

Aus der
Klinik für Klautiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Chlamydienmonitoring in ausgewählten Milchkühe haltenden Betrieben
Nordrhein-Westfalens

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Miriam Isabell Vogel
Tierärztin aus Ansbach

Berlin 2011
Journal-Nr.: 3346

Diese Studie wurde vom Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen sowie von einer Vorgängerbehörde des Landesamtes für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen unterstützt

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Kerstin Müller
Zweiter Gutachter: PD Dr. Petra Reinhold
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Karl-Hans Zessin

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Chlamydiaceae, dairy cattle, prevalence, polymerase chain reaction, antibody testing

Tag der Promotion: 28.07.2011

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-129-1

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2011

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2012

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meiner Familie

INHALT

VERWENDETE TABELLEN.....	IV
TABELLEN DES ANHANGS.....	VII
VERWENDETE ABBILDUNGEN UND FORMELN.....	IX
VERWENDETE ABKÜRZUNGEN.....	XI
1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG.....	1
2 LITERATURÜBERSICHT.....	3
2.1 Charakteristiken des Erregers.....	3
2.2 Taxonomie.....	5
2.3 Diagnostische Verfahren.....	7
2.3.1 Direkter Nachweis.....	8
2.3.2 Indirekter Nachweis.....	8
2.3.3 Nukleinsäure-Amplifikationstests.....	9
2.4 Chlamydiosen der Tiere.....	10
2.4.1 Chlamydieninfektionen beim Rind.....	10
2.4.1.1 Symptomatik.....	10
2.4.1.2 Epidemiologische Aspekte weltweit.....	12
2.4.1.3 Epidemiologische Aspekte im Bestand.....	16
2.4.1.4 Erkrankungen des Genitaltraktes.....	17
2.4.1.5 Erkrankungen des Respirationstraktes.....	19
2.4.1.6 Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes.....	19
2.4.1.7 Therapie und vorbeugende Maßnahmen.....	21
2.4.2 Infektionen mit Chlamydien bei anderen Tierarten.....	22
2.4.2.1 Schaf und Ziege.....	22
2.4.2.2 Schwein.....	22
2.4.2.3 Pferd.....	23
2.4.2.4 Nutzgeflügel und Ziervögel.....	23
2.4.2.5 Sonstige Tierarten.....	24
2.5 Chlamydiosen des Menschen.....	24
3 MATERIAL UND METHODEN.....	28
3.1 Einbettung der Studie.....	28
3.2 Auswahl der Betriebe.....	28
3.2.1 Betriebskennzeichen.....	29
3.3 Betriebe.....	30
3.3.1 Geografische Lage.....	30

3.3.2	Bestandsgröße	31
3.3.3	Betriebsgröße	32
3.3.4	Haltungsform	32
3.3.5	Hygiene	35
3.3.6	Zukauf, Fütterung und Tränke	35
3.4	Probennahme und Untersuchung	36
3.4.1	Auswahl der Tiere	36
3.4.2	Untersuchung und Datenerfassung der Einzeltiere	37
3.4.3	Probenumfang	38
3.4.4	Probenentnahme	39
3.4.4.1	Entnahme der Nasentupferproben	39
3.4.4.2	Entnahme der Konjunktivaltupferproben	39
3.4.4.3	Entnahme der Vaginaltupferproben	40
3.4.4.4	Entnahme der Milchproben	40
3.4.4.5	Entnahme der Blutproben	40
3.4.5	Material zur Probennahme, Transportmedien und Transport der Proben	40
3.4.6	Labordiagnostik	41
3.4.6.1	Untersuchung auf gegen Chlamydien gerichtete Antikörper	41
3.4.6.2	Untersuchung auf chlamydienspezifische DNA-Sequenzen	42
3.4.6.3	Kulturelle Untersuchungen	42
3.4.7	Untersuchung von Angehörigen der landwirtschaftlichen Betriebe	42
3.4.7.1	Probennahme zur Chlamydiendiagnostik an Patienten	43
3.5	Statistische Auswertungen	43
3.5.1	Der Vierfelder-Chi-Quadrat-Test	43
3.5.2	Der Chi-Quadrat-Test nach McNemar	44
3.5.3	Fishers Exact-Test	44
3.5.4	Berechnung des Relativen Risikos (RR)	45
3.5.5	Berechnung der Odds Ratio (OR)	45
4	ERGEBNISSE	46
4.1	Direkter und indirekter Erregernachweis	46
4.1.1	Nachweis chlamydienspezifischer DNA-Sequenzen mittels PCR	46
4.1.2	Kultur	51
4.1.3	Antikörpernachweis mittels ELISA	51
4.1.4	Gemeinsame Auswertung der PCR- und ELISA-Ergebnisse	58
4.2	Auswertung der Betriebsmerkmale	61

4.2.1	Ergebnisse des Vergleichs der Betriebscharakteristika in Betrieben mit hoher und niedriger Nachweisrate bei den Probanden in der direkten und indirekten Diagnostik	61
4.2.2	Ergebnisse des Vergleichs ausgesuchter Merkmale der Tiergesundheit in Betrieben mit hoher und niedriger Nachweisrate in der direkten und indirekten Diagnostik	64
4.2.3	Ergebnisse der Tierleistungsparameter im Durchschnitt aller Betriebe	65
4.3	Ergebnisse der Untersuchungen beim Menschen	65
5	DISKUSSION	68
5.1	Nachweis von chlamydienspezifischen DNA-Sequenzen und Antikörpern im Probenmaterial von Rindern aus Problembetrieben	68
5.2	Abhängigkeit der Chlamydiennachweise vom Probenmaterial	76
5.3	Einfluss des Alters der Tiere	77
5.4	Einfluss betriebsspezifischer Faktoren.....	78
5.5	Zusammenhang zwischen Chlamydiennachweis und klinischer Erkrankung	81
5.6	Zusammenhang zwischen Chlamydienprävalenz und Leistungsparametern im Betrieb.....	83
5.7	Zoonotisches Potenzial	86
6	ZUSAMMENFASSUNG	88
7	SUMMARY	91
8	LITERATURÜBERSICHT.....	94
9	ANHANG	108
9.1	Fragebogen zur Erfassung der Betriebskennzeichen	108
9.2	Humanmedizinischer Fragebogen	117
9.3	Rohdaten der Einzeltieruntersuchungen (tabellarisch)	119
9.4	Ergebnisse des Friedrich-Loeffler-Institutes; Diagnostik (tabellarisch)	134
9.5	Ergebnisse der ELISA-Untersuchungen in den Tiergruppen	143
9.6	Signifikanzberechnungen.....	146
9.7	Milchleistungsdaten.....	149
10	DANKSAGUNGEN.....	151
11	SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG.....	154

VERWENDETE TABELLEN

Tabelle 1:	Übersicht über die Zuordnung verschiedener Chlamydien nach alter und neuer Lesart sowie deren Wirte und der durch verschiedene Chlamydien verursachten Erkrankungen.....	6
Tabelle 2:	Chlamydienbedingte Erkrankungen beim Rind. Übersicht über die beteiligten Organsysteme sowie die beobachtete Symptomatik.....	11
Tabelle 3:	Chlamydiennachweise beim Rind in Deutschland und im Ausland (Literaturangaben); Ergebnisse serologischer und kultureller Nachweisverfahren sowie Nachweise mittels PCR in Probenmaterial verschiedener Herkunft.....	13
Tabelle 4:	Inhalt der Fragebögen zur Erfassung der Betriebsmerkmale und der Gesundheit von Tier und Mensch	29
Tabelle 5:	Übersicht über die Bestandsgrößen und die Anzahl der Tiere in den verschiedenen Alters- und Nutzungsgruppen in den 15 an der Studie beteiligten Betrieben	31
Tabelle 6:	Übersicht über die Betriebsgröße sowie Anteile von Grün- und Ackerland in den 15 an der Studie beteiligten Betrieben	32
Tabelle 7:	Übersicht über die Aufstallungsform und die Entmistungsverfahren in den 15 an der Studie teilnehmenden Betrieben.....	33
Tabelle 8:	Übersicht über die Hygienemaßnahmen in den 15 an der Studie beteiligten Betrieben	35
Tabelle 9:	Übersicht über das betriebliche Zukaufs-, Tränke- und Fütterungsmanagement.....	36
Tabelle 10:	Übersicht über die Anzahl der beprobten Tiere pro Tiergruppe in den Betrieben.....	37
Tabelle 11:	Übersicht über die Art und Anzahl der entnommenen Proben sowie die jeweilige Analytik.....	38
Tabelle 12:	Übersicht über die Anzahl und den Entnahmeort von Probenmaterial für die Untersuchungen mittels PCR innerhalb der verschiedenen Probandengruppen	39
Tabelle 13:	Bewertung der Werte des CHEKIT©-Chlamydia ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz).....	42
Tabelle 14:	Vierfeldertafel für den Chi-Quadrat-Test.....	43

Tabelle 15: Vierfeldertafel für den Chi-Quadrat-Test nach McNemar.....	44
Tabelle 16: Vierfeldertafel zur Berechnung des Relativen Risikos	45
Tabelle 17: Nachweis chlamydienpezifischer DNA-Sequenzen mittels PCR in Probenmaterial von Konjunktival-, Nasen- und Vaginalschleimhäuten sowie in Milch. Die Ergebnisse werden bezogen auf die Gesamtzahl der am jeweiligen Entnahmeort entnommenen Proben dargestellt	47
Tabelle 18: Übersicht über die Ergebnisse der PCR-Analysen in den teilnehmenden Betrieben (n=15). Dargestellt wird die Anzahl positiv getesteter Tiere bezogen auf die Anzahl beprobter Tiere (n=225). Die Ergebnisse werden separat für den jeweiligen Entnahmeort (Konjunktival-, Nasen-, Vaginalschleimhaut, Milch) wiedergegeben ...	48
Tabelle 19: Gegenüberstellung des Anteils PCR-positiver Untersuchungsergebnisse in Tupfer- und Milchproben von Indextieren im Vergleich zu Nicht-Indextieren	50
Tabelle 20: Einzeltierergebnisse der PCR und der Kultivierung von Chlamydien aus ausgewähltem Probenmaterial	51
Tabelle 21: Nachweis chlamydienpezifischer Antikörper in gepaarten Serumproben mittels CHEKIT®- <i>Chlamydia</i> ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40	52
Tabelle 22: Nachweis chlamydienpezifischer Antikörper in gepaarten Seren mittels CHEKIT®- <i>Chlamydia</i> ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz). Die Darstellung der Untersuchungsergebnisse erfolgt getrennt nach Betrieben (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40	54
Tabelle 23: Nachweis chlamydienpezifischer Antikörper mittels CHEKIT®- <i>Chlamydia</i> ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz). Dargestellt werden die Ergebnisse für die jeweilige Altersgruppe und für die Indextiere zum Zeitpunkt der ersten Probennahme (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40	57

-
- Tabelle 24: Nachweis chlamydien-spezifischer Antikörper mittels CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz). Dargestellt werden die Ergebnisse für die jeweilige Altersgruppe und für die Indextiere zum Zeitpunkt der zweiten Probennahme (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 4057
- Tabelle 25: Vierfeldertafel der Ergebnisse der PCR-Untersuchungen und des CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz); ein PCR Ergebnis wurde als „positiv“ gewertet, wenn an mindestens einem Entnahmeort ein Nachweis erfolgte. Ein positives Testergebnis des ELISA zum ersten bzw. zweiten Entnahmezeitpunkt wurde ebenfalls als „positiv“ gewertet58
- Tabelle 26: Vergleich ausgewählter Betriebsmerkmale in Betrieben mit niedrigen (Anteil positiv getesteter Tiere < 30%) bzw. hohen Nachweisraten (Anteil positiv getesteter Tiere > 60%) von chlamydien-spezifischer DNA und chlamydien-spezifischen Antikörpern62
- Tabelle 27: Vergleich der Ausprägung von Merkmalen des Tiergesundheitsmanagements in Betrieben mit niedriger bzw. hoher Prävalenz von chlamydien-spezifischer DNA („DNA-Prävalenz“) und Chlamydienantikörpern.64
- Tabelle 28: Milchleistungsdaten (Mittelwerte und Standardabweichung) von Kühen auf den untersuchten Betrieben (n)65
- Tabelle 29: Vergleich von Untersuchungsergebnissen der PCR und der Kultur in den Betrieben 1 bis 15 und bei Personen mit Tierkontakt sowie Darstellung der Ergebnisse des DNA Microarray und aktueller Beschwerden67

TABELLEN DES ANHANGS

9.3 Rohdatenergebnisse der Einzeluntersuchungen (tabellarisch).....	121
9.3.1 Tabelle A 1: Betrieb 1.....	119
9.3.2 Tabelle A 2: Betrieb 2.....	120
9.3.3 Tabelle A 3: Betrieb 3.....	121
9.3.4 Tabelle A 4: Betrieb 4.....	122
9.3.5 Tabelle A 5: Betrieb 5.....	123
9.3.6 Tabelle A 6: Betrieb 6.....	124
9.3.7 Tabelle A 7: Betrieb 7.....	125
9.3.8 Tabelle A 8: Betrieb 8.....	126
9.3.9 Tabelle A 9: Betrieb 9.....	127
9.3.10 Tabelle A 10: Betrieb 10.....	128
9.3.11 Tabelle A 11: Betrieb 11.....	129
9.3.12 Tabelle A 12: Betrieb 12.....	130
9.3.13 Tabelle A 13: Betrieb 13.....	131
9.3.14 Tabelle A 14: Betrieb 14.....	132
9.3.15 Tabelle A 15: Betrieb 15.....	133
9.4 Ergebnisse des Friedrich-Loeffler-Institutes; Diagnostik (tabellarisch).....	134
Tabelle A 16: Ergebnisse der Untersuchungen mittels PCR, mittels PCR, CHEKIT®- <i>Chlamydia</i> ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) und Kultur (1 = positiv; 0 = negativ). Dargestellt werden die Untersuchungsergebnisse für den jeweiligen Betrieb, die Altersgruppen sowie Indextiere.....	134
9.5 Ergebnisse der ELISA-Untersuchungen in den Tiergruppen	145
Tabelle A 17: Kreuztabelle – Nachweise chlamydienspezifischer Antikörper in gepaarten Seren mittels CHEKIT®- <i>Chlamydia</i> ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) getrennt nach Betrieben (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40	143
Tabelle A 18: Kreuztabelle – Nachweise chlamydienspezifischer Antikörper in gepaarten Seren mittels CHEKIT®- <i>Chlamydia</i> ELISA der Firma DR.	

BOMMELI AG, Bern (Schweiz) für die jeweiligen Altersgruppen und für die Indextiere (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40	145
9.6 Signifikanzberechnungen	148
Tabelle A 19: Signifikanzberechnung positiver und negativer Ergebnisse im Chi-Quadrat-Test von McNemar der ELISA-Tests 1 und 2	146
Tabelle A 20: Signifikanzberechnung zusammengefasster fraglicher und positiver Ergebnisse, verglichen mit negativen Ergebnissen (ohne Kontinuitätskorrektur) im Chi-Quadrat-Test von McNemar der ELISA-Tests 1 und 2	146
Tabelle A 21: Signifikanzberechnung fraglicher und negativer Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) im Chi-Quadrat-Test von McNemar der ELISA-Tests 1 und 2	146
Tabelle A 22: Signifikanzberechnung fraglicher und positiver Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) im Chi-Quadrat-Test von McNemar der ELISA-Tests 1 und 2	147
Tabelle A 23: Signifikanzberechnung positiver und negativer Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) zwischen ELISA 1 und 2 bei Kälbern	147
Tabelle A 24: Signifikanzberechnung fraglicher, positiver und negativer Ergebnisse (Kontinuitätskorrektur) zwischen ELISA 1 und 2 bei Jungrindern ...	147
Tabelle A 25: Signifikanzberechnung positiver und negativer Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) zwischen ELISA 1 und 2 bei älteren Kühen .	147
Tabelle A 27: Signifikanzberechnungen in den Altersgruppen: „ELISA-positiv /PCR-negativ“ vs. „ELISA-negativ /PCR-positiv“	148
Tabelle A 28: Signifikanzberechnungen in den Altersgruppen: „ELISA/PCR-negativ“ vs. „ELISA/PCR-positiv“	148
Tabelle A 29: Signifikanzberechnungen der verschiedenen Ergebniskombinationen in den Altersgruppen verglichen mit den Indextieren	148
9.7 Milchleistungs- und Betriebsdaten	151
Tabelle A 30: Milchleistungsdaten dargestellt für die einzelnen Betriebe	149
Tabelle A 31: Vergleich der erhobenen Betriebsdaten aus der eigenen Untersuchung mit Daten aus der Studie von KEMMERLING et al. (2009); Einteilung in PCR-negative und PCR-positive Betriebe	150

VERWENDETE ABBILDUNGEN UND FORMELN

- Abbildung 1: Entwicklungszyklus der Chlamydien; modifiziert nach Sachse und Grossmann, 2002.....3
- Abbildung 2: Lage der beprobten Betriebe in Nordrhein-Westfalen.....30
- Abbildung 3: Darstellung des Anteils PCR-positiver Untersuchungsergebnisse in Tupferproben und Milchproben von Probanden verschiedener Altersgruppen sowie für die Indextiere49
- Abbildung 4: Darstellung des Anteils PCR-positiver Untersuchungsergebnisse in Tupfer- und Milchproben von Indextieren verschiedener Altersgruppen.....50
- Abbildung 5: Nachweis chlamydienpezifischer Antikörper im Serum von Probanden aus 15 Betrieben. Dargestellt werden die Untersuchungsergebnisse des CHEKIT©-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) zu den zwei Entnahmezeitpunkten mithilfe gestapelter Säulen. Anzahl positiver Tiere (graue Säulen (1. Probennahme)) und dunkelgraue Säulen (2. Probennahme) sowie fraglich getesteter (weiß) Tiere.....55
- Abbildung 6: Nachweis chlamydienpezifischer Antikörper bei den Probanden in Abhängigkeit vom Alter. Dargestellt wird der Anteil negativer, fraglicher und positiver Ergebnisse im CHEKIT©-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) anlässlich zweier Blutprobenentnahmen (ELISA 1, ELISA 2).....56
- Abbildung 7: Anteile negativer, positiver und fraglicher Ergebnisse mittels CHEKIT©-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) bei den Indextieren im Vergleich zu den übrigen Probanden (Mittelwert) anlässlich zweier Blutprobenentnahmen (ELISA 1, ELISA 2)56
- Abbildung 8: Anteil Probanden innerhalb der verschiedenen Altersgruppen, deren Untersuchungsergebnisse im Antikörper-ELISA und der PCR die Kombination „ELISA-negativ und PCR-positiv“ bzw. „ELISA-positiv und PCR-negativ“ aufweisen59

