signifikanz (P)
1. LT	0,007	0,940
4. LT	0,125	0,169
7. LT	0,091	0,322
10. LT	0,158	0,085
13. LT	0,171	0,065
16. LT	0,026	0,778
19. LT	0,065	0,489
22. LT	0,029	0,759
25. LT	0,061	0,514
28. LT	0,196	0,036

Betrachtet man die erhöhte Körpertemperatur der Ausscheider eingeteilt nach Ausscheidungsindex, haben 19 Tiere (12,8%) mit einem maximalen Index 1 mindestens einmal Temperaturen  $\geq 39^{\circ}\text{C}$  und 67 (45,3%) durchweg Temperaturen  $\leq 39^{\circ}\text{C}$ . Im Index 2 zeigen 10 Tiere (6,8%) an mindestens einem Untersuchungstag erhöhte Temperatur und 27 Tiere (18,2) immer normale Temperaturen und im Index 3 hatten 9 Tiere (6,1%) mindestens einmal über  $39^{\circ}\text{C}$  und 16 Kälber (10,8%) ausschließlich  $\leq 39^{\circ}\text{C}$  Körpertemperatur (Abbildung12). Die Körpertemperatur wird somit nicht vom Grad der Oozystenausscheidung beeinflusst.



**Abbildung 12: Anzahl der Messungen der Körpertemperaturen über und unter 39°C in Abhängigkeit von der Oozystenausscheidung**

Von den Kälbern, welche am Untersuchungszeitpunkt dünnflüssigen Kot ausschieden, hatten gleichzeitig 68% eine Temperatur zwischen 38 und 39°C, 27% zwischen 39,4 und 40°C, 3% zwischen 37 und 38°C und 2% von über 40°C (Abbildung 13). Der größte Anteil der Tiere mit dünnflüssigem Kot, hatte eine normale Körpertemperatur. Das Auftreten von dünnflüssigem Kot stand somit nicht mit einer erhöhten Körpertemperatur im Zusammenhang. Bei einer Kryptosporidiose ist somit nicht zwangsläufig mit einer Temperaturerhöhung zu rechnen.



**Abbildung 13: Körpertemperatur bei Kälbern, die zeitgleich dünnflüssigen Kot zeigten über den gesamten Untersuchungszeitraum von 28 Tagen**

In der Studie war auffallend, dass Kälber mit erhöhten Körpertemperaturen (>39,3°C) und unveränderter Kotkonsistenz, dann aber an einer veränderten Lungensymptomatik litten.

#### 4.2.6 Lungensymptomatik

Zur Beurteilung der Lungengesundheit wurden der Index 1 (vesikuläres Atemgeräusch) und der Index 2 (laryngotracheales, tracheobronchiales bzw. bronchobroncholäres Atemgeräusch) gewählt. Außerdem wurden die Tiere für die Auswertung der Ergebnisse in zwei Kategorien unterteilt.

Kategorie A Kälber zeigten eine krankhafte Lungensymptomatik (Index 2) an weniger als fünf Terminen des Untersuchungszeitraums und Kategorie B Kälber in mehr als fünf Fällen.

Bei den H- Tieren (n=61) konnten 48 Kälber (78,7%) der Kategorie A zugeordnet werden und 7 (11,5%) der Kategorie B. Sechs Kälber (9,8%) blieben durchgängig unauffällig (Tabelle 18).

In der Behandlungsgruppe (H+, n = 62) gehörten 45 Tiere (72,6%) der Kategorie A und 11 Tiere (17,2%) der Kategorie B zuordnen. Sechs Kälber (9,7%) zeigten über den gesamten Zeitraum den Index 1.

**Tabelle 18: Lungensymptomatik nach Index 1 (vesikuläres Atemgeräusch) und Index 2 (laryngotracheales, tracheobronchiales bzw. bronchobroncholäres Atemgeräusch) bei Halofuginon behandelten (H+) und nicht behandelten Tieren (H-) im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen**

Gruppen	Kategorie A (Index 2 in ≤ Fünf Fällen)	Kategorie B ( Index 2 in ≥ Fünf Fällen)	Unauffällig (Index 1)
H+	72,6%	17,7%	9,7%
H-	78,7%	11,5%	9,8%

Hinsichtlich verschärfter Atemgeräusche und gleichzeitigem Auftreten dünnflüssigen Kots konnten 16 (25,8%) behandelte Tiere und 11 (18%) nicht behandelte Tiere gezählt werden. Keinen Durchfall, aber gleichzeitig Index 2 zeigten 46 Kälber (74,2%) der H+ Gruppe und 45 Tiere (73,8%) der H- Gruppe.

Ein Zusammenhang von Lungensymptomatik und gleichzeitigem Auftreten von Diarrhoe ist nicht nachweisbar (P = 0,457) und somit konnte kein Zusammenhang zwischen Lungengesundheit und Kryptosporidiose bzw. Behandlung gezeigt werden.

#### 4.2.7 Ernährungszustand und Trinkverhalten

In der H+ Gruppe hatten 85,6% der Tiere im gesamten Beobachtungszeitraum einen guten bis sehr guten Ernährungszustand (Index 1), bei 13,2% war er an mindestens einem Untersuchungszeitpunkt mäßig (Index 2) und bei 1,2% schlecht. In der Kontrollgruppe H- hatten 79,3% mindestens einmal den Index 1, 20,5% den Index 2 und ein Tier (0,2%) den Index 3. Die H+ Tiere hatten öfter einen guten bis sehr guten Ernährungszustand als die in der H- Gruppe, aber auch mehr Fälle von Kachexie (Tabelle 19). Insgesamt waren vier Tiere (drei Tiere der H+ eines der H- Gruppe) stark abgemagert. Zwei Kälber erschienen zu drei Untersuchungszeitpunkten kachektisch und zwei Tiere an einem Untersuchungstag. Eines der Tiere mit kachektischem Ernährungszustand an drei Untersuchungstagen hatte hochgradig Oozysten ausgeschieden. Die anderen schieden keine Oozysten aus, zeigten aber eine verschärft vesikuläre Lungensymptomatik.

**Tabelle 19: Ernährungszustand der H+(n=62) und H- (n=61) Gruppe im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen. Index 1= gut bis sehr gut, Index 2= vermindert, Index 3= kachektisch.**

Untersuchungstag	1.	4.	7.	10.	13.	16.	19	22.	25.	28.
<b>H+</b>										
Index 1 [N= und %]	58 (93,5%)	58 (93,5%)	49 (79%)	50 (80,6%)	50 (80,6%)	54 (87,1%)	54 (87,1%)	54 (87,1%)	53 (85,5%)	51 (82,3%)
Index 2 [N= und %]	4 (6,5%)	4 (6,5%)	12 (19,3%)	11 (17,7%)	11 (17,7%)	8 (12,9%)	7 (11,3%)	7 (11,3%)	7 (11,3%)	11 (17,7%)
Index 3 [N= und %]	0	0	1 (1,6%)	1 (1,6%)	1 (1,6%)	0	1 (1,6%)	1 (1,6%)	2 (3,2%)	0
<b>H-</b>										
Index1 [N= und %]	55 (33,5%)	47 (77%)	50 (82%)	42 (68,9%)	47 (77%)	43 (70,5%)	49 (80,3%)	46 (75,4%)	55 (33,5%)	50 (82%)
Index 2 [N= und %]	6 (9,8%)	14 (23%)	11 (18%)	18 (29,5%)	14 (23%)	18 (29,5%)	12 (19,7%)	15 (24,6%)	6 (9,8%)	11 (18%)
Index 3 [N= und %]	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Die Signifikanzprüfung ergab für den 4. und 16. Lebenstag einen nachweislichen Unterschied zwischen den Gruppen. An diesen Tagen hatten unbehandelte Kälber (H-) einen schlechteren Ernährungszustand als H+ Tiere (Tabelle 20). H- Tiere hatten insgesamt zu sechs (1., 4., 10., 13., 16., 19., 22. Tag) der zehn Untersuchungszeitpunkte einen schlechten Ernährungszustand, der sich aber außer am 4. und 16. Tag nicht signifikant von den Beobachtungen in Gruppe H+ unterschieden hat. An drei anderen Zeitpunkten (7., 13., 25., LT) schienen die H+ Tiere einen schlechteren Ernährungszustand (Index 3) als H- Tiere zu zeigen, dies war aber statistisch nicht signifikant. Am 28. LT gab es weder in der H+ noch in der H- Gruppe Tiere einen schlechten Ernährungszustand (Index 3) zu verzeichnen.

**Tabelle 20: Statistik für den Ernährungszustand der Kälber der H+ (n=62) und H- (n=61) Gruppe im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen**

Lebenstag	Mann-Whitney-U-Test	Wilcoxon-W	Signifikanz (2-seitig) (p)
1. Lebenstag	1827,000	3780,000	0,494
4. Lebenstag	1555,500	3446,500	0,011
7. Lebenstag	1794,000	3685,000	0,621
10. Lebenstag	1593,500	3423,500	0,154
13. Lebenstag	1688,500	3458,500	0,697
16. Lebenstag	1425,000	3136,000	0,030
19. Lebenstag	1581,500	3234,500	0,399
22. Lebenstag	1493,000	3146,000	0,189
25. Lebenstag	1557,000	3268,000	0,358
28. Lebenstag	1647,500	3358,500	0,964

Insgesamt fiel damit in der H- Gruppe in den ersten zwei Lebenswochen öfter ein verminderter Ernährungszustand auf als in der H+ Gruppe. Dies korrespondiert mit der Oozystenausscheidung, dem Durchfallgeschehen und den Gewichtsmessungen und ist im Zusammenhang mit der Kryptosporidiose zu sehen.

In der H+ Gruppe zeigten 88% ein gutes und 11,8% ein vermindertes Trinkverhalten. Ein Tier (0,2%) trank an einem Untersuchungszeitpunkt (4. Lebenstag) nicht (Tabelle 21). Es hatte zu diesem Zeitpunkt eine geringgradige (Index 1) Oozystenausscheidung.

In der H- Gruppe tranken 90,2% immer gut, 9,5% zeitweise vermindert und zwei Tiere (0,3%) an einzelnen Tagen gar nicht. Eines dieser Tiere zeigte gleichzeitig eine geringgradige Oozystenausscheidung und eine leicht erhöhte Körpertemperatur (39,4 °C) und eine verschärft vesikuläre Lungensymptomatik. Das andere Kalb hatte auch eine geringgradige Oozystenausscheidung und zusätzlich eine breiige Kotkonsistenz.

**Tabelle 21: Trinkverhalten der Kälber der H+ (n=62) und H- (n=61) Gruppe im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen. Score 1= trinkt normal, Score 2= trinkt vermindert, Score 3= trinkt nicht.**

Untersuchungstag	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28
<b>H+</b>										
Index 1 [N= und %]	59 (95,2%)	57 (91,9%)	53 (85,5%)	54 (87,1%)	51 (82,3%)	56 (90,4%)	51 (82,3%)	57 (91,9%)	56 (90,4%)	52 (45,2%)
Index 2 [N= und %]	3 (4,8%)	4 (6,45%)	9 (14,5%)	8 (12,9%)	11 (17,7%)	6 (9,7%)	11 (17,7%)	5 (8%)	6 (9,7%)	10 (16,3%)
Index 3 [N= und %]	0	1 (1,6%)	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>H-</b>										
Index 1 [N= und %]	59 (96,7%)	56 (91,8%)	55 (90%)	49 (80,3%)	55 (90%)	57 (93,5%)	54 (88,5%)	56 (91,8%)	56 (91,8%)	53 (86,9%)
Index 2 [N= und %]	2 (3,3%)	5 (9%)	6 (9,8%)	10 (16,4%)	6 (9,8%)	4 (6,6%)	7 (11,5%)	5 (9%)	5 (9%)	8 (13,1%)
Index 3 [N= und %]	0	0	0	2 (3,3%)	0	0	0	0	0	0

Die Ergebnisse zeigen insgesamt keine tendenzielle oder signifikante Abhängigkeit des Trinkverhaltens von einem Befall mit *Cryptosporidium* oder zwischen problematischem Trinkverhalten und einer erfolgten Halofuginonbehandlung (Tabelle 22).

**Tabelle 22: Statistik des Trinkverhalten in der H+ (n=62) und H- (n=61) Gruppe im Untersuchungszeitraum von 28 Tagen.**

Trinkverhalten	Mann-Whitney-U	Wilcoxon-W	Signifikanz (2-seitig) (p)
1. Lebenstag	1830,500	3721,500	0,319
4. Lebenstag	1858,000	3749,000	0,979
7. Lebenstag	1769,000	3660,000	0,410
10. Lebenstag	1643,000	3473,000	0,193
13. Lebenstag	1593,000	3363,000	0,192
16. Lebenstag	1650,000	3420,000	0,492
19. Lebenstag	1556,500	3326,500	0,271
22. Lebenstag	1650,500	3361,500	0,977
25. Lebenstag	1648,000	3359,000	0,954
28. Lebenstag	1620,000	3331,000	0,764

Eine deutlich positive Korrelation von  $r=0,597$  mit einer Signifikanz von  $p=0,001$  konnte für die Abhängigkeit des Ernährungszustandes vom Trinkverhalten bewiesen werden. Ein ungenügendes Trinkverhalten korreliert erwartungsgemäß mit einem schlechten Ernährungszustand.

## 5 Diskussion

Im ausgewählten Studienbetrieb mit einer Herdengröße von etwa 703 Milchkühen und 607 Kälbern mit separater Aufstallung in verschiedenen Bereichen (K0, K1, K2) sollte die Kryptosporidiose anhand von Felddaten analysiert und statistisch bewertet werden. Die Datensammlung beinhaltet Werte zur Oozystenausscheidung, Durchfallsymptomatik, Gewichtszunahme, Dehydratationsgrad, Trinkverhalten und Lungensymptomatik. Das Ziel war, die Beziehungen zwischen den Parametern und erfolgter Halofuginonbehandlung darzustellen. In einigen Fällen wurde zusätzlich eine Geschlechtsdifferenzierung der Versuchstiere in die Auswertung einbezogen. Informationen dieser Art sind eine wesentliche Grundlage für die Einschätzung der Bedeutung der Erkrankung im landwirtschaftlichen Betrieb und damit auch für oder gegen Behandlung sowie deren Konzeption.

Im Versuchsablauf wurden insgesamt 123 Kälber, davon 62 männliche und 61 weibliche Tiere im Alter vom ersten bis zum 28. Lebenstag untersucht. Es erfolgte die Aufteilung der Tiere in zwei Gruppen. Die Kälber der Gruppe 1 repräsentierten 62 Tiere, welche vom ersten bis zum siebten Lebenstag mit Halofuginon (Halocur®, Firma Intervet) behandelt und in mit Neopredisan® (Menno Chemie) desinfizierten Buchten aufgestellt wurden. Die zweite Gruppe (Kontrolle) umfasste 61 Kälber welche weder mit Halofuginon behandelt noch in mit Neopredisan desinfizierten Bereichen aufgestellt wurden. Die Kälberbuchten der Kontrollgruppe wurden lediglich mit einem Hochdruckreiniger gesäubert. Am 1., 4., 7., 10., 13., 19., 22., 25. und 28. Lebenstag fand eine Kotprobenuntersuchung auf die Oozystenausscheidung und die Beurteilung der Kotkonsistenz statt. Zur semiquantitativen Auswertung geeignet erwies sich die Färbung des Kotasstrichs mittels Karbolfuchsin (HEINE 1982). Weiterhin wurden an diesen Tagen der Allgemeinzustand, der Ernährungszustand, das Trinkverhalten, der Dehydratationsgrad und die Lungensymptomatik bewertet. Alle Tiere wurden einmal wöchentlich im Zeitraum von 28 Tagen, beginnend am ersten Lebenstag, gewogen. Im Alter von einem halben Jahr fand eine zusätzliche Gewichtskontrolle statt, um mögliche Unterschiede in der Gewichtszunahme der beiden Tiergruppen aufzudecken.

## 5.1 Oozystenausscheidung

Bezüglich der Oozystenausscheidung konnte bei den H+ Kälbern im Vergleich zu den H- Tieren ein deutlich veränderter Verlauf in Ausscheidungsintensität und -dauer festgestellt werden. Ein signifikanter Unterschied in der Oozystenausscheidung konnte erwartungsgemäß zwischen weiblichen und männlichen Kälber nicht beobachtet werden. Mit Halofuginon behandelte Tiere (H+) schieben bis zum 10. Lebenstag eine signifikant ( $P < 0,05$ ) geringere Menge an Oozysten aus als unbehandelte (H-) Tiere. Ab dem 10. Lebenstag, also nach Beendigung der Behandlung, konnte dann ein kontinuierlicher Anstieg der Oozystenausscheidung in der H+ Gruppe beobachtet werden, bis schließlich am 16. Lebenstag das Maximum an Oozystenausscheidung erreicht wurde. Danach fielen die Werte kontinuierlich ab. Bezogen auf die H- Tiere, deren Maximum an Oozystenausscheidung am 10. Lebenstag sichtbar wurde, hatte demnach die Halofuginonbehandlung eine Verschiebung der Oozystenausscheidung bewirkt. Eine Verschiebung der Oozystenausscheidung mit Halofuginon behandelter Tiere zu späteren Zeitpunkten hin konnte auch in anderen Studien beobachtet werden (PEETERS et al. 1993, KRULL 1999, JARVIE et al. 2005, KEIDEL 2007).

Bei PEETERS et al. (1993) zeigten die behandelten Tiere zehn Tage nach dem Absetzen der metaphylaktischen Halofuginonbehandlung eine Oozystenausscheidung, wenn auch von geringerer Intensität als bei den unbehandelten Kontrollen. Die Autoren gehen von der Annahme aus, dass während der Medikation zumindest teilweise eine Immunität entwickelt wird, welche die Oozystenausscheidung nach Ende der Behandlung verringert. Diese Annahme deckt sich nicht mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Im Behandlungszeitraum war zwar eine signifikant geringere Oozystenausscheidung der H+ Gruppe zu beobachten, aber nach Absetzen von Halofuginon übertrafen die Werte der H+ Gruppe sogar diejenigen der H- Gruppe.

Hohe Oozystenwerte in der H+ Gruppe konnten in dieser Studie zwei Wochen nach Behandlungsende beobachtet werden. Dieser Anstieg der Oozystenausscheidung nach Absetzen einer erfolgten Halofuginonbehandlung deckt sich mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen (VILLACORTA et al. 1991, KEIDEL 2007).

Die zusätzliche Desinfektion mit Neopredisan® in den Buchten der H+ Kälber könnte ein Grund für das Oozystenausscheidungverhalten der H+ Tiere nach Absetzen der Halofuginonbehandlung darstellen. Es ist davon auszugehen, dass die kombinierte Anwendung von Halofuginon und Neopredisan-Desinfektion zu einer geringeren Stimulation des Immunsystems führte. Durch dieses integrierte Behandlungskonzept wurde in den ersten beiden Lebenswochen der Infektionsdruck möglicherweise soweit verringert, dass sich die behandelten Tiere nicht mit einer kritischen Menge an endogenen Parasitenstadien, welche für eine schützende Immunantwort notwendig sind, infizieren konnten. Diese Vermutung wurde auch von KEIDEL (2007) aus ihren Untersuchungen abgeleitet. Die proteolytische Wirkung des Desinfektionsmittels Neopredisan auf die Oozystenhülle erleichterte wahrscheinlich die Exzystierung der Sporozoiten, die wenig resistent gegen Umweltfaktoren sind, und führte somit zu einer Reduktion an immunogenen Stadien (Parasitenstadien der endogenen Phase) im Wirt. Die Studie von NAJDROWSKI (2006) bestätigt diese Annahme. Somit zeigte die Anwendung von Halofuginon eine effektivere Inaktivierung der Parasitenstadien, da die schützende Barriere der Oozystenhülle dem Parasiten fehlte. Die behandelten Tiere blieben dadurch nach Beendigung der Halofuginonbehandlung für eine Feldinfektion voll empfänglich.

VILLACORTA et al. (1991) berichten ebenfalls über eine höhere Oozystenausscheidung behandelter Tiere nach Absetzen der Halofuginonbehandlung. Zusätzlich beobachteten sie im Zeitraum nach der Behandlung einen proportionalen Anstieg der Oozystenausscheidung mit Dosiserhöhung des Medikamentes Halofuginon. Um Resistenzen zu vermeiden, ist eine Reduktion der Dosis jedoch nicht empfehlenswert (VILLACORTA et al. 1991). Insgesamt ist anzunehmen, dass das Immunsystem für eine adäquate Stimulation nach natürlicher Infektion von der Menge immunogenen Materials abhängig ist.

Die signifikante Senkung der Oozystenausscheidung im Behandlungszeitraum stellt dennoch einen großen Nutzen für die Bekämpfung der Kryptosporidiose in Problembetrieben dar. Der dadurch entstandene geringere Infektionsdruck in der Umgebung der Tiere reduziert nachfolgend das Risiko einer Kryptosporidieninfektion in den ersten kritischen Lebenswochen, allerdings um den Preis einer danach ver-

gleichsweise höheren Anfälligkeit für den Erreger, die gegebenenfalls Beobachtung verdient. Auch wenn ältere Tiere möglicherweise nicht so empfindlich wie Neonaten auf die Infektion reagieren, können sie, wenn sie nicht ausreichend immun sind und später Erregerkontakt haben, doch zu einem anhaltend hohen Infektionsdruck im Bestand beitragen

Die Kombination aus Desinfektion und Halofuginonbehandlung trägt entscheidend zur Erregerminimierung bei. So konnte bei den H+ Tieren in dieser Studie nach mehrmaliger Desinfektion der Kälberbuchten im Zuge der Umstallung ein besserer Allgemeinzustand beobachtet werden, auch wenn die Fallzahl nicht für eine statistische Aussage ausreichte. Da aber in anderen Untersuchungen und im Rahmen von Desinfektionsmittelprüfungen die Wirksamkeit des Neopredisans gegen Kryptosporidien und andere Protozoen und Endoparasiten nachgewiesen wurden (DAUGSCHIES et al. 2002, JOACHIM et al. 2003a, KALETA 2003), ist anzunehmen, dass die Reduzierung des Infektionsdrucks in der Umgebung zusammen mit der spezifischen Halofuginonwirkung für den besseren Allgemeinzustand verantwortlich war (DAUGSCHIES et al. 2002, JOACHIM et al. 2003a, KALETA 2003). Eine entscheidende Rolle für die ausreichende Wirkung scheint die Häufigkeit der Desinfektion zu spielen. So beobachtete KEIDEL (2007), dass eine einmalige Desinfektion die Oozystenausscheidung nicht ausreichend beeinflusst. Ursachen für ein Versagen der Desinfektion unter Feldbedingung könnten Eiweißfehler bedingt durch Restschmutz auf der Stalloboberfläche, die verschiedenen Materialien in den Kälberbuchten selbst und die nicht vollständig erreichbare Eliminierung der Parasitenstadien darstellen (DUPONT et al. 1995, NYDAM et al. 2001, YILMAZ und KALETA 2003, KEIDEL 2007). Unter dem Gesichtspunkt der Immunstimulation kann die unvollständige Erregereliminierung auch als positiv gewertet werden. Will man eine weitgehende Reduzierung der überlebensfähigen Dauerstadien in der Umgebung erreichen, muss die Desinfektion regelmäßig auf sehr gut gereinigten, trockenen Stalloboberflächen und im K0 bis K1/K2 Bereich erfolgen. Die Desinfektion der Buchten von älteren Tieren könnte zu einer Reduzierung der Erregerverschleppung beitragen und somit junge Kälber vor einer Infektion schützen.

Eine Desinfektion ohne Behandlung der Tiere trägt keinen ausreichenden Nutzen zur Bekämpfung der Kryptosporidiose bei, da keine ausreichende Erregerminimie-

rung in der Umgebung zu erreichen ist. Bei fortbestehender Infektionsexposition wird über die Oozystenausscheidung der Tiere der Infektionsdruck auch bei vorübergehend reduzierter Oozystendichte in der Umgebung rasch wieder ansteigen. KEIDEL (2007) bestätigt diese Vermutung in ihren Untersuchungen. Eine verlängerte oder weitere Halofuginonbehandlung, zum Beispiel im K1/ K2 Bereich, könnte sich in Problembetrieben positiv auswirken. Die Relationen zwischen Aufwand und Nutzen sowie Nutzen und Kosten müssten hier konkret für den Betrieb erörtert werden. Die orale Eingabe von Halofuginon bei Kälbern im Alter bis zum siebten Lebenstag ist unter Praxisbedingungen einfacher zu realisieren als bei älteren Kälber (späten K1 oder K2). Eine wiederholte spezifische Desinfektion könnte gleichermaßen im K1- und im K2-, wie auch in im K0-Bereich durchgeführt werden, um den Infektionsdruck besser zu kontrollieren. KEIDEL (2007) berichtete allerdings, dass bei zusätzlicher Desinfektion im K1 Bereich kein sichtbarer Erfolg eintrat. Allerdings wurden in dieser Studie die Tiere keiner zusätzlichen Halofuginonbehandlung unterzogen. Es wäre also noch zu untersuchen, ob eine intensivere Desinfektion, begleitet von einer gezielten Halofuginonbehandlung, langfristig Nutzen bringen könnte.

Über den gesamten Beobachtungszeitraum wurde eine kumulative Prävalenz von 95,1% festgestellt. Eine ähnlich hohe Prävalenz (86,4%) konnten SINGH et al. (2006) bei Kälbern in Punjab, Indien, finden. In anderen Studien, wie bei XIAO und HERD (1993) und KEIDEL (2007), wurden Prävalenzen in Betrieben von 100% nachgewiesen. In manchen Untersuchungen wurden geringere Befallsraten beschrieben, wie zum Beispiel in einem niederländischen Milchbetrieb, in dem Kälber bis zur dritten Lebenswoche beprobt wurden und eine Prävalenz von 39,1% auftrat (HUETINK et al. 2001). TROTZ WILLIAMS et al. (2008) berichteten in einer Untersuchung von Kälbern auf 119 Farmen eine Prävalenz von 30%. Dabei wurden 1089 zwischen sieben und 28 Tage alte Tiere berücksichtigt. In einer zuvor durchgeführten Studie wiesen TROTZ WILLIAMS et al. (2005) eine Prävalenz von 70% bei 500 Kälbern im Alter von sieben bis 21 Tagen in Kanada nach. Für die Abschätzung der Prävalenz ist die Frequenz der Beprobung von großer Bedeutung. So wurden bei TROTZ WILLIAMS (2005) die Kälber nur einmal untersucht, und somit könnte bei einem Teil der Tiere der Zeitpunkt der Oozystenausscheidung verpasst worden sein. Es ist anzunehmen, dass in Betrieben mit Kryptosporidienbefall alle Kälber in

den ersten Lebenswochen Oozysten ausscheiden, da sie in ähnlicher Weise einem Infektionsrisiko unterliegen und für die weitere Verbreitung der Kryptosporidiose im Kälberstall sorgen (HELAS 1980; SNODGRASS et al. 1980; PAVLASEK und MARES 1983).