Abbildung 9: Anteil Probanden innerhalb der verschiedenen Altersgruppen, deren Untersuchungsergebnisse im Antikörper-ELISA und der PCR die Kombination „ELISA-negativ und PCR-negativ“ bzw. „ELISA-positiv und PCR-positiv“ aufweisen.....60

Abbildung 10: Vergleich der Untersuchungsergebnisse der PCR und des Antikörper ELISA in der Gruppe der Indextiere mit denen der übrigen Probanden. Dargestellt ist der Anteil der Tiere deren Untersuchungsergebnisse im Antikörper-ELISA und der PCR die folgenden Kombinationen aufweisen: „ELISA-negativ und PCR-negativ“, „ELISA-positiv und PCR-positiv“, ELISA positiv und PCR negativ“, „ELISA negativ und ELISA positiv“60

Formel 1: Bestimmung des Probenwertes des CHEKIT©-Chlamydia ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz)42

Formel 2: Chi-Quadrat-Test44

Formel 3: Chi-Quadrat-Test mit Kontinuitätskorrektur44

Formel 4: Chi-Quadrat-Test nach McNemar44

Formel 5: Fishers Exact-Test45

Formel 6: Risk Ratio45

Formel 7: Odds Ratio45

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

bFGF	basischer Fibroblastenwachstumsfaktor
BGM	Buffalo-Green-Monkey (Nierenzelllinie einer grünen Meerkatze)
bzw.	beziehungsweise
BHV 1	Bovines Herpesvirus 1
BVD/MD	Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease
C.	<i>Chlamydia</i>
Cp.	<i>Chlamydophila</i>
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease (chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EBE	Einschlussbildende Einheit
EK	Elementarkörperchen
ELISA	Enzym Linked ImmunoSorbent Assay
Fg	Freiheitsgrad
FLI	Friedrich-Loeffler-Institut
fragl.	fraglich
GVE	Großvieheinheit
HAH	Hämagglutinationshemmungstest
HeLa	Permanente Zelllinie aus humanen Epithelzellen eines Zervixkarzinoms (benannt nach Henrietta Lacks)
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IDO	Indolamin 2,3-Dioxygenase
k. A.	Keine Angabe
KBR	Komplementbindungsreaktion
Konjunkt.	Konjunktiva
Lakt.	Laktation
LCR	Ligase-Kettenreaktion
LPS	Lipopolysaccharid
MOMP	Major Outer Membrane Protein

MW	Mittelwert
n	Stichprobenumfang
n. b.	nicht bekannt
neg.	negativ
n. u.	nicht untersucht
nicht vorh.	nicht vorhanden
OD	Optische Dichte
OIE	Weltorganisation für Tiergesundheit (Office Internationale des Epizooties)
OMP1	Outer Membrane Protein 1
OR	Odds Ratio
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
pos.	positiv
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RK	Retikularkörperchen
RR	Risk Ratio
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
sog.	sogenannt
SD	Standardabweichung
TGD NRW	Tiergesundheitsdienst Nordrhein-Westfalen
TMR	Totale Mischration
vs.	versus.
WHO	World Health Organisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier spielen – trotz umfangreicher Anstrengungen der Wissenschaft bezüglich Prävention und Therapie – immer noch eine große Rolle in der Human- und Veterinärmedizin. Eine Erregerübertragung ist dabei nicht nur von Mensch zu Mensch oder von Tier zu Tier, sondern auch von Tier zu Mensch und umgekehrt möglich. Von den zuletzt genannten Erkrankungen, den so genannten Zoonosen, sind nach Angaben der WHO über 200 bekannt. Zoonosen rücken immer mehr in den Fokus der Öffentlichkeit wie am Beispiel der so genannten „Schweinegrippe“ deutlich wird. Dieses hat dazu geführt, dass politische Entscheidungsträger einen hohen Beratungsbedarf signalisieren und sich von Fachleuten beraten lassen, die auf dem Gebiet der Epidemiologie von Erkrankungen mit zoonotischem Potenzial tätig sind. Gesundheitspolitisch sind international und national abgestimmte Handlungskonzepte und Maßnahmenkataloge gefordert, die sowohl im öffentlichen Gesundheitswesen als auch im gesundheitlichen Verbraucherschutz bei der Bekämpfung von Tierseuchen und entlang der Lebensmittelkette zum Einsatz kommen.

Die Psittakose und Ornithose, verursacht durch *Chlamydophila psittaci*, werden bereits seit den 1930er-Jahren in Deutschland staatlich bekämpft, nachdem der Zusammenhang zwischen zum Teil schweren respiratorischen Erkrankungen beim Menschen und dem Kontakt zu Papageien und Geflügel erkannt wurde. Als weiterer Zoonosenerreger stellt *Chlamydophila abortus*, Erreger des enzootischen Schaf- und Ziegenabortes, für schwangere Frauen ein Risiko dar. *Chlamydia trachomatis* wird von Mensch zu Mensch als venerische Erkrankung übertragen. *Chlamydophila pneumoniae* ist in den letzten fünfzehn Jahren in den Fokus des Interesses sowohl von Veterinärmedizinern als auch Humanmedizinern gerückt, da dieser Erreger in Zusammenhang mit der Pathogenese chronischer Erkrankungen der Lunge und des Herzens (koronare Herzkrankheit) beim Menschen gebracht wird.

Beim Rind wird die Chlamydiose als infektiöse Faktorenkrankheit angesehen. Die Risikofaktoren, die zum Zustandekommen der Erkrankung beitragen, sind noch weitgehend unbekannt. Infektionen mit Chlamydien beim Rind kommen hauptsächlich in Betrieben mit Milchkühen vor und werden vor allem mit Aborten und Fruchtbarkeitsstörungen in Zusammenhang gebracht. Darüber hinaus manifestieren sich Chlamydieninfektionen in den folgenden Organsystemen: Magen-Darmtrakt, ZNS einschließlich Sinnesorgane, Lunge, Gelenke, Harnwege und Herz.

Aufgrund von ungeklärten Tiergesundheitsproblemen, die auf Rinder haltenden Betrieben im Einzugsgebiet des Tiergesundheitsdienstes der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalens seit 1991 auftraten und welche in Zusammenhang mit

Chlamydieninfektionen gebracht wurden, stellte das Land Nordrhein-Westfalen im Jahr 2004 im Rahmen des „Sonderprogramms Verbraucherschutz“ Mittel zur Klärung des Zusammenhanges zwischen Gesundheitsproblemen bei Tier und Mensch in den oben genannten Betrieben zur Verfügung. Die Erhebung der Daten sowie die Probenentnahme und -untersuchung wurden im Zeitraum von September 2004 bis Dezember 2005 durchgeführt. Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine re-trospektive Analyse der im Rahmen dieser Studie generierten Daten.

Im Rahmen des Projektes sollten folgende Fragestellungen bearbeitet werden:

- Lassen sich in Probenmaterial von Tieren, die aus Problembetrieben stammen, Chlamydien mittels PCR nachweisen?
- Weisen Sera von den Probanden aus den Problembetrieben gegen Chlamydien gerichtete Antikörper auf oder kommt es im Beobachtungszeitraum zu einer Serokonversion?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen den Untersuchungsergebnissen und dem Alter der Probanden?
- Lassen sich bei so genannten Indextieren, das sind Tiere, die Symptome aufweisen, welche in der Literatur in Zusammenhang mit Chlamydieninfektionen beschrieben werden, Infektionen mit Chlamydien nachweisen?

Ein Teilaspekt des Projektes widmet sich der Frage nach dem Bezug zwischen Chlamydieninfektionen beim Tier und Gesundheitsproblemen bei Landwirten aus den an der Studie teilnehmenden Betrieben.

Bemerkung: Die Taxonomie der Familie und Gattung *Chlamydiaceae* bzw. *Chlamydophila* und *Chlamydia* nach EVERETT, BUSH und ANDERSEN aus dem Jahr 1999 (EVERETT et al., 1999a) wurde im Jahr 2011, nach Fertigstellung der Dissertationsschrift, überarbeitet (GREUB, 2010). In der vorliegenden Arbeit wird noch die Nomenklatur nach EVERETT, BUSH und ANDERSEN aus dem Jahr 1999 (EVERETT et al., 1999a) angewendet.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Charakteristiken des Erregers

Chlamydien sind obligat intrazelluläre Bakterien mit einer Zellwand, die kein Peptidoglycan enthält. Sie sind durch ihren charakteristischen Entwicklungszyklus hochgradig angepasst. Man unterscheidet zwei Erscheinungsformen:

1) Die kleinen Elementarkörperchen (EK; 0,2-0,6 µm Durchmesser): Diese kommen extrazellulär vor, sind infektiös, aber metabolisch inaktiv.

2) Die größeren Retikularkörperchen (RK; bis zu 1,5 µm Durchmesser): Diese befinden sich in zytoplasmatischen Einschlüssen (Einschlusskörperchen), vermehren sich dort und sind metabolisch aktiv. Die Hülle besteht aus einer äußeren und inneren Membran. Auf der Außenmembran ist das charakteristische Lipopolysaccharid mit dem chlamydienspezifischen Epitop enthalten (SACHSE und GROSSMANN, 2002).

Der Entwicklungszyklus beginnt, wenn die EK von einer Zelle aufgenommen werden (Endocytose); sie vergrößern sich auf einen Durchmesser von 0,6 bis 1,5 µm und wandeln sich um in die intrazelluläre metabolisch aktive Form, die Retikularkörperchen. Dieser Zyklus (Abbildung 1) ist unter den Bakterien einzigartig und dauert, abhängig von der Chlamydienart, 2 bis 3 Tage.

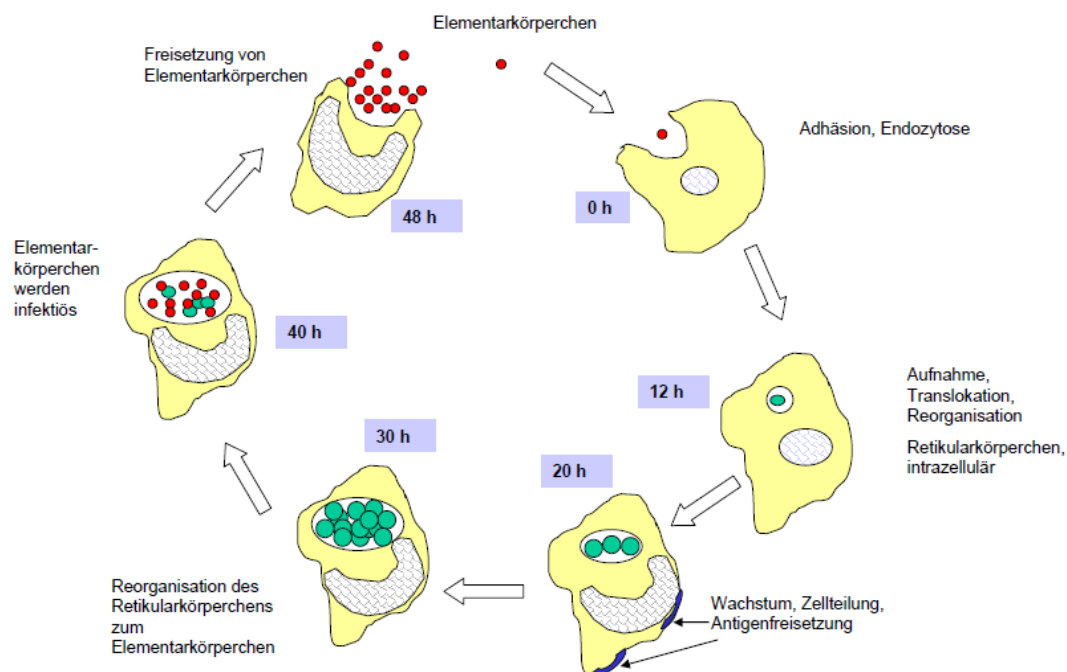


Abbildung 1: Entwicklungszyklus der Chlamydien; modifiziert nach Sachse und Grossmann, 2002

Daneben sind im Rahmen von *in vitro* Studien intrazelluläre Formen mit nur geringer metabolischer Aktivität entdeckt worden, von denen angenommen wird, dass sie zur Persistenz einer Infektion beitragen können (GOELLNER et al., 2006). Als Auslöser für den Übergang in ein Persistenzstadium gelten intrazelluläre Milieuveränderungen, wie Mangel an Nährstoffen, z. B. spezieller Aminosäuren, Eisen und die Gabe von Antibiotika oder der Einfluss von Zytokinen (Interferon- γ , TNF- α). Eine kulturelle Anzucht der persistenten Chlamydienformen ist (bislang) nicht möglich (GERBERMANN, 1991; BEATTY et al., 1994).

Alle Chlamydien besitzen ein gruppenspezifisches komplementbindendes Antigen. Die einzelnen Spezies lassen sich über spezies- und serotypspezifische Antigene mithilfe von Immunofluoreszenztests differenzieren. Seit Mitte der neunziger Jahre hat die PCR zu einer Vereinfachung und Verbesserung der Diagnostik beigetragen. Bei der näheren Differenzierung spielen Proteine der äußeren Membran (OMP) der EK eine besondere Rolle. Dieses besitzt an seinem n-terminalen Ende das Protein pmp D, durch das verschiedene Rezeptoren der Wirtszelle erkannt werden; die Adhäsion der EK wird auf diese Weise vermittelt und kann durch Lektine wie α -D-Mannose oder N-Acetyl-D-Glucosamin gehemmt werden (STRAUBE und RÖDEL, 2000).

In vitro wird die Zeit für den Vermehrungszyklus von *Chlamydia trachomatis* mit 36 bis 48 Stunden, von *Chlamydia pneumoniae* mit bis zu 72 Stunden angegeben. STRAUBE und RÖDEL (2000) postulierten jedoch, dass diese Angaben nur für spezifische Zellkulturen, in denen sich Chlamydien ungehindert vermehren können, zutreffen. Im Organismus scheint der Vermehrungszyklus deutlich verlängert zu sein. Dies kann daran liegen, dass Wirtszellen Interferon- β produzieren und damit eine Teilungshemmung der Retikularkörperchen in der Zelle hervorrufen. Die Retikularkörperchen nehmen dabei ein Vielfaches ihrer normalen Größe an und sind möglicherweise metabolisch weniger aktiv. Der gleiche Effekt lässt sich auch durch Zugabe von Interferon zur Kultur erzielen.

Zellen mit aktiver Chlamydieninfektion steigern die Expression von Wachstumsfaktoren, wie des basischen Fibroblastenwachstumsfaktors (bFGF) oder des Zytokins Interleukin-6. Dies könnte zur Proliferation von Zellen infizierter Gewebe führen (STRAUBE und RÖDEL, 2000).

2.2 Taxonomie

In der Vergangenheit wurden aufgrund von Schwierigkeiten bei der Differenzierung der Gattung *Chlamydia psittaci* viele verschiedene Sero- und Biotypen zugeordnet. Aus älteren Publikationen geht deshalb im Nachhinein nicht eindeutig hervor, um welchen Subtypus es sich handelt.

Im Jahr 1999 veröffentlichten EVERETT, BUSH und ANDERSEN (1999a) den Vorschlag zur Neuordnung der *Chlamydiales* aufgrund wissenschaftlicher Erkenntnisse über die 16S rRNA. Es wurden alle Erreger mit über 90-prozentiger Übereinstimmung in der 16S rRNA in der Gruppe *Chlamydiaceae* zusammengefasst. Chlamydienähnliche Organismen mit einer Übereinstimmung der 16S rRNA von 80-90 % wurden neuen Familien zugeordnet (siehe Tabelle 1). Zuvor wurde die Ordnung *Chlamydiales* von SKERMAN et al. (1980) in eine Familie, die *Chlamydiaceae*, bestehend aus den Arten *Chlamydia trachomatis* und *Chlamydia psittaci*, eingeteilt. *Chlamydia psittaci* umfasste dabei eine große Anzahl von verschiedenen Sero- und Biotypen. Mit Hilfe der indirekten Mikroimmunfluoreszenz-Methode ließen sich den verschiedenen Säugetierbiotypen neun Serotypen zuzuordnen. Beim Rind waren nach dieser Klassifikationsmethode nur die Serotypen I und II von epidemiologischer und klinischer Bedeutung (GERBERMANN, 1991).

1993 ergänzte HERRING die *Chlamydiaceae* um die zwei zusätzlichen Arten *Chlamydia pneumoniae* und *Chlamydia pecorum*. Aufgrund der verbesserten Klassifikationsmöglichkeiten, die auf DNA-Analyse basierten, wurden seit Ende der achtziger Jahre immer mehr Chlamydienformen bekannt, die der gängigen Klassifikation nicht zugeordnet werden konnten. Ab Mitte der neunziger Jahre nahmen die PCR-Techniken, die ohne Anzucht des Erregers in der Zellkultur auskommen sowie die Möglichkeiten zur DNA-Sequenzierung weiter zu, sodass ein neues Verständnis für die Ordnung *Chlamydiales* entstand.