In dieser Studie konnten bei 4,9% der Kälber (6 Tiere) an keinem der Untersuchungszeitpunkte während 28 Tagen Oozysten im Kot nachgewiesen werden. Alle sechs Tiere gehörten der H+ Gruppe an. Man sollte bei dieser Feststellung berücksichtigen, dass eine diskontinuierliche Oozystenausscheidung auftreten kann. So wiesen experimentell infizierte Katzenwelpen nach anfänglich kontinuierlicher Ausscheidung eine plötzliche Unterbrechung von fünf bis sieben Tagen auf (AUGUST-BICHL 1984). MC CLUSKEY et al. (1995) beschrieben eine diskontinuierliche Oozystenausscheidung bei Kälbern, ebenso wie TROTZ WILLIAMS et al. (2008) in Untersuchungen von Kälbern auf verschiedenen Farmen in Süd-Ontario. Im Gegensatz zu diesen Studien konnten CASTRO-HERMIDA et al. (2002) keine Unterbrechung der Oozystenausscheidung beobachten. Ein weiterer Faktor für eventuell doch stattgefundene Oozystenausscheidung könnte am Verdünnungseffekt in Durchfallkotproben gelegen haben. So waren 7,8% (10 Kotproben) von sechs negativ beurteilten Tieren über den gesamten Beobachtungszeitraum von 28 Tagen dünnflüssig, was das Auffinden von Oozysten in der Kabolfuchsin-Färbung erschweren und zu falsch negativen Ergebnissen führen kann.

Der Beginn der Oozystenausscheidung konnte bei 19 Kälbern (15,5%) schon am ersten Lebenstag nachgewiesen werden. Dieser extrem frühe Zeitpunkt mit Oozystenausscheidung wurde in keiner weiteren Studie festgestellt. Die Intensität war sehr gering (Index 1= durchschnittlich 1-5 Oozysten in 10 Gesichtsfeldern) und könnte auf einer passageren Ausscheidung beruhen. Als frühesten Zeitpunkt mit Oozystenausscheidung konnten NYDAM et al. (2001) am dritten Lebenstag der Kälber nachweisen. Auch PAVLASEK (1982b) fand frühestens am dritten Lebenstag Oozysten im Kot. KVIC et al. (2006) fanden in einer epidemiologischen Langzeitstudie in elf Milchbetrieben Südböhmens einen Oozystenausscheidungsbeginn am vierten Lebenstag, wie auch KRULL (1999) in seinen Studien in Niedersachsen. UGA und MATSUO et al. (2000) beobachteten am sechsten Lebenstag den Beginn der Oozystenausscheidung. HIJJAWI et al. (2004) konnten sogar erst acht Tage

nach experimenteller Infektion eine Oozystenausscheidung verfolgen. FAYER et al. (1998) geben die Präpatenz bei künstlich infizierten Kälbern mit drei bis sechs Tagen an, wie auch MOON et al. (1981) und STEIN (1983). Die vom Kalb oral aufgenommenen infektiösen Oozysten initiieren einen Entwicklungszyklus im Darm des Kalbes. Bereits 72 Stunden *p. i.* lassen sich Mikro- und Makrogamonten nachweisen. Nach vorangegangener Befruchtung und Sporogonie entstehen erneut infektiionsfähige Oozysten, welche ab den dritten Lebenstag vom Kalb ausgeschieden werden (SCHNIEDER et al. 2006). Dieser Entwicklungszyklus ist zwingend notwendig, um Oozysten im Kot des Kalbes nachzuweisen. Eine diaplazentare Übertragung des Parasiten ist bis zum heutigen Zeitpunkt nicht bekannt und stellt allein aus diesem Grund das Auffinden der Oozysten als Folge einer Infektion am ersten Lebenstag in Frage. Damit können die Nachweise am ersten Lebenstag nicht das Resultat einer aktuellen Infektion sein, sondern resultieren aller Wahrscheinlichkeit daraus, dass nicht alle schon kurz nach der Geburt aufgenommenen Oozysten zur Infektion fähig sind und damit unverändert ausgeschieden werden.

Eine Ansteckung könnte im Zeitraum des Abkalbens sowie in der Abkalbebox durch Oozysten im Kot der Mutterkuh möglich sein. Eine in Kanada durchgeführte Studie unterstützt diese These, da bei Kühen um den Geburtszeitpunkt eine erhöhte Kryptosporidienausscheidung nachgewiesen wurde (FAUBERT und LITVINSKY 2000). FAUBERT und LITVINSKY (2000) führten Kotuntersuchungen von Kühen im Zeitraum vor der Geburt (6 Wochen), um die Geburt und nach der Geburt (50 Tage) durch. Die höchste Anzahl an Oozysten konnte um den Zeitpunkt der Geburt gefunden werden. Sie plädierten infolge dessen für eine Entfernung der Kälber von deren Müttern spätestens vier Stunden nach dem Abkalben, um das Risiko der Ansteckung so gering wie möglich zu halten. Auch ORTEGA- MORA et al. (1999) konnten einen Anstieg der Oozystenausscheidung um dem Ablammtermin bei Mutterschafen feststellen. ATWILL et al. (1998) konnten dagegen in ihren Untersuchungen weder vor noch nach dem Abkalbetermin vermehrt Oozysten im Kot der Kühe nachweisen. Dieses Ergebnis könnte durch die fehlende Sensibilität der angewandten Untersuchungsmethode ohne vorherige Anreicherung der Oozysten zustande gekommen sein, die in den anderen genannten Studien immer stattgefunden hat. Die hohe Menge Kot, welche für den Nachweis der Oozysten bei den Muttertieren notwendig war, und die negativen Ergebnisse anderer Untersuchungen geben Anlass zur An-

nahme, dass das Infektionsrisiko über die Muttertiere als eher gering einzustufen ist. Epidemiologisch wichtiger dürfte die Infektion zwischen den Kälbern in Abhängigkeit von weiteren Umweltfaktoren und hygienischen Maßnahmen sein. So beschreiben auch SCHNIEDER et al. (2006) kontaminierte Kälberboxen sowie MOHAMMED, WADE und SCHAAF (1999) fehlende Ventilation, Desinfektion und tägliche Säuberung der Kälberbuchten als wichtige Ursachen für die Kontamination und Infektion mit Oozysten.

Signifikant unterschiedlich im Vergleich der H+ und H- Tieren war die Dauer der Oozystenausscheidung. H+ Tiere begannen zehn Tage später mit der Oozystenausscheidung, welche dann bis zum 16. Lebenstag anstieg, wohingegen H- Tiere schon ab dem dritten Lebenstag einen Anstieg an Oozystenausscheidung zeigten, welche zwischen dem siebten und 13. Lebenstag hohe Werte annahm. Diese Beobachtung deckt sich mit den Untersuchungen von KEIDEL (2007) und KRULL (1999). Auch NACIRI et al. (1993) berichten über das Einsetzen der Oozystenausscheidung zehn bis 19 Tage nach Absetzen der Halofuginonbehandlung.

Ab dem 17. LT bis zum 28. LT schieden H- Tiere signifikant weniger Oozysten als H+ Tiere aus. Der Abfall der Oozystenausscheidung begann in der H- Gruppe schon am 13. LT, wohingegen in der H+ Gruppe ein Abfall erst ab dem 17. LT sichtbar wurde. Gegen Ende des Untersuchungszeitraums näherten sich die Werte der beiden Gruppen und sanken gegen fast Null. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Halofuginonbehandlung und die zusätzliche Desinfektion mit Neopredisan in den ersten Lebenswochen den bestehenden Infektionsdruck stark herabsetzten. Schon TZIPORI et al. (1983c) beschrieben einen Zusammenhang zwischen der Infektionsdosis und der Manifestation sowie des Verlaufs der Kryptosporidiose. SCHLOEMER (1982) stellte bei experimentell infizierten Mäusen eine Abhängigkeit des Infektionsverlaufes von der Dosishöhe fest. Dabei verlängerte sich die Präpatenz oder die Infektion wurde nicht mehr patent, wenn die Infektionsdosis herabgesetzt war. Die Patenz schwankte zwischen 3-12 Tagen, (PAVLASEK 1982b, c), STEIN (1983) ermittelte eine Patenz von 7-12 Tagen und PEETERS et al. (1982) wiesen eine sehr lange Patenz von 21 Tagen nach. Eine kürzere Dauer der Oozystenausscheidung bei Kälbern mit einer längeren Präpatenz konnte in dieser

Studie nicht gezeigt werden. CASTRO- HERMIDA et al. (2002) fanden in ihren Untersuchungen einen positiven Zusammenhang zwischen der Dauer der Oozystenausscheidung und der Dauer der Präpatenz. Die in dieser Arbeit beobachtete hohe Oozystenausscheidung der H+ Tiere lag höchstwahrscheinlich in der nicht ausreichend entwickelten protektiven Immunantwort. Die Tiere waren nach Absetzen der Halofuginonbehandlung für die Feldinfektion offensichtlich voll empfänglich.

## **5.2 Durchfall**

Im Durchfallgeschehen konnte zwischen den beiden Tiergruppen (H+ und H-) ein Unterschied in der Dynamik der Diarrhoe festgestellt werden. H+ Tiere wiesen bis zum 13. Lebenstag weniger häufig dünnflüssigen Kot auf als H- Kälber. In der zweiten Woche nach Absetzen der Halofuginonbehandlung konnte dann in der H+ Gruppe vermehrt dünnflüssiger Kot beobachtet werden. Diesen Effekt der Unterdrückung des Durchfallgeschehens während der Verabreichung von Halofuginon konnten schon NACIRI et al. (1993) und PEETERS et al. (1993) in ihren Untersuchungen feststellen. Sie untersuchten die Durchfallsymptomatik in einer Studie an Kälbern, welche 48 Stunden vor Beginn der siebentägigen Halofuginonbehandlung (120 µg/kg) einmalig mit Oozysten inokuliert wurden. Die Tiere blieben sogar noch drei Wochen nach Beendigung der Behandlung frei von einer Durchfallsymptomatik. Es besteht der Verdacht, dass der hier fehlende Infektionsdruck, der aber unter natürlichen Feldbedingungen in der Umgebung des Tieres herrscht, bei diesen Kälbern nicht vorhanden war und somit nur eine Aussage zur Kontrolle einer einmaligen Ansteckung der Tiere abzuleiten war. Unter diesen artifiziellen Konditionen war eine komplette Unterdrückung der Oozystenausscheidung auch nach dem Behandlungszeitraum möglich, was sich in dieser Arbeit nicht bestätigen ließ. JOACHIM et al. (2003b) und JARVIE et al. (2005) wiesen eine geringe Durchfallsymptomatik während des Behandlungszeitraumes nach, wobei dieser im Gegensatz zur Kontrollgruppe signifikant seltener auftrat.

Das durch die integrierte Behandlung verspätete Auftreten der Durchfallsymptomatik hatte bei Nichtbetrachten des zeitlichen Aspekts keinen Effekt auf die Schwere oder Dauer des Durchfallgeschehens. Es könnte vermutet werden, dass ältere Kälber weniger empfindlich mit Durchfall reagieren oder aufgrund des höheren Alters die Erkrankung besser verkraften als junge Tiere und die Behandlung in dieser Hinsicht positiv wirkte. ORTEGA- MORA und WRIGHT (1994) beobachteten bei später infizierten Tieren (28. und 56. LT.) weniger oder keinen Durchfall als bei früher infizierten Tieren. In anderen Untersuchungen wurden Kälber im Alter von drei Monaten infiziert, wobei nur zwei von sieben Tieren Durchfall zeigten obwohl von allen Kälbern Oozysten ausgeschieden wurden (HARP et al. 1990). Somit stellen die Behandlung mit Halofuginon sowie die Desin-

fektion mit Neopredisan eine gute und sinnvolle Maßnahme zur integrierten Bekämpfung der Kryptosporidiose im Kälberstall dar. Der Schutz der behandelten Tiere in den ersten beiden Lebenswochen steht damit im Mittelpunkt, da besonders junge Tiere in dieser Zeit anfälliger sind. Ältere Tiere können bei gleichem Durchfallgrad die Situation besser verkraften und in ihrer Entwicklung weniger stark beeinflusst werden als jüngere Kälber.

In dieser Studie konnte am 10. LT signifikant seltener dünnflüssiger Durchfall in der H+ Gruppe beobachtet werden. Am 25. LT. war die Durchfallsymptomatik dann in der H- Gruppe signifikant weniger ausgeprägt. Insgesamt gab es im ersten Abschnitt (1. -7. LT) eine schwache positive, aber nicht signifikante Korrelation zwischen der Durchfallsymptomatik und der Oozystenausscheidung bei separater Betrachtung H+ und H- Tieren. Im weiteren Untersuchungszeitraum konnten ebenfalls positive signifikante Korrelationen am 13., 16. und 22. LT. beobachtet werden. Bei Betrachtung des Zusammenhangs zwischen Durchfall und Oozystenausscheidung aller positiven Tiere, ohne Berücksichtigung der Gruppenzugehörigkeit, konnte eine positive signifikante Korrelation nur für die erste Lebenswoche bewiesen werden. Ein Effekt des Geschlechts konnte zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen festgestellt werden. Dies entspricht den Angaben in der Literatur (PAVLASEK 1982; TROTZ- WILLIAMS et al. 2005). Je mehr Oozysten im Kot gefunden wurden, desto stärker war das Durchfallgeschehen der Tiere. Schon SNODGRASS et al. (1982) konnten signifikante Zusammenhänge zwischen Oozystenausscheidung und Diarrhoe bestätigen. Gleiche Zusammenhänge zeigen unter Feldbedingung durchgeführte Studien von TZIPORI et al. (1980a), ANDERSONI und BULGIN (1981). Die grundsätzliche Behandlung einer Kryptosporidiose mit Halocur ist in jedem Fall empfehlenswert.

In der Literatur wird des Öfteren ein synergistischer Effekt auf den Verlauf des Durchfallgeschehens bei Koinfektionen mit anderen enteropathogenen Erregern beschrieben. So stellten NAGY und POHLENZ (1982) einen erheblich schwereren Verlauf der Kryptosporidienerkrankung bei gleichzeitigem Befall mit *E. coli* fest. Nach TZIPORI et al. (1980c), ANDERSON und BULGIN (1981) sowie NAGY et al. (1986) sind die häufigsten Ausbrüche neonataler Diarrhoe Ursache des Zusammenwirkens von Kryptosporidien, Rota- und Coronaviren sowie *E. coli*.

ENEMARK et al. (2003) stellten in ihren Untersuchungen an Ferkeln fest, dass bei einer Infektion mit *C. parvum* und Rotaviren mit einer verlängerten Dauer des Durchfallgeschehens und einer erhöhten Oozystenausscheidung zu rechnen ist. In der von JOACHIM et al. (2003b) durchgeführten Untersuchung konnten in nur 53% von 873 *C. parvum* positiven Kotproben eine Monoinfektion gefunden werden. Bei den restlichen Proben lag eine Mischinfektion mit anderen enteropathogenen Erregern vor. Im Gegensatz zu diesen Studien konnte WILLBURGER (1981) keinen zusätzlichen Befall mit enteropathogenen Keimen bei gleichzeitiger Kryptosporidiose bestätigen. SCHULZ (1986) vermutete ein antagonistisches Verhalten von *E. coli* und Kryptosporidien, da in den Untersuchungen verendeter Kälber nur im geringeren Maße Mischinfektionen gefunden werden konnten.

Die Durchfallsymptomatik war in der eigenen Studie insgesamt unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit der Tiere eher schwach in Intensität und Extensität ausgeprägt. In differentialdiagnostisch durchgeführten Untersuchungen auf Rota- und Coronaviren sowie *E. coli* (K99) fiel der Nachweis in dieser Arbeit immer negativ aus. Dies spricht für einen hauptsächlich durch Kryptosporidien bedingten Durchfall im Studienbetrieb und spiegelt auch den Erfolg der gegen Rota- und Coronaviren sowie *E. coli* durchgeführten Vakzinierung der Tiere wider. Da die differentialdiagnostischen Untersuchungen nur an dünnflüssigen, Oozysten negativen Kotproben durchgeführt wurden, schließen die negativen Ergebnisse den gleichzeitigen Befall mit Rota- und Coronaviren, *E. coli* sowie Kryptosporidien nicht aus. Der in den dünnflüssigen Kotproben fehlende Oozystennachweis könnte Resultat des Verdünnungseffektes gewesen sein. Durchfallkälber setzen im Vergleich zu gesunden Kälbern eine 20- 30 fach erhöhte Kotmenge ab, sodass bei hochgradiger Diarrhoe die durchschnittlich niedrigste Ausscheidungsintensität beobachtet werden konnte (LOGAN und PENHALE 1972). Dennoch könnte der fehlende Rota- und Coronaviren sowie *E. coli*-Nachweis verallgemeinert werden, da es eher unwahrscheinlich ist, dass nur die an Kryptosporidiose erkrankten Kälber damit befallen sein sollen. Nachweismethoden mittels PCR oder ELISA würden gegebenenfalls genauere Ergebnisse zeigen, da sie ausgesprochen sensitiv reagieren. Für die eigenen Studien, die unter Feldbedingungen durchgeführt wurden, standen diese Methoden nicht zur Verfügung. Trotz Einschränkungen zur Sensitivität des Kryptosporidiennachweises scheiden erkrankte Tiere meist massenhaft Oozysten

aus, sodass der Nachweis meist kein Problem darstellt. Im Allgemeinen zeigen ELISA und der direkte Nachweis eine hohe Übereinstimmung (DAUGSCHIES, pers. Mitteilung 2009).

Die Anzahl der Tage mit Durchfall und der Tage mit Oozystenausscheidung zeigten im gesamten Beobachtungszeitraum eine positive signifikante Korrelation. Die H+ Tiere hatten eine geringere Anzahl an Tagen mit dünnflüssigem Kot als die H- Gruppe, wobei die Differenz der Mittelwerte nur bei 0,1 Tagen lag. Da H+ Tiere nur bis zum 13. LT weniger häufig Durchfall zeigten und die geringe Anzahl der Tage mit Durchfall hauptsächlich in diesem Zeitraum lag ist ein positiver Effekt der Behandlung nachvollziehbar. Später konnte bei den H+ Tieren öfter Durchfall beobachtet werden als bei H- Tieren, sodass bei Betrachtung der Anzahl der Tage mit Durchfall über den gesamten Beobachtungszeitraum der positive Effekt der Halofuginonbehandlung verdeckt wurde.

Eine normale Kotkonsistenz trat an Tagen mit geringer oder fehlender Oozystenausscheidung auf. Breiiger Kot konnte immer im Zusammenhang mit einer Oozystenausscheidung beobachtet werden, wobei in Abhängigkeit steigender Oozystenanzahl eine Zunahme des Anteils breiiger Kotproben gefunden wurde. KEIDEL (2007) konnte eine pastös veränderte Kotkonsistenz bei Tieren zeigen, welche noch nicht oder gerade mit der Ausscheidung von Kryptosporidien begonnen hatten. STEIN et al. (1983) berichten über eine veränderte Kotkonsistenz noch über das Ende der Oozystenausscheidung hinaus. Ursache dafür könnte die noch bestehende Schädigung der Darmschleimhaut der Tiere sein, welche nach dem Parasitenbefall Zeit zur Regeneration braucht um den physiologischen Aufgaben wieder nachkommen zu können. ANGUS et al. (1982) fanden in Därmen sezierter Lämmer eine starke Bakterienbesiedlung der durch Kryptosporidien vorgeschädigten Enterozyten. Da diese Tiere 11- 14 Tage nach einer künstlichen Infektion mit Kryptosporidien untersucht wurden, konnte bewiesen werden, dass eine gewisse Zeitspanne für die allmähliche Besiedlung notwendig ist, denn bei weiteren, sechs Tage nach künstlicher Infektion, seziierten Lämmern wurde noch keine Bakterienbesiedlung festgestellt. Im Durchfallkot infizierter Kälber wurde eine Beimengung von Schleim oder Blut festgestellt (NAGY und POHLENZ 1982, HENRIKSEN und

KROGH 1985b sowie NACIRI et al. 1993), aber nicht immer gesehen (HEINE et al. 1984)

Die geringere Anzahl an Tagen mit Durchfall und die Abschwächung des Durchfallgeschehens während der Behandlung mit Halofuginon bei gleichzeitig gezielter Desinfektion stellen ein gutes Argument für die Integration der Halofuginonanwendung mit einem Hygieneregime dar. Es ergeben sich klare Vorteile für die behandelten Tiere, da ein durch Diarrhoe geschwächtes junges Kalb nachteilig in der Entwicklung, in der körperlichen Abwehr und im Allgemeinzustand beeinflusst sein kann. Die Beobachtung, dass höhere Oozystenwerte meist mit dünnflüssigen oder breiigen Kotproben einhergingen betont die Bedeutung der Kryptosporidien als Durchfallerreger. Mit Maßnahmen die zur Reduktion der Oozystenausscheidung und damit zur Verbesserung der Kotkonsistenz führen, sind hygienisch bessere Bedingungen in den Kälberbuchten zu erreichen. So stellt mit Durchfallkot getränktes nasses Stroh einen guten Nährboden für Umweltkeime dar, welche zu Gesundheitsbeeinträchtigung führen könnten (zum Beispiel durch Pilztoxine). SCHRAG und SINGER (1987) zeigten, dass diese Begleitumstände wichtige Ursachen für Darm- und Atemwegserkrankungen der Kälber sind.

### **5.3 Gewicht**

Es wurden in der eigenen Studie keine signifikanten geschlechts- und behandlungsbezogenen Gewichtsunterschiede festgestellt, auch wenn die H+ Tiere in den ersten fünf Lebenswochen um ca. ein Kilo leichter waren, als die H- Tiere. In der 25. Lebenswoche waren jedoch die H+ Tiere im Mittel um 5,8 kg schwerer als die H- Tiere. Es konnten keine Nebenwirkungen auf Grund der Halofuginongabe, wie verminderter Appetit oder Apathie bei den entsprechenden Kälbern beobachtet werden, sodass es fraglich ist, ob das anfangs geringfügig geringere Gewicht aus der erfolgten Behandlung resultierte. Dass die H+ Tiere in der 25. Lebenswoche schwerer waren als die H- Tiere könnte einen indirekten Effekt der integrativen Bekämpfung darstellen. Die verzögerte Oozystenausscheidung und die Durchfallunterdrückung in den ersten kritischen Lebenswochen könnte bei den behandelten Tieren dazu geführt haben, dass sie der erst später auftretenden Erkrankung gegenüber robuster waren. So war bei einer späteren Oozystenausscheidung weniger profuser Durchfall zu beobachten. Jedoch lag hier eher keine Altersresistenz gegen den Parasiten vor, da die Intensität der

Oozystenausscheidung selbst zu diesen späten Zeitpunkten noch teils hochgradig vorhanden war. Ältere Tiere können wahrscheinlich die Infektion besser tolerieren, da der Darm bereits weiter entwickelt und ausgereifter, als in den ersten Lebenswochen ist. So konnten auch NACIRI et al. (1993) in einer Untersuchung mit Kälbern bis zum 13. Lebenstag keine Gewichtsunterschiede zwischen mit Halofuginon behandelten und unbehandelten Tieren feststellen, wohl aber im weiteren Verlauf. Behandelte Kälber waren dann signifikant schwerer als die Tiere der Kontrollgruppe.

In diesem Studienbetrieb lag die Gewichtszunahme der H+ Kälber um 7,6% höher als die Gewichtszunahme der H- Gruppe. Die Mittelwerte der weiblichen H+ Tiere waren generell höher als die Mittelwerte männlicher H- Tiere. Weibliche Tiere insgesamt waren auch in der 25. Lebenswoche generell schwerer als männliche Tiere. Dagegen waren Bullenkälber in den ersten fünf Lebenswochen schwerer als weibliche Tiere. Die Ergebnisse könnten auf die ungleiche Geschlechtsverteilung innerhalb der Tiergruppen zurückzuführen sein. Im Vergleich von Tieren gleichen Geschlechts nehmen behandelte Tiere signifikant mehr zu als unbehandelte, was eine positive Auswirkung der Halofuginonbehandlung und zusätzlichen Desinfektion darstellen kann.

Im Vergleich der H+ und H- Tiere ohne Berücksichtigung des Geschlechts ist der positive signifikante Effekt wahrscheinlich aufgrund der geschlechtsabhängigen Entwicklung überdeckt. Keine unterschiedliche Gewichtsentwicklung wurde in Untersuchungen von PAVLASEK 1982, TROTZ- WILLIAMS et al. 2005 gefunden. So konnten auch JARVIE et al. (2005) keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Gewichtszunahme zwischen integrativ behandelten Tieren und der unbehandelten Kontrollgruppen feststellen.

Berücksichtigt man die Reduzierung der Durchfallsymptomatik, der Oozystenausscheidung und die Verzögerung der Kryptosporidiose zu einem späteren Lebenszeitpunkt, kann die Behandlung mit zusätzlicher Desinfektion wesentlich für eine bessere Gewichtsentwicklung sein. Bei profusem Durchfallgeschehen, das mit Apathie, vermindertem Appetit und Abmagerung einhergeht, kann der Halofuginoneinsatz einen positiven Effekt auf die Gewichtsentwicklung haben. Die

Desinfektion mindert den vorherrschenden Infektionsdruck. Bei einem optimalen Schutz der Kälber in den ersten Lebenswochen durch Behandlung und Desinfektion muss anschließend eine höhere Anfälligkeit in Kauf genommen werden, als wenn nur behandelt werden würde. Inwiefern sich dies hinsichtlich der Gewichtsentwicklung niederschlägt, müsste in vergleichenden Studien unter Einbeziehung einer behandelten Gruppe ohne Anwendung gezielter Desinfektion bei möglichst großer Stichprobenzahl untersucht werden.

#### **5.4 Körpertemperatur und Lungensymptomatik**

Die Körpertemperatur blieb in dieser Arbeit über den gesamten Untersuchungszeitraum unauffällig. Bis zum 19. LT. konnten durchschnittlich geringere Temperaturen in der H+ Gruppe festgestellt werden. Da zwischen Oozystenausscheidung und Körpertemperatur keine signifikante Korrelation gefunden wurde, ist diese Beobachtung nicht mit der integrativen Behandlung zu begründen. Auch in der H+ Gruppe kam es zum Auftreten von Fieber, es waren aber tendenziell weniger Tiere als in Gruppe H- betroffen. Am 28. LT. war eine positive signifikante Korrelation zwischen Oozystenausscheidung und Temperatur vorhanden. Da dieser Tag das Maximum an Oozystenausscheidung in der H+ Gruppe repräsentiert, könnte die Kryptosporidiose Ursache für den kurzzeitigen und eher geringgradigen Anstieg der Temperatur sein. Auch ANDERSONI und BULGIE (1981) beobachteten erhöhte Temperaturen bei infizierten Kälbern. Ebenso zeigten BOCH et al. (1982) geringgradige Temperaturerhöhungen bei Kälbern mit Oozystenausscheidung. FAYER et al. (1997) beschreiben Fieber in ihren Untersuchungen als ein mögliches Symptom. Auch KRULL (1999) bestätigt einen Temperaturanstieg infizierter Kälber. Dennoch wird die Temperatur nach HARTMANN (1985a) nicht vom Grad der Oozystenausscheidung beeinflusst. Die durchfallkranken Tiere hatten in der vorliegenden Studie zu 2% Temperaturen über 40°C. 67% zeigten eine normale Körpertemperatur. Untertemperatur wiesen 3% und eine geringgradig erhöhte Temperatur 27% auf. Es konnte keine Abhängigkeit zwischen Durchfall und Temperaturerhöhung festgestellt werden. Da eine Temperaturerhöhung meist durch exogene (Bakterienbestandteile) und endogene Pyrogene (Interleukine und Zytokine aus Makrophagen) ausgelöst wird (SILBERNAGEL und DESPOPOULOS 2001) kann die Fieberursache mit anderen Begleiterkrankungen (zum Beispiel Nabel- oder Gelenkentzündung) der Kälber zusammenhängen, auf welche in dieser Arbeit nicht eingegangen werden konnte.