Tabelle 1: Übersicht über die Zuordnung verschiedener Chlamydien nach alter und neuer Lesart sowie deren Wirte und der durch verschiedene Chlamydien verursachten Erkrankungen (modifiziert nach SACHSE und GROßMANN, 2002)

Familie	Gattung	Art	Spezies	Alte Nomenklatur	Wirt	Erkrankung oder betroffenes Organsystem	Literaturquelle
I Chlamydiaceae							
	<i>Chlamydia</i>	<i>muridarum</i>	sp.	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Maus, Hamster	Ileitis, Pneumonie, Infektionen des Genitaltraktes	EVERETT et al. (1999a)
	<i>Chlamydia</i>	<i>suis</i>	sp.	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Schwein	Konjunktivitis, Pneumonie, Magen-Darm- und Genitaltrakt	SACHSE und GROßMANN (2002)
	<i>Chlamydia</i>	<i>trachomatis</i>		<i>Chlamydia trachomatis</i>	Mensch	Trachom, sexuell übertragbare Erkrankungen, Arthritis, Konjunktivitis, Pneumonie	STRAUBE et al. (2005)
			<i>Biovar trachoma</i>		Mensch		
			<i>Biovar Lymphogranuloma venereum (LGV)</i>		Mensch		
	<i>Chlamydophila</i>	<i>pecorum</i>	comb.	<i>Chlamydia pecorum</i>	Säugetiere	Bei Koalas: Geschlechtskrankheiten, Erkrankungen des Harnapparats, andere Säugetiere: Aborte, Konjunktivitis, Enzephalomyelitis, Enteritis, Pneumonie, Polyarthritis	SACHSE und GROßMANN (2002), STORZ und KALTENBÖCK (1993)
	<i>Chlamydophila</i>	<i>psittaci</i>	comb.	<i>Chlamydia psittaci</i>	Wildvögel, Nutzgeflügel, Rind, Mensch	Ornithose – Psittakose, Pneumonie, Aborte	SACHSE und GROßMANN (2002)
	<i>Chlamydophila</i>	<i>abortus</i>	sp.	<i>Chlamydia psittaci</i>	Wiederkäuer; Pferd, Kaninchen, Meerschweinchen, Maus, Schwein, Mensch	Gynäkologische Erkrankungen, Aborte, lebensschwache Jungtiere	SACHSE und GROßMANN (2002); REINHOLD und SACHSE (2004)

Familie	Gattung	Art	Spezies	Alte Nomenklatur	Wirt	Erkrankung oder betroffenes Organsystem	Literaturquelle
	<i>Chlamydohila</i>	<i>felis</i>	sp.	<i>Chlamydia psittaci</i>	Katze, Mensch	Konjunktivitis, Rhinitis	WERTH (1989)
	<i>Chlamydophila</i>	<i>caviae</i>	sp.	<i>Chlamydia psittaci</i>	Meerschweinchen	Konjunktivitis, Genitaltrakt	EVERETT et al. (1999a)
	<i>Chlamydohila</i>	<i>pneumoniae</i>	comb.	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Mensch	Respirationstrakt, chronische Bronchitis, Pneumonie	HIGUCHI et al., 2006; GERARD et al., 2006
			<i>Biovar TWAR</i>		Mensch	Respirationstrakt	EVERETT et al. (1999a)
			<i>Biovar Koala</i>		Koala	Respirationstrakt	EVERETT et al. (1999a)
			<i>Biovar Equine</i>		Pferd	Respirationstrakt	EVERETT et al. (1999a)
II Simkaniaceae							
	<i>Simkania</i>	<i>negvensis</i>	sp.		Mensch		EVERETT et al. (1999a)
III Parachlamydiaceae							
	<i>Parachlamydia</i>	<i>acanthamoebae</i>	sp.		Amöben	Erkrankungen beim Menschen (humidifier fever = Hall's coccus)	EVERETT et al. (1999a)
IV	<i>WSU 86-1044</i>						EVERETT et al. (1999a)

2.3 Diagnostische Verfahren

Zum Nachweis von Chlamydien, Chlamydienantigenen oder Chlamydienantikörpern werden direkte und indirekte Verfahren eingesetzt. Bei den direkten Verfahren werden Teile des Erregers oder der Erreger selbst nachgewiesen. Indirekte Verfahren dienen dem Nachweis von gegen Chlamydien gerichteten Antikörpern. Mitte der neunziger Jahre gelang die Etablierung von Nukleinsäure-Amplifikationstests. Solche Testverfahren können jedoch den direkten Nachweisverfahren nicht eindeutig zugeordnet werden, da nicht das gesamte Antigen, sondern DNA oder RNA nachgewiesen werden. Damit ist eine Aussage zur Vitalität und Infektiosität des Erregers nicht möglich.

In den nachfolgenden Abschnitten werden die Verfahren zum Nachweis von Chlamydien oder gegen Chlamydien gerichteten Antikörpern entsprechend der Einteilung von SACHSE und GROSSMANN (2002) aufgeführt.

2.3.1 Direkter Nachweis

Als direkte Nachweisverfahren gelten folgende drei Testverfahren:

- der kulturelle Nachweis,
- der histochemische Nachweis und
- der Antigennachweis.

Der kulturelle Nachweis unter Verwendung der Zelllinien BGM, McCoy, HeLa und im bebrüteten Hühnerei gelten als „Goldstandard“, jedoch lassen sich nicht alle Chlamydienarten problemlos auf Zelllinien anzüchten. Für die Prüfung der Lebensfähigkeit der Chlamydien sind diese Methoden die einzige Möglichkeit zur Charakterisierung des Stammes. Der diagnostische (Material- und Zeit-) Aufwand für den Nachweis von Chlamydien ist sehr hoch (WITTENBRINK, 1991). Aus stark kontaminiertem Material (z. B. Abortmaterial) ist die Erregerisolierung nicht möglich, weshalb die Einsatzmöglichkeiten dieses Verfahrens in der Routinediagnostik begrenzt sind (POPOVICI et al., 1972).

Der histochemische Nachweis erfolgt mittels Direktnachweis chlamydialer Einschlüsse, z. B. durch Anwendung der Gimenez-Färbung (nur bei hoher Antigendichte) sowie mittels Immunfluoreszenzuntersuchung.

Für den Antigennachweis stehen verschiedene Antigen-ELISA zum Nachweis der Gattung *Chlamydia* über deren LPS-Antigen zur Verfügung. Obwohl der ELISA schnell und einfach durchzuführen ist, hat die Methode ihre Grenzen, denn sie erlaubt nicht die Identifikation der Spezies (SACHSE et al., 2003) Darüber hinaus liegt die Nachweisgrenze des Testsystems zwischen 10^3 und 10^7 Einschlusskörperchen. Diese Grenze wird vor allem im Falle von Probenmaterial von asymptomatischen Trägern meist nicht erreicht. Die Methode hat sich als weniger sensitiv im Vergleich zur Zellkultur und zum Immunfluoreszenztest erwiesen (SACHSE und GROSSMANN, 2002).

2.3.2 Indirekter Nachweis

Als indirekte Nachweisverfahren gelten

- der Antikörper-ELISA,
- die KBR,
- der indirekte Immunfluoreszenztest und
- der speziesspezifische Mikroimmunfluoreszenztest aus der Humanmedizin.

Die KBR galt lange als Goldstandard für den Antikörpernachweis, wurde jedoch inzwischen durch den Antikörper-ELISA abgelöst. Der ELISA beruht auf einer Bindung von Antikörpern aus der Patientenprobe an festphasenfixiertes Antigen. Um die Reaktion sichtbar zu machen, werden mit alkalischer Phosphatase markierte Antikörper eingesetzt, welche nach Zufügen von Substrat (z.B. Para-Nitrophenylphosphat) über eine Gelbfärbung die Bindung des Antikörpers anzeigen. Die Intensität der Färbung wird photometrisch bestimmt. Sie entspricht dem Gehalt an spezifischen Antikörpern in der Probe. Im Vergleich zum Antigen-ELISA erwies sich die KBR beim Schwein als weniger sensitiv und spezifisch (HENNING et al., 2005). Sowohl ELISA-Testkits als auch die KBR verwenden das für die Gattungen *Chlamydia* und *Chlamydophila* spezifische Lipopolysaccharid als Antigen. Bei Wiederkäuern kann die Interpretation der ELISA-Ergebnisse aufgrund der Infektion mit *Cp. abortus* und *Cp. pecorum* und damit auftretenden Kreuzreaktionen erschwert sein (VRETOU et al., 2007; WILSON et al., 2009).

2.3.3 Nukleinsäure-Amplifikationstests

Den Nukleinsäure-Amplifikationstests werden folgende Testverfahren zugeordnet:

- Polymerase-Kettenreaktion (PCR),
- Ligase-Kettenreaktion (LCR),
- Real-Time-PCR mit quantitativer Bestimmung der im Material enthaltenen Chlamydien,
- Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP) für die Differenzierung von angezüchteten Isolaten und
- DNA-Microarray.

HELMUTH und SACHSE beschrieben im Jahr 2000 die Vorteile der Analytik mittels PCR. Sie stellten heraus, dass die PCR schneller und sensitiver als andere Nachweismethoden sei sowie für die quantitative Analyse gut geeignet. Die Ansprüche an den Transport und die Lagerung des Probenmaterials sind geringer als bei anderen Nachweismethoden. Als nachteilig hat sich die Tatsache erwiesen, dass mittels Real-Time-PCR keine Unterscheidung zwischen Spezies und Stämmen vorgenommen werden kann (SACHSE et al., 2009). Dagegen hat sich die DNA-Microarraytechnik als ein geeignetes Nachweis- und Differenzierungsverfahren für alle neun Arten der Gattungen *Chlamydia* und *Chlamydophila* erwiesen (BOREL et al., 2008).

Festzuhalten bleibt, dass die Sensitivität der anderen Verfahren gegenüber der PCR deutlich geringer ist. Es gibt zurzeit kein Verfahren, welches die PCR auf un-

abhängige Weise bestätigen kann. SACHSE et al. (2009) schlagen vor, die Zellkultur als Goldstandard aufgrund ihrer niedrigen Sensitivität durch die Kombinationsdiagnostik von Real-Time-PCR und DNA-Microarraytest zu ersetzen.

2.4 Chlamydiosen der Tiere

Aufgrund der unterschiedlichen Taxonomie in der Vergangenheit und der Gegenwart kann es vor allem im Zusammenhang mit älteren Publikationen zu Missverständnissen kommen. Wird im Zusammenhang mit älteren Publikationen auf *Chlamydia psittaci* verwiesen, handelt es sich im Kontext mit Rindererkrankungen nach der aktuellen Taxonomie um *Chlamydophila psittaci* oder *abortus*. Im Nachhinein lassen sich nicht alle Literaturangaben sicher zuordnen. Die Nomenklatur nach EVERETT et al. (2000) wird immer dann angewendet, wenn zitierte Autorinnen und Autoren diese bereits nutzten. Angehörige der Familie *Chlamydiaceae* werden dabei gemeinhin als „Chlamydien“ bezeichnet.

2.4.1 Chlamydieninfektionen beim Rind

2.4.1.1 Symptomatik

WITTENBRINK et al. (1988) wiesen Chlamydien bei Rindern eine pathogene Bedeutung zu, weil sie

- vor allem im Genitaltrakt von Tieren mit Fruchtbarkeitsstörungen nachgewiesen wurden,
- auch im Zusammenhang mit Genitalerkrankungen bei Bullen isoliert werden konnten und
- bei Infektionsversuchen weiblicher Rinder zu Umrindern, Vaginitis, Endometritis und Aborten geführt haben.

Gleichzeitig wurde die Frage aufgeworfen, ob eine Chlamydieninfektion systemisch und klinisch inapparent auftreten kann.

In Großbritannien wurde die durch Chlamydien verursachte Symptomatik in Milchviehbetrieben folgendermaßen beschrieben (DANIEL et al., 1993; HOLLIMAN et al., 1994): In den betroffenen Betrieben wurden gehäuft Fälle von perinatalem Tod bei Kälbern registriert. Überlebende Kälber wurden als lethargisch beschrieben. Innerhalb eines Zeitraums von drei Jahren vor Studienbeginn traten hohe Abortraten (10-15 %) in der Herde auf. Regelmäßig wurden plötzliche Milchrückgänge beobachtet sowie Fieberschübe ohne Nachweis einer eindeutigen Ursache, ebenso wie Abmagerung und respiratorische Symptome, z. B. muköser Nasenausfluss. Eine Behandlung mit Tetrazyklinen erwies sich als unwirksam. Rezidive wurden regelmäßig beobachtet. Der Einsatz von Erythromycin verhinderte Rezidive und führte zu einer Verkürzung der Dauer der klinischen Erkrankung.

Tabelle 2 enthält eine Übersicht über die in der Literatur beschriebenen und durch *Chlamydophila psittaci*, *pecorum* oder *abortus* verursachten Erkrankungen beim Rind, deren Symptomatik und die beteiligten Organsysteme.

Tabelle 2: Chlamydienbedingte Erkrankungen beim Rind. Übersicht über die beteiligten Organsysteme sowie die beobachtete Symptomatik

Organ	Erkrankung	Symptome	Literaturquelle
Respirationstrakt	<ul style="list-style-type: none"> Bronchopneumonie 	Husten, Dyspnoe, muköser Nasenausfluss, Fieber	WHITE (1965), SHEWEN (1980)
Intestinaltrakt	<ul style="list-style-type: none"> Enteritis 	Diarrhoe	EUGSTER und STORZ (1971), SHEWEN (1980)
Urogenitaltrakt	<ul style="list-style-type: none"> Epididymitis Genitalkatarrh Chronisch-eitrige Endometritis Vestibulovaginitis Fertilitäts- und Reproduktionsstörung 	Umrindern, Nachgeburtsverhalten, Abort	STORZ et al. (1968), BOWEN et al. (1978), WITTENBRINK et al. (1988), WITTENBRINK et al. (1993a), HOLLIMAN et al. (1994)
Bewegungsapparat	<ul style="list-style-type: none"> Polyarthritits (bes. bei Kälbern, analog zur Stiff Lamb Disease) Serositis 	Lahmheiten, Fieber	EUGSTER und STORZ (1971), WEHR und BEER (1987)
Gehirn	<ul style="list-style-type: none"> Sporadische bovine Enzephalomyelitis 	ZNS-Symptomatik	SHEWEN (1980), WEHR und BEER (1987)
Auge	<ul style="list-style-type: none"> Keratokonjunktivitis 	Augenausfluss	SHEWEN (1980), WEHR und BEER (1987)
Euter	<ul style="list-style-type: none"> Mastitis 	Fieber, Euterschwellung, gelbbräunliche Verfärbung der Milch mit weißen Flocken, plötzlicher Milchleistungsrückgang	WEHR und BEER (1987)

2.4.1.2 Epidemiologische Aspekte weltweit

Da Chlamydien insbesondere aus Probenmaterial vom Rind sehr schwer anzüchtbar sind, muss davon ausgegangen werden, dass nicht alle Proben, die Chlamydien enthalten, in der Kultur ein positives Ergebnis erbringen. Die Sensitivität dieses Testverfahrens ist mit 60 bis 80 % im Vergleich zur PCR niedrig (NEWHALL et al., 1999). Beim Vergleich von Prävalenzen, die auf einem Antikörper-ELISA beruhen, muss berücksichtigt werden, dass der Antikörper - ELISA eine geringe Spezifität aufweist, wenn kein speziesspezifisches Antigen eingesetzt wird (SACHSE et al., 2004).

Tabelle 3 enthält eine Übersicht über die Ergebnisse internationaler Prävalenzstudien auf Betriebs- und auf Einzeltierbasis. Die Tabelle ist thematisch sortiert; zunächst stehen die Ergebnisse der Prävalenzstudien auf Chlamydienantigen im Fokus, weiter unten wird die Seroprävalenz dargestellt. Die Prävalenz von Einzeltieren berechnet sich aus dem Anteil der Tiere mit positivem Testergebnis in der gesamten Stichprobe, auch aus verschiedenen Herden. Die Herdenprävalenz ergibt sich aus dem Anteil der Herden mit positiven Testergebnissen.

Tabelle 3: Chlamydiennachweise beim Rind in Deutschland und im Ausland (Literaturangaben); Ergebnisse serologischer und kultureller Nachweisverfahren sowie Nachweise mittels PCR in Probenmaterial verschiedener Herkunft.

Land	Probenmaterial	Prävalenz Einzeltiere	Prävalenz Herden	Literaturquelle
Deutschland (Nordrhein-Westfalen)	Vaginaltupfer von Milchkühen	PCR: 13,5 %	PCR: 61 %	KEMMERLING et al. (2009)
Deutschland (Nordrhein-Westfalen)	Konjunktival-Vaginaltupfer, Milchproben	PCR: Kühe in einem Betrieb: 49 %		BIESENKAMP-UHE et al. (2007)
Deutschland (Niedersachsen)	Kotproben	Kultur: 22,1 %		WITTENBRINK et al. (1993 b)
Deutschland	6 Besamungsstationen: Spermaproben, Präputialspülproben, Kotproben sowie Serum von Bullen	PCR: Sperma 9 %, in Präputialspülproben 11 %, Kot 18 %. AK-ELISA: 51 % Die PCR-Ergebnisse weisen keine Korrelation mit Ergebnissen in der Serologie auf	PCR: 100 %	KAUFFOLD et al. (2007)
USA (Alabama)	Vaginaltupfer, Blut- und Milchproben	PCR: Kälber 61 % und Kühe 20 %		JEE et al. (2004)
Schweiz	Sperma und Serum	PCR: 6,6 %, AK-ELISA: 47 %. Keine Korrelation zwischen Ergebnissen der PCR im Sperma und der serologischen Untersuchung		TEANKUM et al. (2007)
Österreich	Vaginal- und Zervixtupferproben; Serum	PCR: 11 %, AK-ELISA: 45 %		PETIT et al. (2008)
Schweden	Vaginaltupferproben, Serum	PCR: 1 %; AK-ELISA 1: 0,4 %; AK-ELISA 2: 28 %	AK-ELISA: 81 %	GODIN et al. (2008)
Taiwan	Vaginaltupfer, Serum	PCR: 38 %, AK-ELISA: 53 %, (davon symptomlose Kühe 51 %; Kühe mit Abort 71 %)	Ak-ELISA: 100 %	WANG et al. (2001)
Skandinavien	Nasentupferproben von Kälbern	Kultur: 0 %	Kultur: Herdenprävalenz 0 %	SPRINGER et al. (1982)

Land	Probenmaterial	Prävalenz Einzeltiere	Prävalenz Herden	Literaturquelle
Dänemark	Kotproben auf <i>C. psittaci</i> in drei Altersgruppen	Kultur: 1) Kälber und Rinder bis zum ersten Lebensjahr: 100 %; 2) Rinder: 60 % und 3) ältere Milchkühe: 0 %		RØNSHOLT (1978)
Deutschland (Bayern)	Serum		AK-ELISA: 75 %	BÖTTCHER et al. (2005)
Deutschland (Nordostdeutschland)	Serum	AK-ELISA : 19,6 %	AK-ELISA : 90 %	ABD EL-RAHIM (2002)
Deutschland (Hessen)	Serum	AK-ELISA: 41,5 %		WEHREND et al. (2005)
Deutschland (Baden-Württemberg)	Serum, Genitaltupfer	Antigen-ELISA: 33 %; KBR: 8 %; AK-ELISA: 40 %	Antigen-ELISA: 73 %; KBR: 45 %; AK-ELISA: 91 %	STING (1997)
Polen	Serum	KBR und ELISA,: 51,5 %; Übereinstimmung KBR und ELISA: 79,5 %		NIEMCZUK (2005)
Italien (Norditalien)	Serum	AK-ELISA: 45 % von Kühen mit Abort vs. 24 % (Kontrollgruppe)		CAVIRANI et al. (2001)
Kroatien	Serum	AK-ELISA: 36 %; KBR: 14 %		VLAHOVIĆ et al. (2001)
Österreich	Serum	AK-ELISA: 8,8 %	AK-ELISA: 22,6 %,	PERNTHANER et al. (1990)
Irland	Serum		AK-ELISA: 6 %; Herden mit respiratorischen Symptomen	BRYSON et al. (1978)
Dänemark	Serum	AK-ELISA: 19 %	AK-ELISA: Prävalenz variiert zwischen 0 und 45 %.	RØNSHOLT (1977)
Finnland	Serum	KBR: 17,2 %		NEUVONEN (1976)
Türkei	Serum	AK-ELISA (gegen <i>Cp. abortus</i>): 8 %	AK-ELISA (gegen <i>Cp. abortus</i>): 27 e%	GOKCE et al. (2007)
Australien	Serum	KBR: 3,1 %		NORTON et al. (1989)
Ägypten	Serum	KBR: 22 %		SCHMATZ et al. (1978)
China	Serum		AK-HAH: 0 bis 70 %, Mittelwert 21,4 %	CHANGQING et al. (2006)

In Österreich, in der Türkei und in Australien wurde bei der Untersuchung von Einzeltieren eine Seroprävalenz von unter 10 % festgestellt (NORTON et al., 1989; PERNTHANER et al., 1990; GOKCE et al., 2007). Dagegen wurde in Finnland, Dänemark und Ägypten ein Anteil zwischen 17% und 24 % von seropositiven Einzeltieren ermittelt (NEUVONEN, 1976; RØNSHOLT, 1977; SCHMATZ et al., 1978). Die Seroprävalenz einer „Fallgruppe“ aus einer norditalienischen Fall-Kontrollstudie lag bei 45 % (CAVIRANI et al., 2001); Serumuntersuchungen von Bullen aus der Schweiz und Deutschland ergaben Prävalenzen von 47 und 51 % (KAUFFOLD et al., 2007; TEANKUM et al., 2007). In Taiwan wurde bei symptomlosen Kühen eine Seroprävalenz von 51 % und bei Kühen mit dokumentiertem Abortgeschehen eine Seroprävalenz von 71 % festgestellt (WANG et al., 2001).

Eine Herdenprävalenz von unter 10 % wird aus Skandinavien (0 %) und Irland (6 %) berichtet (BRYSON et al., 1978; SPRINGER et al., 1982). Die Seroprävalenz in Herden Chinas, Österreichs und der Türkei liegt zwischen 20 und 30 %, gefolgt von Dänemark mit maximal 45 % (RØNSHOLT, 1977; PERNTHANER et al., 1990; CHANGQING et al., 2006; GOKCE et al., 2007).

Die in Deutschland ermittelten Seroprävalenzen in Tiergruppen variierten zwischen 13,5 % in Nordrhein-Westfalen (KEMMERLING et al., 2009), 20 % in Nordostdeutschland (ABD EL-RAHIM, 2002), 40 % in Baden-Württemberg (STING, 1997) und 41,5 % in Hessen (WEHREND et al., 2005). Die berechnete Herdenseroprävalenz in Nordrhein-Westfalen lag bei 61 % (KEMMERLING et al., 2009), in Süddeutschland bei 75 % (BÖTTCHER et al., 2005) und in Norddeutschland bei 90 % (ABD EL-RAHIM, 2002).

Raten von unter 10 % im direkten Antigennachweis (Hühnerei, Zellkulturen) bzw. Nachweis von chlamydienspezifischen DNA-Sequenzen (PCR) wurden aus Dänemark (RØNSHOLT, 1978) und aus Skandinavien (SPRINGER et al., 1982) berichtet. Untersuchungen von Bullensperma aus der Schweiz und aus Deutschland ergaben Nachweisraten bei Untersuchungen mittels PCR von 7 und 9 % (KAUFFOLD et al., 2007; TEANKUM et al., 2007). Bei Angabe von Altersgruppen ergaben sich für Kälber (100 %) und jüngere Rinder (60 %) höhere Nachweisraten als für adulte Tiere (RØNSHOLT, 1978, JEE et al., 2004).

DANNATT et al. beschrieben 1998 die Symptome einer bis dato unbekanntes Erkrankung in fünf Milchviehherden Großbritanniens, wobei auf die Rolle der Chlamydien im Geschehen eingegangen wird. In allen Herden wurden ein plötzlicher Rückgang der Milchleistung, Verschlechterung des Allgemeinzustandes, Anorexie und respiratorische Symptome beobachtet. In einer Herde abortierten die Hälfte aller Kühe und ein Drittel der Färsen im siebten und achten Trächtigkeits-

monat. Bei 90 % der Tiere verbesserte sich der Gesundheitsstatus nach ca. acht Wochen, jedoch konnten die meisten Tiere nicht an die Leistung vor der Erkrankung anknüpfen. Vereinzelt wurde ein Anstieg der Antikörpertiter gegenüber Chlamydien nachgewiesen. Mittels des Antigen-Immunfluoreszenztests, welcher Antikörper von drei verschiedenen Rinderisolaten erkennt, wurden bei sechs Tieren aus zwei Herden Antikörper gegen *C. pecorum* ermittelt; gegen *C. psittaci* bei drei Tieren. Von 171 Blutproben, die aus drei betroffenen Herden stammten, wurden fünf mittels PCR auf *C. psittaci* untersucht und für positiv befunden. In nasopharyngealen Tupferproben gelang in keinem Fall der Nachweis von *C. psittaci*. Aus den Untersuchungsergebnissen wurde geschlussfolgert, dass keine Chlamydien auch nicht *C. psittaci* und *pecorum*, für die respiratorische Symptomatik verantwortlich gemacht werden konnten, da nur wenige Reagenten in den Herden detektiert worden waren.

Im Kanton Graubünden/Schweiz wurden in den Jahren 2002 bis 2004 von RUHL et al. (2009) insgesamt 235 Fälle von Spätaborten bei Rindern auf *Parachlamydiaceae* und *Chlamydiaceae* untersucht. Mittels PCR ergaben sich bei Anwendung des 16S Primers 164 positive Ergebnisse. *Cp. abortus* wurde in drei Fällen nachgewiesen, sodass geschlussfolgert wurde, dass in der Schweiz der Erreger beim Rind im Vergleich zur Situation bei den kleinen Wiederkäuern eine untergeordnete Rolle spielt. Bei 43 der 235 Fälle gelang der kulturelle Nachweis von *Parachlamydiaceae*. Immunohistochemisch wurde das in 35 Fällen und histopathologisch in 25 Fällen bestätigt. In den Plazenten wurden sowohl ausgeprägte eitrige-nekrotisierende Infektionen als auch Vaskulitiden diagnostiziert. Dies führte zu der Schlussfolgerung, dass die PCR-Untersuchung allein nicht ausreichend für die Diagnose des chlamydienbedingten Abortes ist; sie muss durch das Auftreten weiterer morphologischer Befunde abgesichert werden. RUHL et al. (2009) empfehlen aufgrund ihrer Beobachtungen, dass *Parachlamydiaceae* in der Schweiz zukünftig in der Diagnostik als Aborterreger berücksichtigt werden sollten. Beim Umgang mit Abortmaterial vom Rind müssen entsprechende Schutzvorkehrungen getroffen werden, da ein Zusammenhang zwischen beim Rind vorkommenden Chlamydien und Infektionen der unteren Atemwege des Menschen angenommen wird.

2.4.1.3 Epidemiologische Aspekte im Bestand

Infektiöse Einschlusskörperchen werden unter natürlichen Bedingungen hauptsächlich fäkal-oral (SCHACHTER et al., 1975) übertragen, können aber auch aerogen, konjunktival, genital, laktogen oder durch direkten Kontakt übertragen werden.

Bei Untersuchungen von Probenmaterial, welches von Rindern stammte, gelang anhand von Genotypisierung in 46 von 84 Proben der Nachweis von *Cp. psittaci*

(SACHSE und HOTZEL, 2002; SACHSE et al., 2003). PANTCHEV et al. (2009) konnten in einer Nachuntersuchung von Proben mit bereits positivem Chlamydien-ergebnis ermitteln, dass *Cp. abortus* am Häufigsten bei Rindern nachgewiesen werden kann.

In Nordrhein-Westfalen wurden bei 975 Kälbern Nasen- und Konjunktivalabstriche entnommen (HOLLBERG et al., 2005). Bei den Probanden wurde die Rektaltemperatur gemessen und der Atemtrakt untersucht. Bei 172 Kälbern ergab die klinische Untersuchung Hinweise auf eine Erkrankung des Atemtraktes, bei 68 Kälbern wurde eine erhöhte Rektaltemperatur ($> 39,4^{\circ}\text{C}$) festgestellt. 127 (13%) der Nasentupfer und 103 (10,6 %) der Konjunktivaltupfer erwiesen sich mittels PCR-Diagnostik auf Chlamydien-DNA als positiv. Bei 63 Kälbern konnten *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* sowie *Mycoplasmen* nachgewiesen werden. Da bekannt ist, dass die zuletzt genannten Erreger am Krankheitskomplex der Entzootischen Pneumonie des Rindes beteiligt sind, wurde vermutet, dass auslösendes Moment für die Erkrankung möglicherweise eine Virusinfektion war. Bei 3,8 % der Kälber (37) gelang der gleichzeitige Nachweis von *Chlamydien* und *Pasteurella multocida*. Bei klinisch kranken Kälbern gelang der Chlamydiennachweis signifikant seltener, als bei den gesunden Kälbern.

2.4.1.4 Erkrankungen des Genitaltraktes

Chlamydieninfektionen des Genitaltraktes kommen bei weiblichen und männlichen Rindern vor und können zu Aborten und Fortpflanzungsstörungen führen. Vor allem *Cp. abortus* kann bei Endometritiden, Vaginitiden, gehäuften Umrindern sowie Mastitiden nachgewiesen werden (WITTENBRINK et al., 1988).

HEIL-FRANKE et al. (1993) untersuchten die Relevanz routinemäßiger virologischer und bakteriologischer Diagnostik an 204 abortierten Feten mit oder ohne Eihäute. Das Probenmaterial, welches aus Labmageninhalt der Feten gewonnen wurde oder von Eihautabstrichen stammte, wurde nach Stamp gefärbt und mikroskopisch untersucht. In einem Fall gelang der Chlamydiennachweis; insgesamt ergab sich bei 25 % der Fälle ein Hinweis auf ein infektiöses Geschehen.

Im Rahmen der Abklärung von Abortursachen wurden in Nordbayern bei drei von 200 Abortfällen beim Rind Chlamydien als Ursache festgestellt (DRDLICEK, 2009). Chlamydien scheinen somit in dieser Region eine untergeordnete Rolle als Aborterreger zu spielen. In zwei Fällen wurden die Aborte auf *Coxiella burnetti* zurückgeführt und in drei weiteren Fällen lag eine Mischinfektion von *Coxiella burnetti* und *Arcanobacterium pyogenes* vor. Beim Schaf stellen Chlamydien die

häufigsten infektiösen Aborterreger in Nordbayern dar, während *Coxiella burnetti* eine untergeordnete Rolle spielt.

WITTENBRINK et al. veröffentlichten 1988 eine Studie, bei der 40 Vaginalschleimhautproben von Schlachtrindern untersucht wurden. Insgesamt wurden in 18 (45 %) Vaginalschleimproben Chlamydien nachgewiesen; davon erwiesen sich zwölf Proben in der Zellkultur (Buffalo-Green-Monkey-Zellen) als positiv in Bezug auf Chlamydien, während im Brutei aus 15 Proben Chlamydien angezüchtet werden konnten. Die histologische Untersuchung von 34 Vaginalschleimhautproben ergab in acht Fällen eine Vaginitis; von diesen acht Rindern war jedoch nur bei drei Tieren der Chlamydiennachweis positiv. Diese Tiere schieden gleichzeitig Chlamydien mit dem Kot aus. Bei zwölf der 26 gesunden Tiere wurden Chlamydien aus den Vaginalschleimhautproben isoliert.

Mittels experimenteller Infektion mit *C. psittaci* wurden bei Rindern schwerwiegende purulente Infektionen der Gebärmutter sowie Aborte ausgelöst, die mit Fieber und Allgemeinsymptomen einhergingen und zu Unfruchtbarkeit führten (WITTENBRINK et al., 1993 a). Die Autoren weisen daraufhin, dass die Rinder mit einer sehr hohen Infektionsdosis infiziert worden waren, welche unter Feldbedingungen keine Rolle spielt. Es wird jedoch auf die Bedeutung der vor allem bei peripartalen Rindern vorkommenden, mit Immunsuppression einhergehenden Stoffwechselstörungen hingewiesen, die dazu beitragen können, dass geringere Infektionsdosen ausreichen um im Falle von *C. psittaci* eine Gebärmutterentzündung auszulösen. Neben infektiösem Bullensperma wurde als weiteres Erregerreservoir der Intestinaltrakt diskutiert.

In einer von WITTENBRINK et al. (1994 b) veröffentlichten Studie wurde anhand bakteriologischer Untersuchungen geprüft, ob sich Hinweise auf eine ursächliche Beteiligung von *C. psittaci* bei natürlich vorkommenden Genitalkatarrhen des weiblichen Rindes finden lassen. Dazu wurde von 119 Kühen aus 59 Beständen eitriger Vaginalflour mittels Antigen-ELISA und PCR untersucht. In geruchlosem Vaginalflour wurden signifikant häufiger (60 %) chlamydien-spezifische DNA-Sequenzen nachgewiesen als in putridem Ausfluss (29,6 %). Dies wurde von der Arbeitsgruppe als Indiz für die ursächliche Beteiligung von *C. psittaci* an Genitalkatarrhen und Fruchtbarkeitsstörungen ausgelegt. Die zellzerstörende Eigenschaft der Chlamydien begünstigt das Haften und die Vermehrung von anderen Bakterien. Der Übergang von *C. psittaci*-induzierter Endometritis zur hochgradigen bakteriellen Dysbiose, die klinisch durch eitrigen Vaginalflour auffällt, verläuft schnell. Die durchschnittliche Krankheitsdauer von Rindern mit putridem chlamydienhaltigem Vaginalflour betrug 37 Tage und war damit signifikant kürzer als von Tieren mit

chlamydienassoziierten Genitalkatarrhen mit geruchlosem Vaginalsekret. Diese wiesen zum Zeitpunkt der Beprobung eine durchschnittliche Erkrankungsdauer von 102 Tagen auf.

WITTENBRINK et al. (1994 b) zählen die im Feld auftretenden *C. psittaci* bedingten Genitalkatarrhe zu den Faktorenkrankheiten. Es wird davon ausgegangen, dass in solchen Fällen das Erreger-Wirt-Gleichgewicht bei Bestehen einer latenten Chlamydieninfektion unter Einfluss von resistenzmindernden Faktoren zu Ungunsten des Wirtes gestört wird. Vor diesem Hintergrund raten WITTENBRINK et al. (1994 b) zur Überprüfung und gegebenenfalls Verbesserung der Hygiene und der Haltungsbedingungen. Auch SCHOLZ (1978) stellte fest, dass die Entstehung von Chlamydieninfektionen in der intensiven Tierhaltung durch Resistenz mindernde Einflüsse wie Defizite im Haltungssystem oder Fütterungsfehler begünstigt wird.

2.4.1.5 Erkrankungen des Respirationstraktes

SCHRÖDER (2007) gelang erstmals über den Nachweis von Entzündungsmediatoren in Atemkondensat, Serum und bronchoalveolärer Lavageflüssigkeit der Nachweis, dass Chlamydien an chronischen Entzündungen des Atmungstraktes beteiligt sind. Bei den Probanden handelte es sich um Kälber im Alter von sechs bis sieben Monaten. Die Tiere stammten aus Betrieben, in denen zuvor mittels PCR und KBR die Anwesenheit von Chlamydien nachgewiesen worden war.