In der Literatur konnten keine Angaben zu einem Zusammenhang von Atemwegserkrankung und Kryptosporidiose gefunden werden. Da Kälber mit Kryptosporidienbefall geschwächt und allgemein Infektionsanfälliger sind (LOGAN und PENHALE 1972), sollte in dieser Studie die Lungensymptomatik verfolgt werden. Die meisten Kälber (74,2% der H+ und 73,8% der H- Tiere) mit auffälligen

Auskultationsbefunden wurden bei Tieren mit normalem Kotabsatz gefunden und nur 25,8% der H+ und 18% der H- Tiere zeigten eine Atemwegserkrankung und gleichzeitig Durchfall. Somit sind Kryptosporidiose und Anfälligkeit für Lungenfunktionen offenbar nicht korreliert.

## **5.5 Ernährungszustand und Trinkverhalten**

In der Literatur wird die Kryptosporidiose mit Innappetenz, Apathie, Dehydratation, Exsikkose und Gewichtsverlust in Zusammenhang gebracht (NACIRI et al. 1993; SCHNIEDER et al. 2006; CONSTABLE 2009). Die Tiere des Studienbetriebes wiesen größtenteils einen guten bis sehr guten Ernährungszustand im Untersuchungsverlauf auf. 85,6% der Tiere der H+ Gruppe und 79,3% der H- Gruppe konnten dem Index 1 (=guter bis sehr guter Ernährungszustand) zugeordnet werden. Am vierten und sechsten Lebenstag gab es bezüglich der Ernährungszustände signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die H- Tiere zeigten zu diesen Zeitpunkten einen schlechteren Ernährungszustand als die H+ Tiere. In diesem Zeitraum fand die Behandlung mit Halofuginon statt, die H+ Tiere schieden infolgedessen weniger Oozysten aus und das Durchfallgeschehen war im Vergleich zu den H- Tieren vermindert. Insgesamt hatten die H- Tiere in den ersten zwei Lebenswochen öfter einen schlechten Ernährungszustand. Damit zeigte die Halofuginonbehandlung und die zusätzliche Desinfektion eine Unterdrückung der Kryptosporidiose. Die Errgerminimierung in diesem Zeitraum begünstigt den Effekt einer besseren Kondition der Kälber. HEINRICHS et al. (2005) zeigten, dass Durchfall und andere Begleitumstände die Konstitution der Tiere beeinflussen und somit im Zusammenhang mit dem Ernährungszustand stehen. PEETERS et al. (1993) beschreiben Inappetenz bei einem Befall mit Kryptosporidien. Ein Unterschied im Trinkverhalten konnte dagegen im Studienbetrieb nicht beobachtet werden. Wahrscheinlich ist dieses Ergebnis darauf zurückzuführen, dass die Kälber mit einem Kryptosporidienbefall in dieser Studie nie besonders lang oder extrem krank waren, sodass eine Tränkeverweigerung nicht auftrat. In einer amerikanischen Studie konnte ebenfalls keine Verbesserung des Trinkverhaltens bei 31 mit Halofuginon behandelten Kälbern gegenüber der Kontrollgruppe festgestellt werden (JARVIE et al. 2005). Die durch eine Halofuginonbehandlung beschriebene Appetitlosigkeit konnte in dieser Studie ebenfalls nicht festgestellt werden (VILLACORTA et al. 1991). Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass weder der Er-

nährungszustand noch das Trinkverhalten allein auf eine Erkrankung mit Kryptosporidien schliessen lassen. Tendenziell aber nicht signifikant sind Tiere in desinfizierten Aufstallungen und unterzogener Halofuginonbehandlung von teils besseren Ernährungszustand als unbehandelte Kontrolltiere. Es sollte berücksichtigt werden, dass die Beurteilung des Ernährungszustandes außerdem rein subjektiv ist und somit die Gewichtsbestimmung genauere Trends widerspiegelt.

Schlussfolgernt lässt sich sagen, dass eine Halofuginonbehandlung mit integrierter Neopredisandesinfektion in Problembetrieben empfehlenswert ist. Die Verschiebung der Oozystenausscheidung in einen weniger kritischen Zeitraum führt zu einer besseren Entwicklung der Tiere. Die Desinfektion senkt den vorherrschenden Infektionsdruck welcher nachweislich durch vermehrtes Durchfallgeschehen steigt, da das Auftreten dünnflüssigen Kots mit steigender Oozystenausscheidung korreliert. Weder die Körpertemperatur noch die Lungensymptomatik allein lassen auf einen Befall mit Kryptosporidien schließen. Die Gewichtsentwicklung war in der H+ Gruppe geringfügig höher als in der H- Gruppe. Tendenziell waren öfter schlechtere Ernährungszustände in der H- Gruppe zu verzeichnen als in der H+ Gruppe.

## 6 Zusammenfassung

Susanne Erbe

Bovine Kryptosporidiose: Analyse einer integrierten Bekämpfungsmaßnahme unter den Bedingungen einer natürlichen Infektionsexposition in einem Kälberbestand

Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig  
Eingereicht im Oktober 2009

93 Seiten, 13 Abbildungen, 22 Tabellen, 215 Literaturangaben

Schlüsselwörter: *Cryptosporidium*, Kalb, Halofuginon, Desinfektion, klinische Parameter

Die Kryptosporidiose des Kalbes stellt eine orale Infektion mit dem obligat pathogenen Erreger *Cryptosporidium parvum* dar. Sie verursacht hauptsächlich bei Jungtieren unterschiedlich schwere und zuweilen tödlich verlaufende Diarrhoe.

Es wurden 123 Kälber eines landwirtschaftlichen Nutzbetriebes, aufgeteilt in zwei Tiergruppen, untersucht. Die erste Gruppe, bestehend aus 62 Tieren, wurde an den ersten sieben Lebenstagen mit Halofuginon in einer Dosis von 120 µg/kg KGW behandelt. Die zweite Gruppe mit 61 Tieren blieb als Kontrolle unbehandelt. In der behandelten Gruppe fand vor jeder Neubelegung der Kälberbuchten eine gründliche Hochdruckreinigung der Buchten und anschließend eine Flächendesinfektion mittels Neopredisan® in der 3% igen Konzentration statt. Die Buchten der unbehandelten Kälber wurden ausschließlich intensiv mit einem Hochdruckreiniger gereinigt. Jedes Tier wurde am ersten Lebenstag und anschließend für drei Wochen wöchentlich gewogen. Eine zusätzliche Gewichtsbestimmung fand in der 25. Lebenswoche statt. Alle Kälber wurden in den ersten vier Lebenswochen jeden dritten Lebenstag hinsichtlich der Oozystenausscheidung, des Allgemeinverhaltens, des Ernährungszustandes, des Trinkverhaltens, des Dehydratationsgrades und der Körpertemperatur untersucht. Weiterhin wurde die Lunge auskultiert, die Konsistenz der Kotproben beurteilt und bei vorhandener Blutbeimengung im Kot ein differentialdiagnostischer Nachweis von *E. coli*, Rota- und Coronaviren durchgeführt.

In der integrativ (Medikation und gezielte Desinfektion) behandelten Gruppe (H+) konnte im Vergleich zu der unbehandelten Kontrolle (H-) eine signifikante Unterdrückung der Oozystenausscheidung (Index 1) bis zum zehnten Lebenstag beobachtet werden. Zwei

Wochen nach Absetzen der Halofuginonbehandlung wurde jedoch die Oozystenausscheidung der H- Gruppe von der H+ Gruppe übertroffen (Index 3). Das Ausscheidungsmaximum lag in der H+ Gruppe am 16. und in der H- Gruppe am zehnten Lebenstag. Die Kombination aus Behandlung und spezifischer Desinfektion erwies sich parasitologisch als effizient. Die Oozystenausscheidung war während des siebentägigen Behandlungszeitraums fast vollständig unterdrückt, allerdings waren diese Tiere anschließend besonders für die Infektion empfänglich.

Im Durchfallgeschehen zeigten die H+ Tiere bis zum 13. Lebenstag deutlich weniger häufig dünnflüssigen Kot als die H- Tiere. Zwei Wochen nach Absetzen der Halofuginonbehandlung konnte in der H+ Gruppe häufiger Durchfall (Index 3) als bei den Kontrollen beobachtet werden. Tendenziell hatten die H+ Tiere eine geringere Anzahl an Tagen mit dünnflüssigem Kot (Index 3) als die H- Tiere, wobei die Differenz der Mittelwerte nur 0,1 Tage betrug. Eine signifikante Beziehung zwischen der Oozystenausscheidung und dem Auftreten von Diarrhoe konnte nachgewiesen werden. Je mehr Oozysten in den Kotproben gezählt wurden, desto stärker war das Durchfallgeschehen. Außerdem konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl an Tagen mit Durchfall und der Oozystenausscheidung beobachtet werden.

Im Gewicht unterschieden sich die H+ Tiere in den ersten fünf Lebenswochen im Mittel von der H-Gruppe nicht signifikant, jedoch waren die H+ Tiere im Mittel etwas leichter als die H- Tiere. In der 25. Lebenswoche waren die H+ Tiere im Mittel um 5,8 kg schwerer als die H- Tiere, signifikante geschlechts- oder behandlungsabhängige Gewichtsunterschiede wurden nicht gefunden. In der mittleren Gewichtszunahme hatten die H+ Tiere um 7,6% höhere Werte als die H- Tiere, aber auch dieser Effekt war nicht signifikant ( $p > 0,05$ ). Für den Ernährungszustand, das Trinkverhalten sowie die Körpertemperatur und weitere klinische Parameter der untersuchten Tiere bestand zu keiner Zeit eine signifikante Beziehung zur Kryptosporidiose.

Damit erwies sich die integrierte Bekämpfung aus Halofuginonbehandlung und gezielter Desinfektion im für die Kälber kritischen Zeitraum der ersten zwei Lebenswochen als überaus effektiv. Allerdings muß bei derart geschützten Kälbern anschließend aufgrund einer offensichtlich nicht ausreichenden Immunisierung mit einer höheren Empfänglichkeit für *C. parvum* gerechnet werden. Die in der Tendenz bessere Gewichtsentwicklung der geschützten Kälber (H+) läßt vermuten, dass die Durchfallerkrankung im frühen Lebensalter langfristig Leistungseinbußen verursachen kann, die bei Verschiebung des Erkrankungseintritts weniger ausgeprägt sind.

## 7 Summary

Susanne Erbe

Bovine Cryptosporidiosis: Efficacy of an integrated control method under the conditions of natural exposition to infection in a herd of calves

Institute of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in October 2009

93 pages., 13 figures, 22 tables, 215 references

Keywords: *Cryptosporidium*, calf, halofuginon, disinfection, clinical parameters

Cryptosporidiosis of calves is caused by oral infection with the obligatory pathogenic agent *Cryptosporidium parvum*. Mainly in young animals it may cause severe and sometimes lethal diarrhea.

Hundred and twenty three calves of a conventional dairy farm were used and randomly divided into two groups. The first group of 62 animals was treated with halofuginone for seven days starting from the first day of life at a dose of 120 µg/kg body weight. Sixty one animals were untreated and served as control group. The pens of the treated animals were cleaned with a high pressure cleaner followed by disinfection with Neopredisan (3% solution). The pens of the untreated animals were cleaned by high pressure without disinfection. Every animal was weighted on the day of birth, and then once a week over the following three weeks. An additional analysis of the body weight was done 25 weeks after birth. Furthermore, oocyst shedding, general behaviour, nutrition status, dehydration level and body temperature were assessed over the first four weeks of life every third day. The lung was auscultated and the consistency of faeces samples was evaluated. In the case of the presence of blood in the faeces differential diagnostic investigation for *E.coli*, rotavirus and coronavirus was performed.

In comparison of the two groups the integrative treated calves (medication and targeted disinfection) (H+) showed a significant suppression of oocyst shedding compared to the control group (H-) within the first 10 days after birth. Two weeks after termination of the halofuginone treatment the oocyst shedding of group H+ increased clearly in comparison to the group H-. Group H+ calves displayed oocyst shedding maximum on the 16th and H-calves on the 10th day after birth. It could be shown that the combination of treatment and

disinfection was efficient against *C. parvum*. The oocyst shedding was almost completely suppressed during the 7 days of treatment, but subsequently, the animals were notably susceptible to infection.

The diarrhoea could be influenced by integrated treatment. Treated animals showed less diarrhoea, compared to the control group until the 13th day of life. Increased occurrence of diarrhoea could be observed two weeks after termination of the halofuginone treatment in the H+ group. The animals of the H+ group showed less days with diarrhoea, albeit this observation was not statistically significant. A significant correlation between the intensity of oocyst shedding and the appearance of diarrhoea could be found. A high number of oocysts in the faeces was related to severity of diarrhoea. Moreover, a significant correlation between days of diarrhoea and oocyst shedding was seen.