Konsequenzen einer klinisch inapparenten Chlamydieninfektion auf die Lungenfunktion von Schweinen und Kälbern wurden an 25 klinisch unauffälligen Kälbern (JAEGER et al., 2007; REINHOLD et al., 2008 a) und 16 klinisch unauffälligen Schweinen (Reinhold et al., 2005a, b) untersucht. Bei sechs Schweinen und 13 Kälbern mit Chlamydiennachweis (PCR) wurden signifikant höhere Rektaltemperaturen festgestellt. Während bei Schweinen mit Chlamydiennachweis keine respiratorischen Symptome oder signifikante Unterschiede in der Atemfrequenz und Lungenfunktion festzustellen waren, wurden bei entsprechenden Kälbern signifikant höhere Atemfrequenzen sowie höhere Strömungswiderstände festgestellt.

2.4.1.6 Erkrankungen des Gastrointestinaltraktes

DOUGHRI et al. (1972) führten Infektionsversuche an neugeborenen Kälbern durch. Im Darm von drei neugeborenen Kälbern, die vor der peroralen, experimentellen Infektion mit *Chlamydia psittaci* (nach alter Taxonomie) kein Kolostrum erhalten hatten, konnte anschließend der Erreger nachgewiesen werden. Ein bis drei Tage *post infectionem* begannen die Kälber Chlamydien im Kot auszuscheiden. Vier bis fünf Tage nach der experimentellen Infektion mussten die Tiere im moribunden

Stadium euthanasiert werden. Bei der anschließenden Sektion wurde eine Gewebeprobe aus dem terminalen Ileum entnommen und elektronenmikroskopisch untersucht. Dabei konnte die Aufnahme und die Freisetzung von EK in und aus Darmzellen nachgewiesen werden. Bei der Aufnahme in die Darmepithelzellen lagern sich die infektiösen EK zuerst den Mikrovilli an; in einem zweiten Schritt reagiert die Epithelzelle, indem sie das EK mit ihrer Membran umgibt, wodurch ein Vesikel gebildet wird. Zunächst wird das EK mit der Zellmembran apikal in die Zelle eingeschleust. Später löst sich die Zellmembran auf, sodass das EK in das Zytoplasma freigesetzt wird. Chlamydien gelangen über drei verschiedene Mechanismen aus den infizierten Zellen in das Darmlumen: durch Platzen der infizierten Zellen, durch Abschilfern der gesamten infizierten Zelle oder durch Freisetzung membranumhüllter Zellanteile. Solange Chlamydien durch Bestandteile der Wirtszellen umgeben sind, können sie im Darmlumen Neugeborener nicht durch kolostrale Antikörper erkannt werden (DOUGHRI et al., 1972).

Untersuchungen von WITTENBRINK et al. (1987) belegen, dass Chlamydien im Verdauungstrakt häufiger vorkommen, als bis dato angenommen wurde. Die Studie liefert einen Überblick über die Häufigkeit latenter Infektionen mit *C. psittaci* bei Rindern im Einzugsbereich der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Mithilfe der Zellkultur wurden Chlamydien aus dem Rinderkot isoliert (Referenzmethode: Infektion von Meerschweinchen). Es wurden 40 Rinder (ein Kalb, 39 Milchkühe) untersucht. Im Kot von acht Tieren (ein Kalb und sieben Milchkühe) wurden Chlamydien nachgewiesen. Die Autoren kommen zu der Schlussfolgerung, dass die Anwendung der Zellkultur zum Nachweis von Chlamydien im Kot geeignet ist und deutlich sensitiver ist als der Nachweis im Tierversuch (Meerschweinchen).

In weiteren Studien untersuchten WITTENBRINK et al. (1993 b) die Bedeutung von Infektionen mit Chlamydien im Rahmen eines multifaktoriellen Geschehens. Um die Frage des Erregerreservoirs zu klären wurde untersucht, ob und wie häufig Rinder Chlamydien mit dem Kot ausscheiden. Des Weiteren sollten Alternativen (Zellkultur) zur zeit- und materialaufwändigen Bruteitechnik geprüft werden. Der Nachweis über die Zellkultur erwies sich jedoch mit einer Sensitivität von 31,6 % und einer Spezifität von 96,7 % als wenig brauchbares Verfahren. Der Zeitaufwand war für beide Verfahren identisch. Für beide Methoden waren drei Passagen über etwa dreißig Tage erforderlich. Für den sicheren Nachweis von intestinalen Chlamydieninfektionen waren mindestens vier aufeinanderfolgende Probennahmen erforderlich. Diese Ergebnisse deckten sich mit den Beobachtungen von KRÜGER (1974). Hier wurden in einer ersten Untersuchung nur 40 % der experimentell infizierten Kälber erkannt. Erst durch wiederholte Untersuchungen an fünf auf-

einanderfolgenden Tagen konnten aus dem Kot von 90 % der Kälber Chlamydien isoliert werden.

2.4.1.7 Therapie und vorbeugende Maßnahmen

Die Behandlung boviner Chlamydieninfektionen gestaltet sich aufgrund der intrazellulären Lokalisation des Erregers schwierig. Tetracykline gelten als Mittel der Wahl für die antibiotische Therapie. Eine vollständige Elimination des Erregers gelingt in aller Regel weder beim Einzeltier, noch gelingt auf diese Weise die Eradikation des Erregers auf Bestandesebene. Die Entwicklung einer belastbaren Immunität konnte bisher nicht sicher nachgewiesen werden. Beim Schwein wurde für *C. suis* eine Tetracyklinresistenz nachgewiesen (LENART et al., 2001), was noch zusätzlich die Forderung nach alternativen Bekämpfungsmethoden wie der Impfung unterstreicht (LONGBOTTOM und LIVINGSTONE, 2006).

Derzeit stehen in Deutschland keine zugelassenen Impfstoffe zu Verfügung.

Die Effekte einer Impfung von Milchkühen, die an subklinischen Euterentzündungen erkrankt waren, wurden von BIESENKAMP-UHE et al. (2007) beschrieben. In der Studie wurde ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer Chlamydieninfektion bei Tieren mit niedrigen Antikörpertitern im Serum bei gleichzeitig erhöhter somatischer Zellzahl nachgewiesen. Nach Impfung mit einem inaktivierten Alum-Quil-A-basierten Impfstoff, der EK von *Cp. abortus* und *pecorum* enthielt, reduzierte sich die somatische Zellzahl der Milch signifikant im Vergleich zu nicht geimpften Kontrolltieren. Die Ausscheidung der Erreger ließ sich mit Hilfe der Impfung jedoch nicht beeinflussen.

In drei Milch erzeugenden Betrieben Sachsen-Anhalts wurden in den Jahren 2002-2005 mit behördlicher Sondergenehmigung bestandsspezifische Vakzinen eingesetzt. ZEHLE (2005) berichtet über positive Effekte der Vakzination, welche sich auf eine Verbesserung der Fruchtbarkeit und Eutergesundheit sowie eine Verminderung der Anzahl von Arthritiden, Keratokonjunktividen und Pneumonien im Bestand bezogen.

Nach HOLLBERG et al. (2005) führen Infektionen mit Chlamydien beim Rind nur selten zu klinischen Symptomen. Die Autoren gehen davon aus, dass Chlamydien auf den Schleimhäuten klinisch gesunder Rinder vorkommen und eine Wegbereiterfunktion für andere Infektionserreger erfüllen. In diesem Zusammenhang spielen die Haltungsbedingungen – vor allem eine zu hohe Besatzdichte – eine zentrale Rolle.

2.4.2 Infektionen mit Chlamydien bei anderen Tierarten

2.4.2.1 Schaf und Ziege

Bei Schafen und Ziegen verursacht *Cp. abortus* den enzootischen Abort, früher als enzootischer Virusabort (enzootic abortion in ewes, EAE) bezeichnet (STORZ und KALTENBOECK, 1993). Darüber hinaus ist die Übertragung des Erregers auf den Menschen bekannt.

In einer in Ungarn durchgeführten Untersuchung wurde bei 46 % (von 246) der Schafaborte und bei 17 % (von 75) der Ziegenaborte *Cp. abortus* nachgewiesen (SZEREDI et al., 2006). Von elf untersuchten infektiösen Aborterregern stellten *Cp. abortus* Infektionen die weitaus häufigste Abortursache dar. Die Autoren weisen auf die große wirtschaftliche Bedeutung von Chlamydieninfektionen bei Schaf- und Ziegenherden in Ungarn hin und empfehlen eine organisierte Bekämpfung.

In Niedersachsen wurden von RUNGE et al. (2005) 95 Schafherden mittels Antikörper-ELISA untersucht. Es wurden insgesamt 1732 Blutproben entnommen. In 52 Betrieben (54 %) ließen sich in 15 % der Serumproben gegen Chlamydien gerichtete Antikörper nachweisen. 4,2 % der untersuchten Proben ergab ein fragliches Ergebnis. In einer Wanderschafherde mit einer Seroprävalenz von 33,9 % wurden zusätzlich 88 Plazentaproben mithilfe der PCR untersucht. Bei 30,7 % der Proben konnte der Nachweis von chlamydienspezifischer DNA erbracht werden.

2.4.2.2 Schwein

Bei Schweinen werden *Cp. abortus*, *Cp. pecorum*, *C. suis* und *Cp. psittaci* in Zusammenhang mit Pneumonien, Fruchtbarkeitsstörungen, Perikarditiden, Arthritiden, Konjunktividen und intestinalen Infektionen gebracht. Die Rolle der einzelnen Spezies scheint jedoch nach wie vor ungeklärt (POLLMANN, 2005). Laut Angaben von PLAGEMANN (1981) wurden Chlamydien als Ursache des „enzootischen Abortes“ beim Schwein in Bulgarien, Rumänien, Spanien, der Sowjetunion und der Tschechoslowakei nachgewiesen.

Bei Zuchtebern aus zwei Zuchtstationen in Deutschland wurden hauptsächlich *Cp. psittaci* im Sperma und *C. suis* im Kot nachgewiesen (KAUFFOLD et al., 2006). In einer der Zuchtstationen wurde bei einem Viertel der Spermaproben Chlamydien nachgewiesen, während in der anderen Zuchtstation vorwiegend Chlamydiennachweise im Kot (40 %) gelangen.

Auch bei acht von 14 Wildschweinen gelang der Nachweis von *Cp. psittaci*-, *Cp. abortus*- und *C. suis* –DNA-Sequenzen mithilfe der PCR (HOTZEL et al., 2004) überwiegend in Gewebeproben, die aus der Lunge oder der Gebärmutter stammten.

REINHOLD et al. (2008 b) gelang bei acht Schweinen im Alter von ca. sechs Wochen die experimentelle Infektion mit *C. suis* über den aerogenen Weg. Die Tiere litten im Gegensatz zu den symptomlosen Kontrolltieren an Fieber, Appetitlosigkeit, Atemnot, trockenem Husten und serösem Nasenausfluss. Die Entzündungsmediatoren im Atemkondensat waren im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht, und bei den infizierten Tieren traten messbare Lungenfunktionsstörungen auf.

2.4.2.3 Pferd

Beim Pferd sind Chlamydien in Verbindung mit Pneumonien, Rhinitiden, Keratokonjunktividen, Polyarthritiden, Enzephalohepatitiden und Aborten nachgewiesen worden. Aber auch bei klinisch gesunden Pferden sind wiederholt Chlamydien festgestellt worden (HENNING et al., 2000).

THEEGARTEN et al. (2008) führten den Nachweis von *Cp. psittaci* und *abortus* in postmortal entnommenen Gewebeproben aus der Lunge von Pferden. Die Präsenz klinischer Symptome und die Ausprägung histologischer Alterationen variierte jedoch erheblich; allerdings konnte in der Gruppe mit klinisch und histologisch gesicherter wiederholter Atemwegobstruktion die höchste Zahl Antigen-positiver Zellen beobachtet werden.

Im Jahr 2000 berichteten HENNING et al. über den Nachweis von *Cp. psittaci* und *abortus* bei einem abortierten Fetus. Die epidemiologischen Zusammenhänge, insbesondere im Bezug auf die Übertragung des Erregers durch andere, mit der Stute im Kontakt stehenden Tierarten, sind jedoch nicht geklärt.

2.4.2.4 Nutzgeflügel und Ziervögel

Cp. psittaci wird im Kot und Nasensekret von infizierten Vögeln ausgeschieden und aerogen durch kontaminierte Staub- und Tröpfchenaerosole übertragen. Empfänglich sind alle Arten von Papageien, Kakadus und Sittichen sowie viele Ziervögel und in Mitteleuropa wildlebende Vogelarten. Infektionen werden auch aus Wirtschaftsgeflügelhaltungen von Puten, Enten, Gänsen und Hühnern sowie bei Reisetauben und verwilderten Stadtauben berichtet (SCHACHTER et al., 1973). Die Inkubationszeit beträgt drei Tage bis zu mehreren Wochen. Die aviäre Chlamydiose gilt als fieberhafte Allgemeinerkrankung. Bei einem akuten Verlauf kann die Mortalität bis zu 100 % betragen; bei subakutem Verlauf liegt die Morbidität

zwischen 50 bis 80 % und die Mortalität bei bis zu 30 %. Die Erkrankung ist charakterisiert durch Mattigkeit, reduzierte Futteraufnahme, Diarrhö, Anorexie und respiratorische Erkrankungen, wie zum Beispiel Sinusitis, Rhinitis und Konjunktivitis (DEDIE et al., 1993).

In Deutschland gilt die durch *Cp. psittaci* verursachte Krankheit Psittakose der Psittaziden aufgrund der Übertragbarkeit auf den Menschen laut Tierseuchengesetz als anzeigepflichtige Erkrankung. Im Unterschied dazu besteht für die Ornithose, die von anderen Vogelarten ausgeht und durch mildere Krankheitsverläufe gekennzeichnet ist, tierseuchenrechtlich die Meldepflicht. SACHSE und GROSSMANN (2002) stellen fest, dass die aufgrund von Epidemien Ende des 19. und Anfang des 20. Jahrhunderts im Zusammenhang mit importierten Psittaziden historisch gewachsene Unterscheidung von Psittakose und Ornithose wissenschaftlich nicht mehr aufrechtzuerhalten ist. Schwerwiegende Erkrankungen würden auch von Nicht-Psittaziden ausgehen, die heutzutage aufgrund neuer Antibiotika besser therapierbar seien.

2.4.2.5 Sonstige Tierarten

Das Vorkommen von Chlamydien wurde nicht nur bei Vögeln, mit einem breiten Wirtsspektrum von fast 380 Vogelarten, sondern auch bei bislang mindestens 32 Säugetierarten beschrieben (WEBER, 2004). Im deutschsprachigen Raum bei Heimtieren durchgeführte seroepidemiologische Untersuchungen ergaben, dass bis zu 24 % bzw. 32 % der untersuchten Hunde bzw. Katzen Antikörper gegen Chlamydien aufwiesen. Bei Katzen manifestierten sich Symptome im Zusammenhang mit *Cp. felis* als Konjunktivitis und Rhinitis.

2.5 Chlamydiosen des Menschen

In der Familie der *Chlamydiaceae* gelten folgende fünf Spezies als humanpathogen: *C. trachomatis*, *Cp. pneumoniae*, *Cp. abortus*, *Cp. psittaci* und *C. felis*. *Cp. pneumoniae* weist einen Lungentropismus auf und verursacht akute respiratorische Infektionen. Der Erreger wird aber auch ohne klinische Symptomatik nachgewiesen. Des Weiteren wird die Beteiligung des Erregers an chronischen Erkrankungen des Menschen, wie z. B. der Arteriosklerose, den chronischen Entzündungen der Atemwege sowie der koronaren Herzkrankheit diskutiert (HIGUCHI et al., 2006; GERARD et al., 2006; LONGBOTTOM und LIVINGSTONE, 2006).

C. trachomatis wird klar definierten Krankheitsbildern mit zum Teil sehr ähnlichen Pathomechanismen zugeordnet. Das Trachom wird verursacht durch die Serotypen A, B und C. Okulo-genitale Infektionen werden durch die Serotypen D bis K verursacht. Dabei handelt es sich um vorwiegend sexuell übertragbare Erkrankungen. Das Lymphogranuloma venereum galt bislang als Tropenkrankheit, ist jedoch unter HIV-Infizierten in Deutschland epidemisch aufgetreten (STRAUBE et al., 2005).

Von Vögeln auf den Menschen übertragbare *Cp. psittaci*-Infektionen werden gemäß dem Infektionsschutzgesetz (IfSG) – gültig seit dem 1. Januar 2001 – unter dem Begriff Ornithose geführt. Von den hierzulande im „Infektionsepidemiologischen Jahrbuch“ des Robert-Koch-Institutes aufgeführten Ornithose-Fällen (Deutschland: 2001: 56 Fälle, 2002: 40 Fälle, 2003: 42 Fälle, 2004: 15 Fälle, 2005: 33 Fälle, 2006: 25 Fälle, 2007: 12 Fälle, 2008: 22 Fälle) wird angenommen, dass diese nur die Spitze des Eisbergs darstellen, da viele Fälle nicht erkannt oder nicht gemeldet würden (HARTUNG, 2007).

Vereinzelt wird über Krankheitsausbrüche berichtet (WACHENDÖRFER und LOHRBACH, 1980; WERTH, 1989; OPPERMAN, 1998). GAEDE et al. (2008) berichteten über einen Ornithoseausbruch in Sachsen-Anhalt und Thüringen. Dabei wurde ausgehend von mehreren Hühner haltenden Betriebe insgesamt 18 Kontaktpersonen mit Ornithose ermittelt. Sieben Personen mussten stationär versorgt werden, in einem Fall musste intensivmedizinisch behandelt werden. Es konnte durch veterinärepidemiologische Ermittlungen und Sequenzanalysen (Stamm 6BC) in den meisten Fällen der Zusammenhang zwischen infizierten Betrieben und den Kontaktpersonen hergestellt werden.

Die Chlamydiose wird in der Berufskrankheiten-Verordnung vom 1. September 2003 als „von Tieren auf Menschen übertragbare Krankheit“ geführt (BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT UND SOZIALE SICHERUNG (2003)). Hierbei werden die Erreger mit Erregerreservoir angegeben:

Cp. psittaci – Vögel, Haus- und Wildtiere;

Cp. felis – Katzen,

Cp. abortus – Schaf.