No significant differences of the body weight of the H+ animals compared to the H- group could be found in the first 5 week after birth, however, the average body weight of H+ animals was slightly lower. On the other hand, animals of the H+ group had an average body weight 5.8 kg higher than in group H- twenty five weeks after birth. The average of body weight increase was 7.6% higher in the H+ group over the whole study period but with  $p > 0,05$  not significant. Significant gender linked or treatment dependent body weight differences could not be shown. For the general nutrition status, appetite, body temperature and other clinical parameters, no significant correlation to the occurrence of cryptosporidiosis could be found at any time point.

The integrated control including both halofuginone treatment and targeted disinfection was very effective during the critical time span of the first two weeks after birth. However, probably due to inadequate immunization, these highly protected calves were subsequently more susceptible to *C. parvum*. The trend for better development of body weight in the H+ group indicates that diarrhoea early after birth may have a sustained negative effect on performance, which is less pronounced when exposure to cryptosporidiosis is efficiently controlled in the new born calf.

## 8 Literaturverzeichnis

Anderson BC. Pattern of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. Am J Vet Res. 1981;178,982-984.

Anderson BC. Abomasal cryptosporidiosis in cattle. Vet Pathol. 1987;24:235-238.

Anderson BC, Bulgin MS. Enteritis caused by *Cryptosporidium* in calves. Vet Med Small Anim Clin. 1981;76(6):865-8.

Angus KW, Tzipori S, Gray EW. Intestinal lesions in specific-pathogen-free lambs associated with a *Cryptosporidium* from calves with diarrhea. Vet Pathol. 1982;19(1):67-78.

Angus KW. Prophylactic effect of anticoccidial drugs in experimental murine cryptosporidiosis. Vet Rec. 1984;114,166-168.

Anonym. Cryptosporidiosis: Assessment of chemotherapy of males with acquired immune deficiency syndrome. Morb Mortal Wkly. 1982;31,589-592.

Anonym. Kryptosporidien im Kälberstall. Großtierpraxis 5. 2004;20-27.

Atwill ER, Harp JA, Jones T, Jardon PW, Checel S, Zylstra M. Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhood infection. Am J Vet Res. 1998;59(9):1116-21.

Augustin-Bichel G, Boch J, Henkel G. Kryptosporidieninfektionen bei Hund und Katze. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1984;97:179-181.

Baljer G, Eichhorn W, Göbel E, Wolf M, Bachmann PA. Vorkommen und Verbreitung wichtiger Durchfallerreger bei neugeborenen Kälbern in Süddeutschland im Zeitraum 1984 bis 1986. Tierärztl Umsch. 1987; 42, 56 – 65.

Baumgartner W. Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere. 4. Aufl. Berlin: Verlag Parey; 1999.

S. 111-115.

Baxby D, Bandel N. Sensitive rapid simple method for detecting *Cryptosporidium* in faeces. Lancet. 1983;2,8359,1149.

Becher KA, Robertson ID, Fraser DM, Palmer DG, Thompson RC. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. Vet Parasitol. 2004;123(1-2):1-9.

Blewett DA. Disinfection and oocysts. Animal Diseases Research Institute, Edinburgh. 1989.

Boch J, Gobel E, Heine J, Brandler U, Schloemer L. *Cryptosporidium* infections in domestic animals. Berl Münch Tierärztl Wschr. 1982;95(19):361-7.

Booth CC, Slavine G. Clinicopathological conference Immunodeficiency and Cryptosporidiosis. Brit Med J. 1980;281,1123-1127.

Boxell A, Hijjawi N, Monis P, Ryan U. Comparison of various staining methods for the detection of *Cryptosporidium* in cell-free culture. Exp Parasitol. 2008;120(1):67-72.

Brändler U. Licht- und Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Entwicklung von *Cryptosporidium* sp. im Darm experimentell infizierter Mäuse [Dissertation med.vet.] München: Ludwig-Maximilians-Universität München;1982.

Campbell I, Tzipori S, Hutchison G, Angus KW. Effect of Disinfectants on Survival of *Cryptosporidium* Oocysts. Vet Rec. 1982;111(18):414-5.

Carreno RA, Martin DS, Barta JR. *Cryptosporidium* is more closely related to the gregarines than to coccidia as shown by phylogenetic analysis of apicomplexan parasites inferred using small-subunit ribosomal RNA gene sequences. Parasitol Res. 1999;85(11):899-904.

Casemor DP. Epidemiological aspects of human Cryptosporidiosis. Epidemiol Infect. 1990;104,1-28.

Casemore DP. Hypothesis cryptosporidiosis in human beings is not primarily a zoonosis. J Infect. 1997;9,153-156.

Castro-Hermida JA, Freire-Santos F, Oteiza-Lopez AM, Ares-Mazas E. Unexpected activity of beta-cyclodextrin against experimental infection by *Cryptosporidium parvum*. J Parasitol. 2000a;86(5):1118-20.

Castro-Hermida JA, Freire-Santos F, Oteiza-Lopez AM, Vergara Castiblanco CA, Ares-Mazas ME. In vitro and in vivo efficacy of lasalocid for treatment of experimental cryptosporidiosis. Vet Parasitol. 2000b;90(4):265-70.

Castro-Hermida JA, Gonzalez-Losada Y, Freire-Santos F, Gonzalez-Warleta M, Mezo-Menendez M, Ares-Mazas E. Efficacy of beta-cyclodextrin against experimental cryptosporidiosis in neonatal lambs. J Parasitol. 2002;88(1):185-187.

Chai JY, Kim NY, Guk SM, Park YK, Seo M, Han ET, Lee SH. High prevalence and seasonality of cryptosporidiosis in a small rural village occupied predominantly by aged people in the Republic of Korea. Am J Trop Med Hyg. 2001;65(5):518-22.

Clancy JL, Hargy TM, Battigelli DA, Marshall MM, Korich DG, Nicholson WL. Susceptibility of five strains of *Cryptosporidium parvum* oocysts to UV light. J Am Water Works Assoc. 96, 84-93.

Current WL. Cryptosporidiosis a protozoologists view of an emerging zoonosis. Microecol. Ther. 1985;15:165-200.

Current WL, Reese NC. A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. *J Protozool.* 1986;33(1):98-108.

Current WL. The biology of *Cryptosporidium*. *Am Soc Microbiol News.* 1988;54:604-611.

Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev.* 1991;4(3):325-58.

Dahme E, Weiss. *Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.* 5. Aufl. Stuttgart: Verlag Enke; 1988. S. 191-192.

Dauguschies A, Bose R, Marx J, Teich K, Friedhoff KT. Development and application of a standardized assay for chemical disinfection of coccidia oocysts. *Vet Parasitol.* 2002;103(4):299-308.

Dauguschies A, Hintz J, Henning M, Rommel M. Growth performance, meat quality and activities of glycolytic enzymes in the blood and muscle tissue of calves infected with *Sarcocystis cruzi*. *Vet Parasitol.* 2000;88(1-2):7-16.

de Graaf DC, Vanopdenbosch E, Ortega-Mora LM, Abbassi H, Peeters JE. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int J Parasitol.* 1999;29:1269-87.

de la Fuente, Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzon M, Cid D, Garcia S, Orden JA, Gomez-Bautista M. Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev Vet Med.* 1998;36(2):145-52.

de la Fuente, Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzon M, Cid D, Garcia S, Orden JA, Gomez-Bautista M. Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev Vet Med.* 1998;36(2):145-52.

de la Fuente, Luzon M, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Garcia A, Cid D, Orden JA, Garcia S, Sanz R, Gomez-Bautista M. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30 day old diarrheic dairy calves in central Spain. *Vet Parasitol.* 1999;80(3):179-85.

Dirksen G, Gründer H, Stöber M. *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes.* 4. Aufl. Berlin: Verlag Parey; 2002. S. 561-572,606-607.

Dubey J, Speer CA, Fayer R. *Cryptosporidiosis in Man and Animal.* 1990.  
DuPont HL, Chapell CL, Sterling CR, Okhuysen PC, Rose JB, Jakubowski W. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. *N Engl J Med.* 1995;332:855-9.

Eberhardt U. *Parasitologische und klinische Befunde bei der experimentellen Kryptosporidien-Infektion der Maus in Abhängigkeit von der Infektionsdosis [Dissertation med. vet].* München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 1985.

Eckert J, Kutzer E, Rommel M, Bürger HJ, Körting W. *Veterinärmedizinische Parasitologie.* 4. Aufl. Berlin, Hamburg: Verlag Parey; 1992.

Elliot A, Morgan UM, Thompson RC. Improved staining method for detecting *Cryptosporidium* oocysts in stools using malachite green. *J Gen Appl Microbiol.* 1999;45(3):139-142.

Enemark HL, Ahrens P, Lowery CJ, Thamsborg SM, Enemark JMD, Bille-Hansen V, Lind P. *Cryptosporidium andersoni* from a Danish cattle herd: identification and preliminary characterisation. *Vet Parasitol.* 2002;107:37-49.

Enemark HL, Bille-Hansen V, Lind P, Heegaard PMH, Vigre H, Ahrens P, Thamsborg SM. Pathogenicity of *Cryptosporidium parvum* evaluation of an animal infection model. *Vet Parasitol.* 2003;113(1):35-57.

Faubert GM, Litvinsky Y. Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. *J Parasitol.* 2000;86(3):495-500.

Fayer R, Leek RG. The effects of reducing conditions, medium, pH, temperature, and time on in vitro excystation of *Cryptosporidium*. *J Protozool.* 1984;31(4):567-9.

Fayer R, Ungar BL. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. *Microbiol Rev.* 1986;50(4):458-83.

Fayer R, Andrews C, Ungar BL, Blagburn B. Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J Parasitol.* 1989;75(3):393-7.

Fayer R. Activity of sulfadimethoxine against cryptosporidiosis in dairy calves. *J Parasitol.* 1992;78(3):534-7.

Fayer R, Ellis W. Paromomycin is effective as prophylaxis for cryptosporidiosis in dairy calves. *J Parasitol.* 1993;79(5):771-4.

Fayer R, Graczyk TK, Cranfield MR, Trout JM. Gaseous disinfection of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl Env Microbiol.* 1996;62(10):3908-9.

Fayer R. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press Boca Ration. Florida. 1997.

Fayer R, Gasbarre L, Pasquali P, Canals A, Almeria S, Zarlenga D. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates, dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *Int J Parasitol.* 1998;28(1):49-56.

Fayer R, Santin M, Xiao LH. *Cryptosporidium bovis* n. sp (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J Parasitol.* 2005;91(3):624-9.

Fiedler HH. Beitrag zur Kryptosporidieninvasion bei Kälbern. *Tierärztl Umschau.* 1982;40,526-528.

Fischer HH. Attempted therapy and prophylaxis of cryptosporidiosis in calves by administration of sulphadimidin. Acta Vet. 1983;52,183-190.

Fischer O. Attempted therapy and prophylaxis of cryptosporidiosis in calves by administration of sulphadimidine. Acta Vet. 1993;52,183-190.

Fleta JC, Sanchez-Acedo A, Clavel J. Detection of Cryptosporidium oocysts in extra intestinal tissues of sheep and pigs. Vet Parasitol. 1995; 59, 201 – 205

Garcia LS, Bruckner DA, Brewer TC, Shimizu RY. Thechniique for the recovery and identification of cryptosporidium oocysts from stool speciems. J Clin Microb. 1983;18,185-190.

Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Orden JA, Cid D, Sanz R, Gomez-Bautista M, de la FR. Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2000;23(3):175-83.

Geurden T, Claerebout E, Vercruyssen J, Berkvens D. Bayesian evaluation of four immunological assays for the diagnosis of clinical cryptosporidiosis in calve. Vet J. 2008;176,400-402.

Göbel E. Mikromorphologische Untersuchungen zur Wirksamkeit von Lasalocid auf die Entwicklungsstadien von Cryptosporidium. Bericht des 16. Kongresses der DVG (Bad Nauheim). 1985;278-282.

Göbel E. Bekämpfungsmöglichkeiten der Kryptosporidiose des Kalbes in Problembeständen. Bericht der 12. Tagung der DVG (Wien). 1986.

Göbel E. Diagnose und Therapie der akuten Kryptosporidiose beim Kalb. Tierärztl Umsch. 1987;42:836-869.

Graczyk TK, Cranfield MR, Hill SL. Therapeutic efficacy of halofuginone and spiramycin treatment against *Cryptosporidium serpentis* (Apicomplexa: Cryptosporididae) infections in captive snakes. *Parasitol Res.* 1996;82(2):143-8.

Graczyk TK, Fayer R, Knight R, Mhangami-Ruwende B, Trout JM, Da Silva AJ, Pieniazek NJ. Mechanical transport and transmission of *Cryptosporidium parvum* oocysts by wild filth flies. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;63(3-4):178-83.

Graczyk TK, Grimes BH, Knight R, Da Silva AJ, Pieniazek NJ, Veal DA. Detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* carried by synanthropic flies by combined fluorescent in situ hybridization and a monoclonal antibody. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;68(2):228-32.

Grinberg A, Markovics A, Galindez J, Lopez-Villalobos N, Kosak A, Tranquillo VM. Controlling the onset of natural cryptosporidiosis in calves with paromomycin sulphate. *Vet Rec.* 2002;151(20):606-8.

Günther R. Pathogenesis and clinical features of painful dysfunctions of the locomotor system. *Wien Med Wochenschr.* 1982;132(23-24):565-9.

Günther H. Kryptosporidien beim Kalb, Bedeutung, Nachweis, Bekämpfung. *Mh Vet Med.* 1983;38,653-655.