Die Inkubationszeit beträgt beim Menschen sieben Tage bis drei Wochen (im Einzelfall bis drei Monate). Die Infektion kann sowohl über die Inhalation mit Chlamydien beladenen Staubpartikeln erfolgen, als auch über Schmierinfektionen (Faezes) und den direkten Kontakt. Die Folgen einer Infektion des Menschen schließen Bindehautentzündungen (Katzenkonjunktivitis), grippeähnliche Erscheinungen bis hin zur „atypischen“ interstitiellen Pneumonie ein, ebenso wie Orchitiden, Endokarditiden, Glomerulonephritiden und Aborte.

In Rinder haltenden landwirtschaftlichen Betrieben gelten Chlamydien (*Cp. psittaci*, *Cp. abortus* und *Cp. pecorum*) als ubiquitär. Sie treten in der Regel als ein so genannter Risikoindikator im Zusammenhang mit Faktorenkrankheiten auf (STORZ und KALTENBÖCK, 1993). Neben den wirtschaftlichen Verlusten steht die mögliche Gefährdung der menschlichen Gesundheit im Mittelpunkt aktueller Untersuchungen. So lassen sich Chlamydien sporadisch in der Milch infizierter Tiere nachweisen (STING und MANDL, 1995). Neben der Bedeutung von erregerehaltigen Aerosolen scheint vor allem der direkte Kontakt zu Tieren, die massiv Chlamydien ausscheiden, eine Rolle für die Infektion des Menschen zu spielen. Dennoch gibt es bisher keine eindeutigen Nachweise für eine Übertragung des Erregers von Rindern auf den Menschen.

Cp. abortus wurde in den letzten Jahren häufiger als Auslöser für Fehlgeburten bei Schwangeren erkannt (POSPISCHIL et al., 2002). Im Zusammenhang mit einer durch diesen Erreger verursachten Sepsis mit nachfolgender Fehlgeburt bei einer Schwangeren konnten WALDER et al. (2005) den Kontakt zu einer Ziegenherde nachweisen, in der mehrere Ziegen verlammt hatten. Dabei handelte es sich um eine *Cp. abortus*-Infektion eines zugekauften Ziegenbockes, der die Ziegen über den Deckakt infiziert hatte.

In einer niederländischen Studie wurde eine signifikante Assoziation zwischen Lungenveränderungen bei Schweinen und der Lungenfunktion der auf dem Schweine haltenden Betrieb tätigen Mitarbeiter nachgewiesen (BONGERS et al., 1987), wobei jedoch die direkte Beteiligung von Chlamydien nicht nachgewiesen wurde. BAZALA und RENDA (1992) berichten von chlamydienassoziierten Erkrankungen bei Personen mit Kontakt zu Nutztieren (Schwein, Rind, Schaf). Die Kontaktpersonen litten unter Konjunktivitis, Nieren- und Harnwegsinfektionen, Fehlgeburten und grippeähnlichen Erscheinungen sowie unter allgemeinen Symptomen wie Müdigkeit, Gliedmaßenschmerzen, Gelenkschmerzen, Hautjucken und Nachtschweiß. Im Vergleich dazu gaben Personen anderer Berufsgruppen deutlich seltener solche Beschwerden an. Bei Patienten mit latentem Krankheitsverlauf wurden niedrige, gegen Chlamydien gerichtete Antikörpertiter nachgewiesen. Bei akut-fieberhaften Erkrankungen wiesen die Kontaktpersonen deutlich höhere Antikörpertiter auf. Die Autoren gehen davon aus, dass Chlamydieninfektionen zu latenten Erkrankungen mit subjektiven und daher vom behandelnden Arzt schwer erfassbaren Beschwerden führen. Langfristig können daraus ernste Erkrankungen entstehen, die mit dauerhafter Invalidität und vorzeitigem Tod enden. Die Autoren unterscheiden zwischen der seltenen Akutform mit deutlichen Krankheitszeichen wie Konjunktivitis, Fehlgeburten, Meningitiden und der häufiger vorkommenden latenten Form mit einem großen Spektrum an Symptomen.

Ende der neunziger Jahre wurden in Baden-Württemberg 262 in der Landwirtschaft tätige Personen, die aus 105 Milchkuh haltenden Betrieben stammten, untersucht (SIMMERT, 2000). Aus den Ergebnissen der Studie konnte nicht auf ein erhöhtes Infektionsrisiko für Landwirte geschlossen werden. Die Haltung von Hühnern hingegen deutete auf ein mögliches Risiko für Infektionen durch *Cp. psittaci* hin. Fälle, in denen Katzenhalter unter einer durch *Cp. felis* verursachten Bindehautentzündung litten, weisen darauf hin, dass Katzen als Infektionsquelle für den Menschen in Human- und Veterinärmedizin zu wenig Beachtung geschenkt wird (WERTH, 1989; WEBER, 2004).

Bei Patienten, die an einer COPD erkrankt waren und die ein fortgeschrittenes Lungenemphysem sowie Bronchiolitis aufwiesen, konnte eine Besiedelung der Atemwege mit *Chlamydia ssp.* nachgewiesen werden. Weiterführende Untersuchungen resultierten in einem Nachweis der Zoonoseerreger *Cp. psittaci* und *Cp. abortus*. Diese Erregernachweise konnten ebenfalls in Sputumproben von Patienten mit COPD geführt werden (THEEGARTEN et al., 1998, THEEGARTEN et al., 2000, THEEGARTEN et al., 2002, THEEGARTEN et al., 2003).

Von 428 Kindern mit therapiefraktärer Bronchitis oder Pneumonie konnte bei 33 % *Cp. pneumoniae* nachgewiesen werden. Der Befund korrelierte mit einer Zweitinfektion durch *Streptococcus pneumoniae* sowie Ko-Infektion mit *Mycoplasma pneumoniae* (SCHMIDT et al., 2005). Von SCHMIDT et al. (2002) wurden 1211 Kinder aus Kindergärten und Schulen unterschiedlicher Altersgruppen auf *Cp. pneumoniae* untersucht, von denen 5,6 % einen positiven chlamydienspezifischen DNA-Nachweis erbrachten.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Einbettung der Studie

Aufgrund von ungeklärten Tiergesundheitsproblemen, die in Rinder haltenden Betrieben im Einzugsgebiet des Tiergesundheitsdienstes der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen seit 1991 auftraten und welche in Zusammenhang mit Chlamydieninfektionen gebracht wurden, stellte das Land Nordrhein-Westfalen im Jahr 2004 im Rahmen des „Sonderprogramms Verbraucherschutz“ Mittel zur Klärung der Bedeutung von Chlamydien im Zusammenhang mit Gesundheitsproblemen bei Tier und Mensch in den betroffenen Betrieben zur Verfügung. Die Erhebung der Daten sowie die Probenentnahme und -untersuchung wurden im Zeitraum von September 2004 bis Dezember 2005 durchgeführt. Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Analyse der im Rahmen der oben genannten Studie generierten Daten.

An der Studie waren die folgenden Institutionen beteiligt:

- Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Nationales Referenzlabor für Psittakose am Standort Jena,
- Tiergesundheitsdienst (TGD) der Landwirtschaftskammer (LWK) Nordrhein-Westfalen,
- Tierärztliche Praxis, Nideggen,
- Medizinische Klinik III, Pneumologie, Allergologie, Schlaf- und Beatmungsmedizin, Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil - Klinikum der Ruhr-Universität Bochum, Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, Bochum,
- Landesamt für Ernährungswirtschaft und Jagd, Sonderprogramm Verbraucherschutz, Nordrhein-Westfalen (Vorgängerbehörde des Landesamtes für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen).

3.2 Auswahl der Betriebe

In die Studie wurden 15 Rinder haltende Betriebe mit der Hauptbetriebsrichtung „Milchgewinnung“ eingeschlossen. Die Betriebe waren im Vorfeld der Studie aufgrund der Betriebshistorie (Tiergesundheitsprobleme, Nachweise von Chlamydien) und aufgrund der Bereitschaft zur Teilnahme an der Studie vom Tiergesundheitsdienst (TGD) der Landwirtschaftskammer NRW in Zusammenarbeit mit einer tierärztlichen Großtierpraxis ausgewählt worden. Eine Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war, dass die Betriebe dem Landeskontrollverband angehören,

sodass die Daten der Milchleistungsprüfung in die Auswertung einbezogen werden konnten.

3.2.1 Betriebskennzeichen

Mithilfe von zwei Fragebögen, die den Landwirten im Rahmen eines Interviews zur Beantwortung vorgelegt wurden, wurden vor Beginn der Beprobung Betriebsmerkmale erfasst sowie Fragen zur Gesundheit von Mensch und Tier gestellt (siehe auch Anhang 9.1). In Tabelle 4 werden die Inhalte der beiden Fragebögen zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 4: Inhalt der Fragebögen zur Erfassung der Betriebsmerkmale und der Gesundheit von Tier und Mensch

Fragebogenkategorien	Parameter
Allgemeine Betriebskennzeichen	
• Betrieb	Herdbuchbetrieb, Betriebsgröße, Nutzungsrichtung der Flächen
• Produktionsrichtung	Milchviehbetrieb, Remontierung, Zuchtbetrieb, Mast
• Beschreibung der Rinderpopulation	Altersstufen, Geschlecht
• Herkunft der Tiere	Zukauf, eigene Nachzucht
Management	
• Gebäude- und Haltungsdaten	Alter der Ställe, Hygiene, Aufstallung, Weide
• Fütterungs- und Tränkepraxis	Fütterungssystem, Futterarten, Fütterungszeiten, Futterqualität, Stadt- oder Brunnenwasser
• Tiergesundheit	Gesundheitsstatus, Anzahl Tierarztbesuche, Arzneimitteleinsatz, Impfungen
• Bewertung durch den Landwirt	Hauptprobleme der Tiergesundheit
Humanmedizinischer Teil	
• Tierkontakte	zu Rind, Schwein, Geflügel, Pferd oder anderen Tierarten
• aktuelle Atemwegsbeschwerden	Schnupfen, Husten, Auswurf
• Atopie	Allergie, Heuschnupfen, Asthma, Neurodermitis
• Nikotin	Anzahl Zigaretten pro Tag
• Impfung	Grippeimpfung

In den Betrieben 4 und 8 wurde sieben, im Betrieb 14 dreieinhalb Monate vor der Beprobung eine Chlamydienvakzination mit behördlicher Ausnahmegenehmigung durchgeführt. Dabei handelt es sich um einen inaktivierten Impfstoff aus *Cp. abortus* und *Cp. pecorum*. Laut Hersteller des Impfstoffes ist die Wirkung der Impfung nach einem halben Jahr nicht mehr nachweisbar. Dennoch wurden die drei Betriebe aus den Gruppenvergleichen im Zusammenhang mit der Auswertung der Betriebsmerkmale (s. Kapitel 4.2 f.) ausgeschlossen.

3.3 Betriebe

3.3.1 Geografische Lage

Wie Abbildung 2 ausweist, befanden sich die Standorte der 15 Betriebe in den Regierungsbezirken Köln (Kreis Düren, Kreis Heinsberg, Oberbergischer Kreis) und Düsseldorf (Kreis Kleve, Kreis Wesel, Kreis Neuss und Stadt Duisburg). Vier Betriebe lagen im Bergland; davon drei in der Eifel und ein Betrieb im Bergischen Land. Elf Betriebe lagen im Flachland, in der Rheinischen Bucht, linksrheinisch.

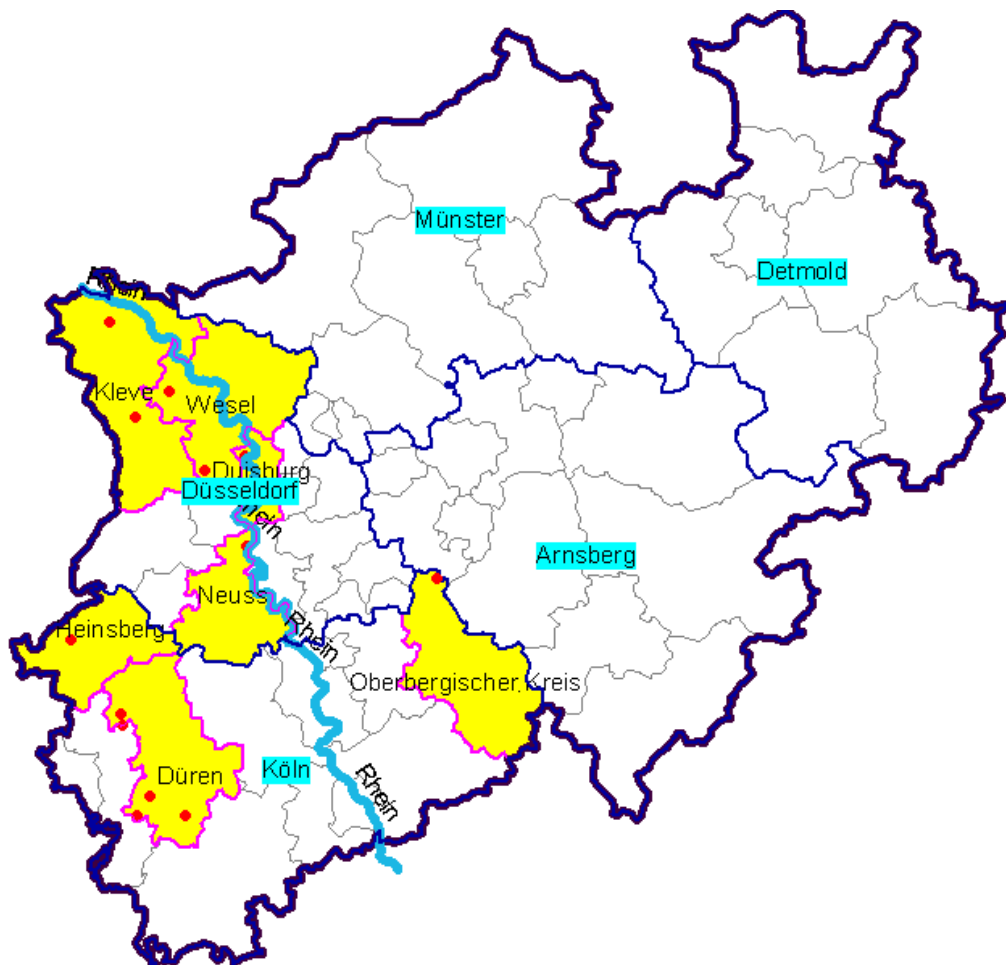


Abbildung 2: Lage der beprobten Betriebe in Nordrhein-Westfalen

3.3.2 Bestandsgröße

Die Anzahl gehaltener Rinder pro Betrieb lag zwischen 66 und 435 Tieren. Folgende Altersgruppen werden aufgeführt und im Rahmen der Studie getrennt ausgewertet (Tabelle 5; siehe auch Kapitel 3.4.1):

- Kälber: Rinder im Alter bis zu einem halben Jahr,
- Jungrinder: über sechs Monate alte Rinder bis zur Geburt des ersten Kalbes,
- Kühe in 1. Laktation: Rinder, die einmal gekalbt haben und sich in der ersten Laktation befinden und
- ältere Kühe: Rinder, die bereits zweimal oder häufiger gekalbt haben und sich mindestens in der zweiten Laktation befinden.

Tabelle 5: Übersicht über die Bestandsgrößen und die Anzahl der Tiere in den verschiedenen Alters- und Nutzungsgruppen in den 15 an der Studie beteiligten Betrieben

Betrieb	Anzahl Rinder gesamt	davon Kälber	davon Jungrinder	davon Kühe in 1. Lakt.	davon ältere Kühe	davon Masttiere	davon Zuchtbullen
1	125	17	40	20	47	0	1
2	190	23	65	35	66	0	1
3	255	35	89	42	88	0	1
4	168	13	65	16	72	1	1
5	133	18	59	12	43	0	1
6	281	n. b.	n. b.	52	100	0	0
7	66	2	35	7	22	0	0
8	117	10	39	15	52	0	1
9	83	6	33	14	29	0	1
10	123	13	67	8	33	0	2
11	108	8	37	22	35	6	0
12	142	18	12	26	86	0	0
13	436	42	169	45	129	50	1
14	206	23	75	34	72	0	2
15	165	23	61	21	60	0	0

Legende: n. b. - nicht bekannt; Lakt. - Laktation

3.3.3 Betriebsgröße

Die Größe der bewirtschafteten Fläche reichte von 60 bis 253 Hektar, der Tierbesatz von 0,83 bis 3 Großvieheinheiten (GVE) pro Hektar. Ein Merkmal des Betriebsmanagements war die Ausweisung von Grünlandfläche als Sommerweide für die Milchkühe (Tabelle 6).

Tabelle 6: Übersicht über die Betriebsgröße sowie Anteile von Grün- und Ackerland in den 15 an der Studie beteiligten Betrieben

Betrieb	Betriebsgröße in ha	Tierbesatz GVE/ha	Grünland ges. in ha	davon als Sommerweide in ha	Ackerland in ha
1	87	1,18	42	13	45
2	100	1,90	86	40	14
3	85	2,00	69	15	16
4	60	2,48	27	5	38
5	160	1,45	52	38	110
6	65	3,00	17	9	48
7	72	0,83	20	15	52
8	80	1,20	12	12	68
9	60	0,93	30	20	30
10	60	1,40	26	26	33
11	50	1,75	20	16	30
12	75	2,00	75	35	0
13	253	1,90	153	0	100
14	100	2,46	30	30	70
15	100	2,00	13	4	87

Legende: ha – Hektar; GVE - Großvieheinheiten, ges. - gesamt

3.3.4 Haltungsform

In Tabelle 7 sind die Haltungsformen sowie die Entmistungsverfahren der verschiedenen Betriebe aufgeführt. Milchkühe der Betriebe 5 und 6 wurden ganzjährig im Stall gehalten, während die Milchkühe der übrigen Betriebe saisonal tagsüber Weidegang hatten. Die gängige Aufstallungsform für die Kühe war der Boxenlaufstall. Als Entmistungsverfahren wurden entweder Teilspalten/Gülle – mit oder ohne Einsatz eines Faltschiebers im Bereich des Laufgangs - dokumentiert. Die Einstreu der Liegeflächen variierte von Betrieb zu Betrieb. In zwei Betrieben stand nicht jedem Tier ein Liegeplatz zur Verfügung, in drei Betrieben war nicht für jedes Tier ein Fressplatz vorgesehen.

Tabelle 7: Übersicht über die Aufstallungsform und die Entmistungsverfahren in den 15 an der Studie teilnehmenden Betrieben

Betrieb	Ganzjährige Stallhaltung		Boxenlaufstall Kühe				Einstreu		Entmistungsverfahren		
	Kühe	Jungrinder		Spalten	Verhältnis: Liegeplätze : Anzahl Tiere	Verhältnis: Fressplätze : Anzahl Tiere	Kühe	Jungrinder	Gülle	Festmist	Faltschieber
1	nein	nein	ja	ja	1:1	1:1	Stroh, Pferde- einstreu	Stroh	ja	ja	nein
2	nein	nein	ja	ja	1:1	1:1	Häcksel	Häcksel	ja	ja	nein
3	nein	ja	ja	ja	1:1,4	1:2	Sägemehl, Häcksel	Sägemehl, Häcksel	ja	ja	ja
4	nein	ja	ja	ja	1:1	1:1	Späne	Späne	ja	ja	nein
5	ja	nein	ja	ja	1:1	1:1	Stroh	n. b.	ja	ja	n. b.
6	ja	nein	ja	ja	1:1	1:2	Stroh; Säge- mehl und Matten	Stroh; Sägemehl und Matten	ja	ja	ja
7	nein	nein	ja	nein	1:1	1:1	Stroh	Stroh	ja	nein	ja
8	nein	nein	ja	ja	n. b.	1:1	Stroh	Stroh	ja	ja	nein
9	nein	nein	ja	nein	1:0,9	1:0,8	Stroh	Stroh	ja	nein	ja
10	nein	nein	nein	nein	1:1	1:1	Stroh	Häcksel- stroh	nein	ja	nein

Betrieb	Ganzjährige Stallhaltung		Boxenlaufstall Kühe				Einstreu		Entmistungsverfahren		
	Kühe	Jungrinder		Spalten	Verhältnis: Liegeplätze : Anzahl Tiere	Verhältnis: Fressplätze : Anzahl Tiere	Kühe	Jungrinder	Gülle	Festmist	Faltschieber
11	nein	nein	ja	ja	1:1	1:1	Sägespäne	Stroh	ja	ja	nein
12	nein		ja	ja	1:1,5	1:1,5	Stroh		ja	ja	nein
13	nein	nein	ja	nein	1:1	1:1	Sägemehl	Stroh; Matrazen	nein	ja	ja
14	nein	nein	ja	ja	1:1	1:1	Häcksel	Häcksel	ja	ja	nein
15	nein	nein	ja	nein	1:0,9	1:0,8	Strohmehl	Stroh	ja	ja	ja

Legende: n. b. – nicht bekannt

3.3.5 Hygiene

In zehn Betrieben stand ein separater Krankenstall zur Verfügung, bei sieben der zehn Betriebe hatten kranke Tiere keinerlei Kontakt zu anderen Tieren (Tabelle 8). Zwei Betriebe verfügten über eine Kadavertonne (Betriebe 9 und 13 bildeten eine Kooperation).

Sieben Betriebe reinigten den Kuhstall und elf Betriebe den Jungrinderstall in regelmäßigen Abständen ein- bis viermal im Jahr (Tabelle 8).

Bis auf einen Betrieb führten alle Betriebe entweder bei Bedarf oder regelmäßig (zwei- bis sechsmal im Jahr) eine Schädnerbekämpfung durch (Tabelle 8).

Tabelle 8: Übersicht über die Hygienemaßnahmen in den 15 an der Studie beteiligten Betrieben

Betrieb	Problematik Wildvögel	Separater Krankenstall	Kadaververwahrung	Schädnerbekämpfung	Stallreinigung im Kuhstall	Stallreinigung im Kälberstall	Stallreinigung mit Desinfektion
1	ja	nein	Nein	ja	nein	Nein	nein
2	ja	nein	Nein	ja	nein	ja	nein
3	nein	ja	Nein	nein	ja	ja	ja
4	ja	ja	Nein	ja	nein	k. A.	k. A.
5	ja	nein	Nein	ja	nein	ja	nein
6	ja	ja	Ja	ja	nein	ja	ja
7	ja	nein	Nein	ja	nein	k. A.	nein
8	nein	nein	Nein	nein	nein	ja	nein
9	ja	nein	Ja	ja	ja	k. A.	nein
10	nein	ja	Nein	ja	ja	ja	ja
11	ja	nein	Nein	ja	ja	ja	nein
12	nein	nein	Nein	ja	ja	ja	ja
13	ja	ja	Ja	ja	nein	ja	nein
14	ja	ja	Nein	ja	ja	ja	ja
15	nein	ja	Nein	ja	ja	ja	ja

Legende: k. A. – keine Angabe

3.3.6 Zukauf, Fütterung und Tränke

In den meisten Betrieben erfolgte der Ersatz abgehender Tiere über die eigene Nachzucht. Nur ausnahmsweise erfolgten Zukäufe von Auktionen (Tabelle 9). Eine Ausnahme in Bezug auf das Jungtiermanagement bildete Betrieb 12. Dort wurden die Kälber an Aufzuchtbetriebe in Niedersachsen verkauft, aus denen tragende

Tiere nach Bedarf wieder zugekauft wurden. Zuchtbullen wurden in der Regel auf Auktionen zugekauft (Tabelle 9). Bei der überwiegenden Zahl der Betriebe wurde mithilfe eines Futtermischwagens eine Totale Mischration (TMR) für die Fütterung der Tiere hergestellt (Tabelle 9). 6 von 15 Betrieben nutzten Brunnenwasser für die Trinkwasserversorgung ihrer Tiere.

Tabelle 9: Übersicht über das betriebliche Zukaufs-, Tränke- und Fütterungsmanagement

Betrieb	Herkunft Jungrinder	Herkunft Bullen	Fütterungsverfahren	Anzahl Futtervorlagen pro Tag	Wasser
1	Zukauf	Zukauf	k. A.	2	Stadtwasser
2	Remontierung	Zukauf	TMR	1	Stadtwasser
3	Zukauf	Zukauf	TMR	1	Stadtwasser
4	Zukauf	Zukauf	TMR	1	Stadtwasser
5	Zukauf		TMR	1	Stadtwasser
6	Remontierung		TMR	2	Stadtwasser
7	Remontierung		k. A.	2	Stadtwasser
8	Zukauf	Zukauf	k. A.	2	Stadtwasser
9	Zukauf	k. A.	k. A.	1	Brunnen
10	Zukauf	k. A.	k. A.	2	Brunnen
11	Remontierung		TMR	2	Brunnen
12	Zukauf		TMR	2	Brunnen
13	Zukauf	Zukauf	TMR	1	Brunnen
14	Zukauf	Zukauf	TMR	2	Stadtwasser
15	Zukauf		TMR	1	Brunnen

Legende: leere Felder - keine Haltung von Zuchtbullen; k. A. - keine Angabe;

TMR – Totale Mischration

3.4 Probennahme und Untersuchung

3.4.1 Auswahl der Tiere

Pro Betrieb wurden maximal zehn willkürlich gewählte, klinisch gesund erscheinende Tiere in die Gruppen

- weibliche Kälber (bis zu sechs Monate alt),
- weibliche Jungrinder (bis zur ersten Abkalbung),
- Kühe in der ersten Laktation (bis zur zweiten Abkalbung),
- ältere Kühe, die mindestens in der zweiten Laktation waren (nach der zweiten Abkalbung)

eingeteilt und proportional zur Gesamtanzahl der Tiere in den jeweiligen Gruppen beprobt. Es wurden jedoch mindestens zwei Tiere je Gruppe beprobt (Tabelle 10).

Maximal fünf weibliche Tiere je Betrieb wurden in die Gruppe der sog. Indextiere aufgenommen und beprobt (Tabelle 10). Diese Tiere galten als „Indikatoren“ für chlamydienassoziierte Erkrankungen und zeigten in unterschiedlichen Organ-systemen Krankheitssymptome. Dazu zählten Symptome am Respirationstrakt (z. B. Husten, Nasenausfluss), Fruchtbarkeitsprobleme (z. B. Aborte, Endometritiden, lange Gützeiten), Gelenkerkrankungen, Abszesse, Konjunktividen und/oder hohe Zellzahlen sowie Milchleistungsrückgang.

Tabelle 10: Übersicht über die Anzahl der beprobten Tiere pro Tiergruppe in den Betrieben

Betrieb	Kälber	Jungrinder	Kühe in 1. Lakt.	ältere Kühe	Indextiere	Summe / Betrieb
1	2	3	2	4	4	15
2	2	3	2	3	5	15
3	2	3	2	3	5	15
4	2	3	2	3	5	15
5	2	4	2	3	4	15
6	2	3	2	3	5	15
7	2	5	2	3	3	15
8	2	3	2	4	4	15
9	2	4	2	3	4	15
10	2	5	2	3	3	15
11	2	4	2	3	4	15
12	2	2	2	4	5	15
13	2	4	2	3	4	15
14	2	4	2	3	4	15
15	2	4	2	3	4	15
Summe / Tiergruppe	30	54	30	48	63	225

3.4.2 Untersuchung und Datenerfassung der Einzeltiere

Die Einzeltiere wurden über die Ohrmarkennummern erfasst und identifiziert. Mit Hilfe einer Checkliste wurde vor Ort jedem beprobten Tier eine fortlaufende Nummer zugeteilt und es wurde die Zugehörigkeit zur jeweiligen Tiergruppe nach Alter, Anzahl Kalbungen bzw. Krankheitssymptomatik ermittelt. Im Rahmen einer Allgemeinuntersuchung wurden die Puls- und Atmungsfrequenz sowie die Körpertemperatur erhoben und die Pansenmotorik beurteilt (mit Ausnahme der unter zwei Monate alten Kälber).

Von laktierenden Kühen wurden folgende Daten der Milchleistungsprüfung aus den Monats- bzw. Jahresabschlussbögen entnommen:

- Milchmenge in kg
- Milcheiweißgehalt in %
- Milchfettgehalt in %
- Zellzahl der Milch in 10^3 Zellen/ml
- Güst- und Rastzeit
- Anzahl der Laktationen pro Jahr

3.4.3 Probenumfang

Je Tier wurden am Tag der ersten Probennahme zwei tiefe Nasentupfer, zwei Vaginaltupfer, zwei Augentupfer und zwei Milchproben entnommen. Jeweils eine Probe war für die Untersuchung mittels PCR vorgesehen. Im Falle eines positiven Ergebnisses sollte die zweite Probe als Rückstellprobe für die kulturelle Anzucht asserviert sein (Tabelle 11).

Serumpaare wurden für die Antikörperbestimmung mittels CHEKIT©-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) im Abstand von drei bis vier Wochen entnommen.

Tabelle 11: Übersicht über die Art und Anzahl der entnommenen Proben sowie die jeweilige Analytik

Nachweisverfahren	Häufigkeit	Matrix	Anzahl Proben
ELISA	2 x i. A. von 3-4 Wochen	Vollblut	225 / 222 [#]
PCR	Einmalig	<ul style="list-style-type: none"> • tiefer Nasentupfer • Vaginaltupfer • Augentupfer • Milchproben 	<p style="text-align: right;">225</p> <p style="text-align: right;">221</p> <p style="text-align: right;">225</p> <p style="text-align: right;">130</p>
Kultur*	Einmalig	<ul style="list-style-type: none"> • tiefer Nasentupfer • Vaginaltupfer, • Augentupfer, • Milchproben 	<p style="text-align: right;">225</p> <p style="text-align: right;">221</p> <p style="text-align: right;">225</p> <p style="text-align: right;">130</p>

* Aus Kostengründen wurde die kulturelle Anzucht nicht regelmäßig durchgeführt.

[#] Drei Tiere starben und standen deshalb zur zweiten Blutprobennahme nicht mehr zur Verfügung.

In Tabelle 12 wird eine Übersicht über die Anzahl der entnommenen Proben für die Untersuchungen mittels PCR in den verschiedenen Tiergruppen gegeben.

Tabelle 12: Übersicht über die Anzahl und den Entnahmeort von Probenmaterial für die Untersuchungen mittels PCR innerhalb der verschiedenen Probandengruppen

Tiergruppe	Konjunktiven	Nasenschleimhaut	Vaginalschleimhaut	Milch
Kälber	30	30	26	
Jungrinder	54	54	54	
Kühe in 1. Lakt.	30	30	30	30
ältere Kühe	48	48	48	46
Indextiere	63	63	63	54
Summe	225	225	221	130

3.4.4 Probenentnahme

Vor Entnahme des Probenmaterials wurden die Tiere nach Möglichkeit in einem Fressgitter mit Feststellfunktion fixiert. Tiere in Boxenlaufställen ohne Fressgitter wurden mithilfe eines Strickes oder Halfters am Kopf fixiert und an eine seitliche Begrenzung (z. B. Stallwand) gestellt.

Zur Probenentnahme von der Nasen- und Vaginalschleimhaut wurden einzelne, steril verpackte Watteträger (Länge etwa 60 cm, Firma Eydan, Kiel), verwendet. Für die Entnahme von Konjunktivaltupferproben wurden sterile Watteträger (Länge etwa 12 cm, Cultiplast[®], Fa. LP Italiana Spa, Italien) verwendet. Die Wattetupfer wurden in mit Transportmedium gefüllte verschließbare 10 ml-Reagenzröhrchen (Greiner bio-one, D- 72636 Frickenhausen) verbracht.

3.4.4.1 Entnahme der Nasentupferproben

Zur Entnahme der Nasentupferproben wurde der Kopf der im Fressgitter fixierten Tiere zusätzlich mithilfe eines Strickhalfters fixiert. Der Nasenspiegel wurde mit trockenem Zellstoffpapier von Futterresten, Staub, Nasenausfluss und sonstigen Verunreinigungen gesäubert. Der Tupfer kam erst am Ausgang des ventralen Nasenganges mit der Nasenschleimhaut in Kontakt. Der Tupfer wurde weitmöglichst in Richtung aboral durch den ventralen Nasengang geschoben und mindestens fünfmal hin- und herbewegt, um die Anreicherung von genügend Schleimhautzellmaterial auf der Watte sicherzustellen.

3.4.4.2 Entnahme der Konjunktivaltupferproben

Die Watteträger wurden mindestens eine Minute in die Schleimhautfalte des oberen bzw. unteren Augenlides gelegt und dann um die Längsachse des Watteträgers hin und her gerollt.

3.4.4.3 Entnahme der Vaginaltupferproben

Mit Zellstoff wurde das äußere Genitale trocken gereinigt. Das Einbringen des langen Tupfers erfolgte nach der Spreizung der Labien. Der Tupfer wurde in den Bereich der Cervix verbracht und in kraniokaudaler Richtung mehrmals hin- und herbewegt.

3.4.4.4 Entnahme der Milchproben

Die Entnahme der Milchproben erfolgte durch die Landwirte im Beisein der Projektmitarbeiter. Es wurde mindestens eine Zitze zunächst trocken, mit Zellstoff, danach mit feuchten Melktüchern gereinigt. Das Vorgemelk wurde verworfen, dann wurden unter Vermeidung von Kontakt zwischen Zitze und Probenröhrchen ca. 10 ml Milch gezielt in das Probenröhrchen gemolken.

3.4.4.5 Entnahme der Blutproben

Zur Blutentnahme diente das Blutröhrchen-Vakuumsystem Vacuette® mit 1,2 x 40 mm Kanülen und Kanülenhalter (Greiner bio-one, D- 72636 Frickenhausen). Die Entnahme der Blutproben erfolgte aus den *Vv.* oder *Aa. caudales mediana*.

3.4.5 Material zur Probennahme, Transportmedien und Transport der Proben

Die Probenröhrchen wurden am Morgen der Probenentnahme vom Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt Krefeld mit den entsprechenden Nährmedien für die PCR und die kulturelle Anzucht gefüllt. Für die Milchproben wurden Röhrchen mit Gummistopfen vom FLI bereitgestellt. Die Probenröhrchen für die PCR wurden mit 0,5 ml Guanidinium-Stabilisierungspuffer nach KALTENBOECK gefüllt (6M Guanidin-HCl, 10 mM Harnstoff, 20 % (v/v) Triton X-100, 10mM Tris-HCl, pH 4,4).

Die Probenröhrchen für die Zellkultur wurden mit 5 ml des folgenden Transportmediums befüllt:

Grundmedium:

Saccharose	74,60 g/l
KH ₂ PO ₄	0,52 g/l
K ₂ HPO ₄	1,25 g/l
L-Glutaminsäure (Na-Salz)	0,92 g/l
Bovines Albumin (Fraktion V)	1,00 g/l

Die Salze wurden der Reihenfolge nach in destilliertem Wasser aufgelöst, Albumin wurde zugefügt und aufgelöst. Danach wurde steril filtriert. Das Grundmedium wurde bei -20 °C gelagert.

Zur Fertigstellung des Transportmediums wurden folgende Zusätze (Stammlösungen) verwendet:

<u>Nystatin-Stammlösung:</u>	45 mg in 5 ml A. dest. (Endkonzentration im Medium 25 E/ml)
<u>Gentamicin-Stammlösung:</u>	400mg in 10 ml A. dest. (Endkonzentration im Medium 40 µg/ml)
<u>Vancomycin-HCl-Stammlösung:</u>	250 mg in 10 ml PBS (Endkonzentration im Medium 25 µg/ml)

Die Stammlösungen wurden gemischt und in Portionen zu je 250 µl abgefüllt. Durch Zugabe von 250 µl zu 100 ml Medium wird die gewünschte Endkonzentration erreicht. Die Zusätze wurden frisch zugegeben und das Medium am Tag der Zugabe verbraucht. Der Transport der Proben erfolgte innerhalb von 24 Stunden in einer Kühlbox. Nach der Probenentnahme wurden die Proben in einer Kühlbox bei maximal +6°C transportiert und über Nacht im Kühlschrank (maximal + 6°C) zwischengelagert. Am nächsten Morgen wurden die Proben bis zwölf Uhr mittags per Kurier zum FLI nach Jena gebracht. Dieser Transport erfolgte in einer Kühlbox bei max. + 6°C mit Kühlakkus. Die Proben wurden zu jedem Zeitpunkt stehend transportiert.