Hall GA, Reynolds DJ, Parsons KR, Bland AP, Morgan JH. Pathology of calves with diarrhoea in southern Britain. *Res Vet Sci.* 1988;45(2):240-50.

Harp JA, Woodmansee DB, Moon HW. Resistance of Calves to *Cryptosporidium parvum* -Effects of Age and Previous Exposure. *Infect Immun.* 1990;58(7):2237-40.

Harp JA, Jardon P, Atwill ER, Zylstra M, Checelski S, Goff JP, De Simone C. Field testing of prophylactic measures against *Cryptosporidium parvum* infection in calves in a California dairy herd. *Am J Vet Res.* 1996;57(11):1586-8.

Harp JA, Fayer R, Pesch BA, Jackson GJ. Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk. Appl Environ Microbiol. 1996;62(8):2866-8.

Harp JA, Fayer R, Pesch BA, Jackson GJ. Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk. Appl Environ Microbiol. 1996;62(8):2866-8.

Hartmann H. Welche diagnostische Bedeutung besitzt die Rektaltemperaturkontrolle beim Kalb. Mh Vet Med. 1985a;40,430-431.

Heine J, Boch J. Kryptosporidien-Infektion beim Kalb. Nachweis, Vorkommen und experimentelle Übertragung. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 1981;15:289-292.

Heine J. Einfache Nachweismethode für Kryptosporidien im Kot. Zentralbl Veterinärmed. B. 1982;29:324-327.

Heine J, Pohlenz JF, Moon HW, Woode GN. Enteric lesion in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. J Infect Dis. 1984;150:768-775.

Heinrichs AJ, Heinrichs BS, Harel O, Rogers GW, Place NT. A prospective study of calf factors affecting age, body size, and body condition score at first calving of holstein dairy heifers. J Dairy Sci. 2005;88(8):2828-35.

Helas F. Kälberverluste und Kälberdurchfälle innerhalb der ersten drei Lebenswochen sowie Einfluss der Koliruhmuttertierimpfungen und des Tränkeregimes auf das Durchfallgeschehen. [Diss med.vet.] Leipzig: Veterinärmedizinische Fakultät Leipzig; 1980.

Henrikson SA, Pohlenz JF. Staining of cryptosporidiosis by a modified Ziehl-Neelson technique. Acta Vet Med. 1981;22,594-596.

Henrikson SA, Krogh HV. Bovine cryptosporidiosis in Denmark. 1. Prevalence, age distribution, and seasonal variation. Nord Veterinärmed. 1985a;37:34-41.

Henrikson SA, Krogh HV. Bovine Cryptosporidiosis in Denmark. Nord Vet Med. 1985b;37,42-47.

Hoechst, Roussel. Halocur rettet Kälberleben. Produktinf. Hoechst Roussel Vet Vertrieb. 3-21.

Horen WP. Detection of *Cryptosporidium* in human fecal specimens. J Parast. 1983;69,622-624.

House JA. Economic impact of rotavirus and other neonatal disease agents of animals. J Am Vet Med Assoc. 1978;173(5 Pt 2):573-6.

Huetink RE, van der Giessen JW, Noordhuizen JP, Ploeger HW. Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. Vet Parasitol. 2001;102(1-2):53-67.

Iben B. Kryptosporidiose im Kälberstall. Arbeitskr Großtierpr. 5. 2004;1:20-27.

Janeway C, Travers P. Immunologie. 2. Aufl. Heidelberg: Verlag Spektrum; 1997. S. 344-426.

Jarvie BD, Trotz-Williams LA, McKnight DR, Leslie KE, Wallace MM, Todd CG, Sharpe PH, Peregrine AS. Effect of halofuginone lactate on the occurrence of *Cryptosporidium parvum* and growth of neonatal dairy calves. J Dairy Sci. 2005;88(5):1801-6.

Joachim A, Eckert E, Petry F, Bialek R, Dauschies A. Comparison of viability assays for *Cryptosporidium parvum* oocysts after disinfection. Vet Parasitol. 2003a;111(1): 47-57.

Joachim A, Krull T, Schwarzkopf J, Dauschies A. Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. *Vet Parasitol.* 2003b;112:277-88.

Joachim A. Human cryptosporidiosis: An update with special emphasis on the situation in Europe. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2004;51(6):251-9.

Kageruka P, Brandt JRA, Tablman H, Jonas C. Modified Köster staining method for the diagnosis of cryptosporidiosis. *Ann Belge Med Trop.* 1984;94,171-175.

Kaske M, Kunz HJ. *Handbuch der Durchfallerkrankungen der Kälber.* Osnabrück: Kamlage Verlag; 2003.

Keidel J. Integration medikamenteller Metaphylaxe und chemischer Desinfektion zur Kontrolle der Kälbercryptosporidiose unter Feldbedingungen. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Veterinärmedizinische Fakultät Leipzig; 2007.

Krull T. Studien zur Bedeutung der Kälbercryptosporidiose und deren medikamentellen Behandlung mit Halofuginon. [Dissertation med. vet.] Hannover: Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; 2000;1-133.

Krull UJ, Horgen PA. Real-time PCR for quantification of *Giardia* and *Cryptosporidium* in environmental water samples and sewage. *Appl Environ Microbiol.* 2003;69(9):5178-85.

Koudela B, Modry D, Vitovec J. Infectivity of *Cryptosporidium muris* isolated from cattle. *Vet Parasitol.* 1998;76(3):181-8.

Kvac M, Kouba M, Vitovec J. Age related and housing dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. *Vet Parasitol.* 2006;137(3-4):202-9.

Lallemant M, Villeneuve A, Belda J, Dubreuil P. Field study of the efficacy of halofuginone and decoquinate in the treatment of cryptosporidiosis in veal calves. *Vet Rec.* 2006;159,672-677.

Le Charpentier F, Gallian A, Messing B, Andreani T, Hoang C, Puel F, Houin R. Diagnostic ultrastructural d'une infection intestinale bovine cryptosporidium sp. Ann Path. 1982;2:336-338.

Lefay D, Naciri M, Poirier P, Chermette R. Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in suckling calves. Vet Rec. 2001;148(4):108-12.

Levine ND. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclatur. J Protozool.1980;66:830-834.

Levine ND. Taxonomy and review of the Coccidian Genus Cryptosporidium (Protozoa, Apicomplexa). J Protozool.1984;31:94-98.

Lindsay DS, Blagburn BL. Antiprotozoan Drugs. Veterinary Pharmacology and therapeutics. Iowa State University Press, Ames (USA). 1995;955-983.

Lindsay DS, Upton SJ, Owens DS, Morgan UM, Mead JR, Blagburn BL. Cryptosporidium andersoni n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, Bos taurus. J Eukaryot Microbiol. 2000;47(1):91-5.

Lindsay DS, Woods KM, Upton SJ, Blagburn BL. Activity of decoquinate against Cryptosporidium parvum in cell cultures and neonatal mice. Vet Parasitol. 2000;89(4):307-11.

Logan EF, Penhale WJ. Studies on the immunity of the calf to colibacillosis. V. The experimental reproduction of enteric colibacillosis. Vet Rec. 1972;28;91(18):419-23.

Luginbühl A, Pfister K. Die Kryptosporidiose des Kalbes als schwerwiegendes Bestandsproblem. Schweiz Arch Tierheilk.1996;138:195-200.

Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blaire KA, Peterson DE, Kazmierczak JJ, Addis DG, Fox KR, Rose JB, Davis JP. A massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted through the public water supply.

N Engl J Med.1994;331:161-167.

Majewska AC, Solarczyk P, Tamang L, Graczyk TK. Equine Cryptosporidium parvum infections in western Poland. Parasitol Res. 2004;93(4):274-8.

Mancassola R, Richard A, Naciri M. Evaluation of decoquinatone to treat experimental cryptosporidiosis in kids. Vet Parasitol. 1997;69(1-2):31-7.

McAllister TA, Olson ME, Fletch A, Wetzstein M, Entz T. Prevalence of Giardia and Cryptosporidium in beef cows in southern Ontario and in beef calves in southern British Columbia. Can Vet J. 2005;46(1):47-55.

Mccluskey BJ, Greiner EC, Donovan GA. Patterns of Cryptosporidium Oocyst Shedding in Calves and A Comparison of 2 Diagnostic Methods. Vet Parasitol. 1995;60(3-4):185-90.

McDonald V, Stables R, Warhurst DC, Barer MR, Blewett DA, Chapman HD, Connolly GM, Chiodini PL, McAdam KP. In vitro cultivation of Cryptosporidium parvum and screening for anticryptosporidial drugs. Antimicrob Agents Chemother. 1990;34(8):1498-500.

Mehlhorn, Düwel HD, Raether W. Diagnose und Therapie der Parasitosen von Haus-, Nutz- und Heimtieren. 2. Aufl. Stuttgart: Verlag Gustav Fischer; 1993. S. 50–52,135,177–180,267,315,393.

Mehlhorn H, Piekarski G. Grundriß der Parasitenkunde. 6. Aufl. Heidelberg: Verlag Spektrum; 2001. S. 74–91.

Meisel JL, Perera DR, Meligro C, Rubin CE. Overwhelming watery diarrhea associated with a cryptosporidium in an immunosuppressed patient. Gastroenterology. 1976;70(6):1156-60.

Meuten DJ, Van Kruiningen HJ, Lein DH. Cryptosporidiosis in a calf. J Am Vet Med Assoc. 1974;165(10):914-7.

Mills KW, Johnson JL, Jensen RL, Woodard LF, Doster AR. Laboratory findings associated with abomasal ulcers tympany in range calves. *J Vet Diagn Invest.* 1990;2(3):208-12.

Mielke D, Hiepe T. The effectiveness of different disinfectants based on p-chloro-m-cresol against *Ascaris suum* eggs under laboratory conditions. *Berlin Munch Tierärztl Wochenschau.* 1998;111,291.

Mohammed HO, Wade SE, Schaaf S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet Parasitol.* 1999;83(1):1-13.

Moon HW, Fecal transmission of calf cryptosporidia between calves and pigs. *Vet Path.* 1981;18,248-255.

Moon HW, Woode GN. Attempted chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in calves. *Vet Rec.* 1982b;110,181.

Moore DA, Atwill ER, Kirk JH, Brahmabhatt D, Herrera AL, Hou L, Singer MD, Miller TD. Prophylactic use of decoquinate for infections with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *J Am Vet Med Assoc.* 2003;223(6):839-45.

Morgan-Ryan UM, Fall A, Ward LA, Hijawi N, Sulaiman I, Fayer R, Thompson RC, Olson M, Lal A, Xiao L. *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. *J Eukaryot Microbiol.* 2002;49(6):433-40.

Naciri M, Mancassola R, Yvoré P, Peeters J. The effect of halofuginone lactate on experimental *Cryptosporidium parvum* infections in calves. *Vet Parasitol.* 1993;45:199–207.

Naciri M, Lefay MP, Mancassola R, Poirier P, Chermette R. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet Parasitol.* 1999;85(4):245-57.

Nagy B, Pohlenz J. Die bovine Kryptosporidiose. Diagnose und Therapie. *Tierärztl Prax.* 1982;10:163–172.

Najdrowski M. Etablierung eines In vitro Infektionsmodells zur Vitalitätsbeurteilung von *Cryptosporidium parvum* Oozysten [Dissertation med. vet]. Leipzig: Universität Leipzig; 2006.

Nime FA, Burek JD, Page DL, Hoelscher MA, Yardley JH. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology.* 1976;70:592–598.

Nydam DV, Wade SE, Schaaf SL, Mohammed HO. Number of *Cryptosporidium parvum* oocysts or *Giardia* spp. cysts shed by dairy calves after natural infection. *Am J Vet Res.* 2001;62(10):1612-5.

O'Donoghue PJ. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int J Parasitol.* 1995;25:139-95.

Okhuysen PC, Chappell CL, Crabb JH, Sterling CR, Dupont HL. Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. *J Infect Dis.* 1999;180(4):1275-81.

Olson ME, O'Handley RM, Ralston BJ, Mc Allister TA, Thompson RCA. Update on cryptosporidium and *Giardia* infections in cattle. *Trends Parasitol.* 2004;20:185-191.

Ortega-Mora LM, Wright SE. Age Related Resistance in Ovine Cryptosporidiosis Patterns of Infection and Humoral Immune-Response. *Infect Immun.* 1994;62(11):5003-9.

Ortega-Mora LM, Requejo-Fernandez JA, Pilar-Izquierdo M, Pereira-Bueno J. Role of adult sheep in transmission of infection by *Cryptosporidium parvum* to lambs: confirmation of periparturient rise. *Int J Parasitol.* 1999;29(8):1261-8.

Pancieria RJ, Thomasson RW, Garner FM. Cryptosporidial infection in a calf. *Vet Pathol.* 1971;8:479–484.

Pavlasek I. Dynamics of the Release of Oocysts of *Cryptosporidium* Sp in Spontaneously Infected Calves. *Folia Parasitol (Praha).* 1982;29(4):295-6.

Pavlasek I. First detection of cryptosporidium sp oocysts in calf faeces by flotation method. *Folia Parasit Praha.* 1982a;29,115-118.

Pavlasek I. Dynamics of the release of oocysts of *Cryptosporidium* sp in spontaneously infected calves. *Folia Parasit Praha.* 1982b;29,295-296.

Pavlasek I, Mares J. Viv jednorazove dezinfekos farmy na prubeh Kryptosporioz-nich infekei telat. *Vet Med Praha.* 1983;28,449-455.

Pavlasek I, Nikitin VG. Finding of *Cryptosporidium* sp. in calves in the USSR. *Folia Parasit (Praha).* 1983;30,4.

Pavlasek I. First record of developmental stages of *Cryptosporidium* sp. in various organs of experimentally infected mice and spontaneously infected calves. *Folia Parasitol (Praha).* 1984;31(2):191-2.

Peeters J. E, Opdenbosch Van E, Glorieux G. Demonstration of *Cryptosporidia* in calf faeces. *Vlaams Diergeneesk Tijdschr.* 1982;51,513-523.

Peters JE, Villacorta I, Naciri M, Vanopdenbosch E. Specific serum and local antibody responses against *Cryptosporidium parvum* during medication of calves with halofuginone lactate. *Infect Immun.* 1993;61:4440–4445.

Peng MM, Xiao L, Freeman AR, Arrowood MJ, Escalante AA, Weltman AC, Ong CS, Mac Kenzie WR, Lal AA, Beard CB. Genetic polymorphism among *Cryptosporidium parvum* isolates: evidence of two distinct human transmission cycles. Emerg Infect Dis. 1997;3(4):567-73.

Pfister K. Wenn der Durchfall nicht zu stoppen ist. top agrar 6/2002. 2002;18-20.

Pohlentz J, Moon HW, Cheville NF, Bemrick WJ. Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. J Am Vet Med Assoc. 1978;172:452-457.

Pohlentz J. Cryptosporidiosis in humans and animals. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 1987;94(2):67-70.

Powell HS. Bovine cryptosporidiosis. Vet med small animal clin. 1976;71,205-207.

Rademacher G. Kälberkrankheiten. Verlags Union Agrar, München. 2000.

Rekg JE, Hancock ML, Woodmansee DB. Anticryptosporidial activity of sulfadimethoxine. Antimicrob Agents Chemother. 1988;32(12):1907-8.

Reynolds DJ, Morgan JH, Chanter N, Jones PW, Bridger JC, Debney TG, Bunch KJ. Microbiology of calf diarrhoea in southern Britain. Vet Rec. 1986;119(2):34-9.

Roffeis R. Untersuchung zum Vorkommen und Verlauf von Kryptosporidien – Infektionen in der intensiven Kälberproduktion. [Diss. med. vet.] Berlin: Humboldt- Universität Berlin. 1987;4-70.

Rolle M, Mayer A. Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 6. Aufl. Stuttgart: Verlag Enke; 1993. S. 344-346, 447-449, 608-610.

Rommel M, Eckert J, Krutzer E, Körting W, Schnieder T. Protozoeninfektionen der Wiederkäuer (Rind, Schaf, Ziege.) Veterinärmedizinische Parasitologie. 5. Aufl. Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey; 2000. S. 144-147.

Sagodira S, Buzoni-Gatel D, lochmann S, Naciri M, Bout D. Protection of kids against *Cryptosporidium parvum* infection after immunization of dams with CP15-DNA. *Vaccine*. 1999;17(19):2346-55.

Sahal M, Karaer Z, Yasa DS, Cizmeci S, Tanyel B. Cryptosporidiosis in newborn calves in Ankara region clinical, haematological findings and treatment with Lasalocid-NA. *Dtsch Tierärztl Wochenschr*. 2005;112(6):203-8, 210.

Santin M, Trout JM, Xiao L, Zhou L, Greiner E, Fayer R. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet Parasitol*. 2004;122(2):103-17.

Schloemer L. Die Übertragung von *Cryptosporidium spec.* des Kalbes auf Mäuse, Hamster und Meerschweinchen sowie Schweine, Schafe und Ziegen [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München;1982.

Schnieder T, Tenter A. *Veterinärmedizinische Parasitologie*. 6. Aufl. Stuttgart: Parey Verlag; 2006. S.26-29,127-130.

Scholtysik G, Steuber S. Antiparasitäre Chemotherapie. Frey HH, Löscher W (Hrsg.). *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. 2. Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2003.

Schrag L, Singer H, Enz H, Messinger H, Pohl. *Das Buch vom Kalb*. Hengsberg: Verlag Schober; 1997. S. 143:142-144.

Schulz L. Die bovine Kryptosporidiose. Nachweis und Bedeutung. *Mh Vet med*.1986;41,330-335.

Schulz W, Feist H, Günther H. Die bovine Kryptosporidiose Dynamik der Oozystenausscheidung in Bezug zum Gesundheitsstatus bei Kälbern. *Monatsh Vetmed*.1989;44:225–228.

Scott CA, Smith HV, Gibbs HA. Excretion of *Cryptosporidium parvum* oocysts by a herd of beef suckler cows. *Vet Rec.* 1994;134(7):172.

Siebert SH, Gründer D. Untersuchung zur Epidemiologie der Kryptosporidiose des Kalbes. *Tierärztl Umsch.* 1991;46:262–266.

Silbernagel S. Taschenatlas der Physiologie. 5. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2001. S. 262-266.

Sloper KS, Bird RE, Slaven G, Webster ADE. Chronic malabsorption due to cryptosporidiosis in a child with immunoglobulin deficiency. *Gut.* 1982;23,80-82.

Snodgrass D, Angus KW, Gray EW, Keir WA. Cryptosporidia associated with Rotavirus and an *Escherichia coli* in an outbreak of calf scour. *Vet Rec.* 1980;104,458-459.

Snodgrass DR, Stewart J, Taylor J, Krautil FL, Smith ML. Diarrhoea in dairy calves reduced by feeding colostrum from cows vaccinated with rotavirus. *Res Vet Sci.* 1982 Jan;32(1):70-3.

Sreter T, Szell Z, Varga I. Attempted chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in chickens, using diclazuril, toltrazuril, or garlic extract. *J Parasitol.* 1999;85(5):989-91.

Sreter T, Egyed Z, Szell Z, Kovacs G, Nikolausz M, Marialigeti K, Varga I. Morphologic, host specificity, and genetic characterization of a European *Cryptosporidium andersoni* isolate. *J Parasitol.* 2000;86(6):1244-9.

Stein E, Boch J, Heine J, Henkel G. Der Verlauf natürlicher *Cryptosporidium*-Infektionen in vier Rinderzuchtbetrieben. *Berl Münch Tierärztl Wschr.* 1983;96:222-5.

Stein E, Boch J, Heine J, Henkel G. Verlauf der Kryptosporidieninfektion des Kalbes sowie Möglichkeiten der Desinfektion. [Diss. med. vet.]. München: Ludwig-Maximilian Universität München; 1983.

Steuber S, Kroker R. Antiprotozoika. Löscher W, Ungemach FR, Kroker E (Hrsg.), Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey; 1999. S. 355-377.

Slavin D. *Cryptosporidium meleagridis*. J Comp Path. 1955;65:262-266.

Sturdee AP, Bodley-Tickell AT, Archer A, Chalmers RM. Long-term study of *Cryptosporidium* prevalence on a lowland farm in the United Kingdom. Vet Parasitol. 2003;116(2):97-113.

Sreter T, Szell Z, Varga I. Attempted chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in chickens, using diclazuril, toltrazuril, or garlic extract. J Parasitol. 1999;85(5):989-91.

Svensson C. Prevention of *Eimeria alabamensis* coccidiosis by a long-acting baquiloprim/sulphadimidine bolus. Vet Parasitol. 1998;74(2-4):143-52.

Svensson C, Lundborg K, Emanuelson U, Olson SO. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. Prev Vet Med. 2003;58(3-4):179-97.

Theodos CM, Griffiths JK, D'Onfro J, Fairfield A, Tzipori S. Efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in cell culture and in animal models. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42(8):1959-65.

Trotz-Williams LA, Martin SW, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS. Association between management practices and within herd prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding on dairy farms in southern Ontario. Prev Vet Med. 2008;11-23.

Tyzzar EE. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. Proc Soc Exp Biol Med. 1907;5:12-3.

Tyzzar EE. An extracellular coccidium, cryptosporidium muris of the gasrio glands of the common mouse. J Med Res. 1910;23,487-509.

Tyzzar EE. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch Protistenkd. 1912;26:394-412.

Tyzzar EE. Coccidiosis in gallinaceous birds. Amer J Hyg. 1929;10,259-383.

Tzipori S, Angus KW, Campbell I, Gray EW. *Cryptosporidium*: evidence for a single-species genus. Infect Immun. 1980;30(3):884-6.

Tzipori S, Angus KW, Campbell I, Gray EW. *Cryptosporidium*: Evidence for single species genus. Infect Immun. 1980a;30,884-886.

Tzipori S, Smith M, Halpin C, Angus KW, Campbell I. Experimental cryptosporidiosis in calves clinical manifestations and pathophysiological findings. Vet Rec. 1983b;112,116-120.

Tzipori S, Campbell I, Sherwood D, Snodgrass DR. An outbreak of calf diarrhoe attributed to cryptosporidial infection. Vet Rec. 1980c;107,579-580.

Tzipori S, Rand W, Griffiths J, Widmer G, Crabb J. Evaluation of an Animal-Model System for Cryptosporidiosis - Therapeutic Efficacy of Paromomycin and Hyperimmune Bovine Colostrum-Immunoglobulin. Clin Diagn Lab Immunol. 1994;1(4):450-63.

Uga S, Matsuo J, Kono E, Kimura K, Inoue M, Rai SK, Ono K. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. Vet Parasitol. 2000;94(1-2):27-32.

Upton SJ, Current WL. The species of *Cryptosporidium* (*Apicomplexa: Cryptosporidiidae*) infecting mammals. *J Parasitol.* 1985;71(5):625-9.

Varga I, Sreter T, Bekesi L. Potentiation of ionophorous anticoccidials with duokvin: battery trials against *Cryptosporidium baileyi* in chickens. *J Parasitol.* 1995;81(5):777-80.

Veldhyzen van Zanten SJO, Lange JMA. Amprolium for coccidiosis in AIDS. *Lancet.* 1984;1,345-346.

Villacorta I, Peeters JE, Vanopdenbosch E, Ares-Mazas E, Theys H. Efficacy of halofuginone lactate against *Cryptosporidium parvum* in calves. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35(2):283-7.

Virtala AMK, Mechor GD, Grohn YT, Erb HN. Morbidity from nonrespiratory diseases and mortality in dairy heifers during the first three months of life. *J Am Vet Med Assoc.* 1996;208(12):2043-6.

Wiesner E, Ribbeck R. *Lexikon der Veterinärmedizin.* 4. Aufl. Stuttgart: Verlag Enke;1999. S. 821:299–300.

Willburger A. *Cryptosporidien bei Kälbern im Einzugsgebiet des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes in Aulendorf.* [Diss. med. vet.]. Zürich: Universität Zürich; 1981.

Wu Z, Nagano I, Matsuo A, Uga S, Kimata I, Iseki M, Takahashi Y. Specific PCR primers for *Cryptosporidium parvum* with extra high sensitivity. *Mol Cell Probes.* 2000;14(1):33-9.

Xiao L, Herd RP, Rings DM. Concurrent infections of *Giardia* and *Cryptosporidium* on two Ohio farms with calf diarrhea. *Vet Parasitol.* 1993;51(1-2):41-8.

Xiao L, Herd RP, Rings DM. Concurrent infections of *Giardia* and *Cryptosporidium* on two Ohio farms with calf diarrhea. *Vet Parasitol.* 1993;51(1-2):41-8.

Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. Cryptosporidium taxonomy: recent advances and implications for public health. Clin Microbiol Rev. 2004;17(1):72-97.

Yilmaz A, Kaleta EF. Disinfection of caliciviruses at 20 and 10 degrees C. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 2003;110(7):286-90.

Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. Cryptosporidium taxonomy recent advances and implications for public health. Clin Microbiol Rev. 2004;17(1):72-97.

Yilmaz A, Kaleta EF. Disinfection of caliciviruses at 20 and 10 degrees C. Dtsch Tierärztl Wochenschr. 2003;110(7):286-90.

Zintl A, Keogh B, Ezzaty-Mirhashemi M, De Waal T, Scholz D, Mulcahy G. Survival of Cryptosporidium parvum oocysts in the presence of hydrated lime. 2010;166(10):297-300.

## 9 Danksagung

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. A. Dauguschies für die wissenschaftliche Betreuung und Bereitstellung des Themas sowie die stets gewährte Hilfe und Unterstützung.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Parasitologie für die Einweisung in die diagnostischen Methoden dieser Studie sowie die Bereitstellung verschiedener Materialien.

Ein herzlicher Dank gilt den Vorsitzenden Herrn Mannel und Herrn Fischer der Agrargenossenschaft Ulstertal Bremen für die Genehmigung der Untersuchungen im Studienbetrieb. Weiterhin danke ich Herrn Schütz, Leiter der Milchviehanlage Geisa, für die Überlassung der Durchführungen meiner Untersuchungen in der Betriebseigenen Kälberanlage. Zusätzlich möchte ich mich bei Herrn Oechel und Herrn Drum für die stets gewährte Hilfe bei den Untersuchungen im Kälberstall bedanken. Außerdem danke ich allen Mitarbeitern des Betriebes für die freundliche Aufnahme.

Vielen Dank Herrn Droß für die Unterstützung in statistischen Fragen.

Der Firma Intervet und Menno-Chemie danke ich für die Bereitstellung der Testprodukte.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern, die mich zu jeder Zeit unterstützen und ohne die ich nicht das geworden wäre was ich bin! Ich liebe euch! Christian, meinem Ehemann, danke ich von ganzen Herzen für die unendliche Geduld mit mir, meinem Ehrgeiz und meinem „Computerschicksal“. Danke für die aufbauenden Worte, danke dass es dich gibt! Danken möchte ich auch meinem zwei Jahre altem Sohn Henning und meinem zehnwöchigen Sohn Linus für die Kraft die ihr mir jeden Tag gebt.