3.4.6 Labordiagnostik

3.4.6.1 Untersuchung auf gegen Chlamydien gerichtete Antikörper

Die Blutproben wurden auf das Vorhandensein von Antikörpern mittels eines ELISA-Tests untersucht. Die Untersuchungen fanden am FLI, Standort Jena, mit dem zugelassenen (Zul.-Nr. 93VV-B245) CHEKIT©-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) statt. Dabei handelt es sich um einen Enzymimmuntest für den Nachweis von Antikörpern gegen *Chlamydia psittaci* (alte Taxonomie) in Serum und Plasma von Rindern, Schafen und Ziegen. Die Testplatte ist mit inaktiviertem Erregerantigen beschichtet, welches Antikörper, die gegen *Chlamydia psittaci* (alte Taxonomie) gerichtet sind, spezifisch bindet. Bei positiven Testergebnissen erfolgt ein Farbumschlag. Die Farbintensität wird anschließend mit einem Photometer bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen.

Die Farbintensität hängt von der Menge der gebundenen Antikörper ab. Die diagnostische Bewertung erfolgt durch den Vergleich der Extinktionen (optische Dichte) von Proben und Kontrollen. Die Extinktionen der Proben (OD_{Probe}) sowie der positiven Kontrollen (OD_{pos}) werden durch Subtraktion der Extinktion der negativen Kontrolle (OD_{neg}) korrigiert. Die korrigierten Werte der Proben werden auf den

korrigierten Wert der positiven Kontrolle (=100 %) bezogen. So lautet die Formel zur Bestimmung des Probenwertes (in %):

$$\text{Formel 1: Probenwert (\%)} = ((\text{OD}_{\text{Probe}} - \text{OD}_{\text{neg}}) / (\text{OD}_{\text{pos}} - \text{OD}_{\text{neg}})) \times 100\%$$

Tabelle 13: Bewertung der Werte des CHEKIT®-Chlamydia ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz)

Probenwert	< 30 %	30 – 40 %	> 40 %
Bewertung	negativ	fraglich	positiv

Nach Herstellerangaben beträgt die Sensitivität des Testsystems 89 – 95 %, die Spezifität nahezu 100 %.

3.4.6.2 Untersuchung auf chlamydienspezifische DNA-Sequenzen

Als Nachweismethode von Chlamydien-DNA kam im Nationalen Veterinärmedizinischen Referenzlabor für Psittakose des Friedrich-Loeffler-Institutes die verschachtelte (= nested) PCR-Methode in der omp1-Genregion zum Einsatz. Die Nachweisgrenze liegt bei einer einschlussbildenden Einheit (EBE). Die DNA wurde mithilfe des High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) nach Herstellerangaben isoliert. Genutzt wurde eine nach SACHSE und HOTZEL (2002) modifizierte Version der nested PCR, die von KALTENBOECK et al. (1997) beschrieben wurde.

3.4.6.3 Kulturelle Untersuchungen

Die kulturellen Untersuchungen der Proben wurden am FLI nach der von SACHSE et al. (2003) beschriebenen Methode durchgeführt. Die Beschreibung findet sich in der Laboranweisung LA210.27 „Chlamydienisolierung“ des FLI Jena vom 01.12.2006.

3.4.7 Untersuchung von Angehörigen der landwirtschaftlichen Betriebe

Die Personen mit Tierkontakten, die aus den 15 an der Studie teilnehmenden landwirtschaftlichen Betrieben stammten, wurden von einer Doktorandin des Krankenhauses Bergmannsheil in Bochum angeschrieben, zur Untersuchung eingeladen und untersucht.

3.4.7.1 Probennahme zur Chlamydiendiagnostik an Patienten

Die Untersuchung umfasste einen Lungenfunktionstest, eine Blutuntersuchung und eine Sputumprobe. Die detaillierte Methodenbeschreibung ist bei der Medizinischen Klinik III, Pneumologie, Allergologie, Schlaf- und Beatmungsmedizin, Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil - Klinikum der Ruhr-Universität Bochum, Bürkle-de-la-Camp-Platz 1, Bochum erhältlich.

3.5 Statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit den Softwareprogrammen Microsoft® Office Excel 2003 und SPSS 17.0 für Windows. Die Beratung erfolgte am Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin.

Für alle genutzten statistischen Verfahren wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % festgelegt (entspricht einer Signifikanzgrenze von $p \leq 0,05$). Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit dem Softwareprogramm Microsoft® Office Excel 2003. In der Ergebnisdarstellung werden unterschiedliche Signifikanzniveaus, beispielsweise $p < 0,02$; $p < 0,01$ und $p < 0,001$, genannt.

3.5.1 Der Vierfelder-Chi-Quadrat-Test

Der Vierfelder-Chi-Quadrat-Test wurde als Signifikanztest zur Analyse unbekannter Häufigkeitsverteilungen eingesetzt (Formel 2). Die Nullhypothese lautet: Es bestehen keine Unterschiede zwischen Anteilswerten einer Zeile und einer Spalte. Die Alternativhypothese lautet, dass Unterschiede zwischen den Anteilswerten vorhanden sind. Bei $n \leq 60$ wurde eine Kontinuitätskorrektur durchgeführt (Formel 3). Der Test vergleicht zwei unabhängige Stichproben miteinander.

Tabelle 14: Vierfeldertafel für den Chi-Quadrat-Test

	Merkmal B	Merkmal „nicht B“	Summe
Merkmal A	a	b	a+b
Merkmal „nicht A“	c	d	c+d
Summe	a+c	b+d	n=a+b+c+d

$$\text{Formel 2} \quad \chi^2 = \frac{n \cdot (ad - bc)^2}{(a + b)(a + c)(c + d)(b + d)}$$

$$\text{Formel 3} \quad \chi^2 = \frac{n \cdot (|ad - bc| - N \div 2)^2}{(a + b)(a + c)(c + d)(b + d)}$$

3.5.2 Der Chi-Quadrat-Test nach McNemar

Der Chi-Quadrat-Test nach McNemar wurde als Signifikanztest für die Beurteilung der ELISA-Testergebnisse durchgeführt. Da dieselben Tiere zweimal (im Abstand von drei Wochen) hinsichtlich eines Alternativmerkmals untersucht worden sind, vergleicht man zwei abhängige Stichproben miteinander. Die Nullhypothese lautet: Es bestehen keine Unterschiede zwischen Anteilswerten einer Zeile und einer Spalte. Die Alternativhypothese lautet, dass Unterschiede zwischen den Anteilswerten vorhanden sind.

Tabelle 15: Vierfeldertafel für den Chi-Quadrat-Test nach McNemar

	Untersuchung 2	
Untersuchung 1	+	-
+	a	b
-	c	d

$$\text{Formel 4} \quad \chi^2 = \frac{(|b - c| - 1)^2}{b + c} \quad , \text{ mit Fg}=1$$

Die Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der serologischen Testverfahren wurden untersucht; dabei wurde zwischen positiven, fraglichen und negativen Befunden unterschieden.

3.5.3 Fishers Exact-Test

Der exakte Test nach Fisher, eine Sonderform des Chi²-Tests, wurde eingesetzt, wenn die untersuchte Stichprobenzahl vereinzelt sehr gering war. Die Nullhypothese lautet: Es bestehen keine Unterschiede zwischen Anteilswerten einer Zeile und einer Spalte. Die Alternativhypothese lautet, dass Unterschiede zwischen den Anteilswerten vorhanden sind.

$$\text{Formel 5} \quad p = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{n! \circ a! \circ b! \circ c! \circ d!}$$

3.5.4 Berechnung des Relativen Risikos (RR)

Das Relative Risiko ist der Quotient von Risiken. Das Relative Risiko ist ein geeignetes Maß zum Vergleich der Exponierten (Indextiere) und der Nicht-Exponierten (Altersgruppen); dabei handelt es sich jedoch immer um einen Multiplikator von Wahrscheinlichkeiten.

Tabelle 16: Vierfeldertafel zur Berechnung des Relativen Risikos

	Exponiert	Nicht exponiert
Positive	a	b
Negative	c	d
Summe	a+c	b+d

$$\text{Formel 6} \quad RR = \frac{a \bullet (b+d)}{b \bullet (a+c)}$$

RR kann Werte zwischen null und unendlich annehmen. Gilt $RR=1$, so sind die Risiken zwischen Exponierten und Nicht-Exponierten identisch.

3.5.5 Berechnung der Odds Ratio (OR)

Die Odds Ratio ist ein weiteres multiplikatives Vergleichsmaß und gibt das Risiko an, mit dem ein Ereignis eintritt. Mit dem Begriff des Risikos ist es möglich, ein Chancenverhältnis innerhalb der Vierfeldertafel (Tabelle 16) zu definieren.

$$\text{Formel 7} \quad OR = \frac{a \bullet d}{b \bullet c}$$

4 ERGEBNISSE

4.1 Direkter und indirekter Erregernachweis

Zwischen September 2004 und Dezember 2005 wurden auf 15 Milchkuh haltenden Betrieben Nordrhein-Westfalens insgesamt 2049 Proben von 225 Rindern (15 Tiere pro Betrieb) entnommen. 801 Proben wurden mittels PCR auf chlamydienspezifische DNA-Sequenzen untersucht. Zum Probenmaterial zählten Tupferproben von Konjunktival-, Nasen- und Vaginalschleimhaut sowie, im Falle laktierender Tiere, auch Milchproben. Bei zwölf Tieren, elf davon mit einem positiven PCR Ergebnis, wurde der Versuch zur Anzüchtung von Chlamydien unternommen. Des Weiteren wurden 222 gepaarte Serumproben mittels ELISA auf chlamydienspezifische Antikörper untersucht.

4.1.1 Nachweis chlamydienspezifischer DNA-Sequenzen mittels PCR

Im Probenmaterial von 103 aus einer Gruppe von 225 beprobten Rindern (45,8 %) gelang der Nachweis chlamydienspezifischer DNA-Sequenzen (Tabelle 17). Die Nachweisraten der PCR-Untersuchungen betragen in Abhängigkeit vom untersuchten Material zwischen 13 % (Milch) und 24 % (Nasensekret).

Bei 38 (37%) der 103 positiv getesteten Tiere wurde auch an anderen Entnahmestellen ein positives Ergebnis in der PCR dokumentiert. Von 42 Tieren mit einem positiven PCR-Ergebnis im Konjunktivalabstrich wurde in 24 Fällen (57 %) mindestens eine weitere Probe aus einer anderen Lokalisation (Nase, Vagina und/oder Milch), für positiv befunden. Bezogen auf Tiere mit einem positiven Ergebnis in den Nasentupferproben (n=53), wiesen 32 Tiere (60 %) ein mehrfach positives Ergebnis auf. Bei 26 Tieren (58 %), deren Vaginalabstriche ein positives Ergebnis erbrachten, wurde in mindestens einer weiteren Probe ein positives PCR-Ergebnis ermittelt. 10 von 17 Tieren, in deren Milchprobe chlamydienspezifische DNA-Sequenzen nachgewiesen wurden, wiesen zusätzlich mindestens ein positives Ergebnis in Proben aus Konjunktival-, Nasen- und/oder Vaginalschleimhaut auf.

Tabelle 17: Nachweis chlamydienspezifischer DNA-Sequenzen mittels PCR in Probenmaterial von Konjunktival-, Nasen- und Vaginalschleimhäuten sowie in Milch. Die Ergebnisse werden bezogen auf die Gesamtzahl der am jeweiligen Entnahmeort entnommenen Proben dargestellt

Entnahmeort	Konjunktival- tupfer (%)	Nasentupfer (%)	Vaginal- abstrich (%)	Milchproben (%)	mind. ein positives Ergebnis (%)
n**	225 (100,0)	225 (100,0)	221 (100,0)	130 (100,0)	225 (100,0)
negativ	183 (81,3)	172 (76,4)	176 (79,6)	113 (86,9)	122 (54,2)
positiv	42 (18,7)	53* (23,6)	45 (20,4)	17 (13,1)	103 (45,8)
nicht beprobt			4	95	
an mind. 2 Entnahmeorten positiv.°	24 (57)	32 (60)	26 (58)	10 (59)	38 (37)

**Anzahl beprobter Tiere * signifikant gegenüber Milchproben; $p < 0,02$

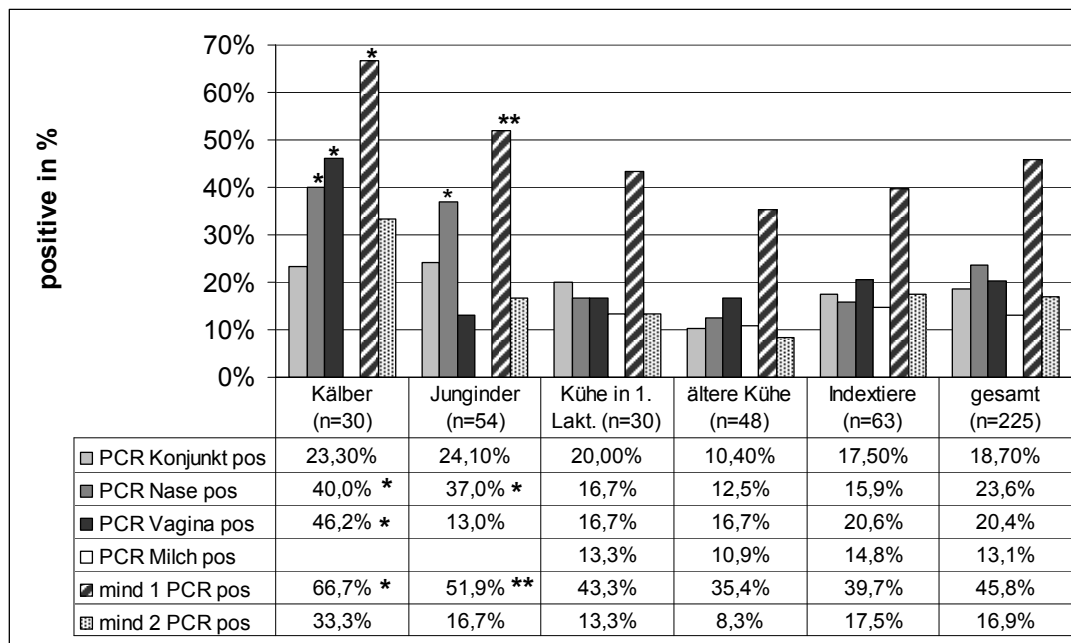
° Prozentangaben bezogen auf positive Ergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse der PCR-Analysen für die in die Studie einbezogenen Betriebe werden in Tabelle 18 wiedergegeben. In Abhängigkeit vom untersuchten Betrieb wurden entweder alle 15 Probanden positiv befunden (Betrieb 4 und 15) oder aber mehrere Tiere aus der Probandengruppe, oder nur ein einzelnes Tier (Betrieb 14).

Tabelle 18: Übersicht über die Ergebnisse der PCR-Analysen in den teilnehmenden Betrieben (n=15). Dargestellt wird die Anzahl positiv getesteter Tiere bezogen auf die Anzahl beprobter Tiere (n=225). Die Ergebnisse werden separat für den jeweiligen Entnahmeort (Konjunktival-, Nasen-, Vaginalschleimhaut, Milch) wiedergegeben

Betrieb	Konjunktivaltupfer (%)	Nasentupfer (%)	Vaginalabstrich (%)	Milchproben (%)	Anzahl pos. Tiere (%); mind. ein positives Ergebnis	Anzahl pos. Tiere (%); mind. zwei positive Ergebnisse
1	6 (15)	1 (15)	3 (15)	2 (9)	11 (73,3)	1 (6,7)
2	0 (15)	3 (15)	1 (13)	0 (10)	4 (26,7)	0 (0,0)
3	2 (15)	2 (15)	0 (13)	0 (9)	3 (20,0)	1 (6,7)
4	12 (15)	9 (15)	9 (15)	9 (9)	15 (100,0)	13 (86,7)
5	1 (15)	2 (15)	4 (15)	0 (8)	6 (40,0)	1 (6,7)
6	2 (15)	3 (15)	2 (15)	0 (9)	6 (40,0)	1 (6,7)
7	3 (15)	5 (15)	1 (15)	1 (8)	8 (53,3)	2 (13,3)
8	0 (15)	1 (15)	2 (15)	0 (10)	2 (13,3)	1 (6,7)
9	0 (15)	6 (15)	2 (15)	0 (8)	6 (40,0)	2 (13,3)
10	2 (15)	2 (15)	4 (15)	0 (4)	7 (46,7)	1 (6,7)
11	1 (15)	3 (15)	2 (15)	0 (9)	5 (33,3)	1 (6,7)
12	0 (15)	1 (15)	1 (15)	5 (11)	6 (40,0)	1 (6,7)
13	4 (15)	3 (15)	2 (15)	0 (9)	8 (53,3)	1 (6,7)
14	1 (15)	0 (15)	0 (15)	0 (9)	1 (6,7)	0 (0,0)
15	8 (15)	12 (15)	12 (15)	0 (8)	15 (100,0)	12 (80,0)

Bei Betrachtung der verschiedenen Probandengruppen in Abhängigkeit vom Alter zeigt sich, dass die Nachweisrate von chlamydienspezifischer DNA in Nasentupfern von Jungtieren bzw. in den Vaginaltupfern von Kälbern im Vergleich zur Gruppe der älteren Kühe signifikant höher ist (Abbildung 3).



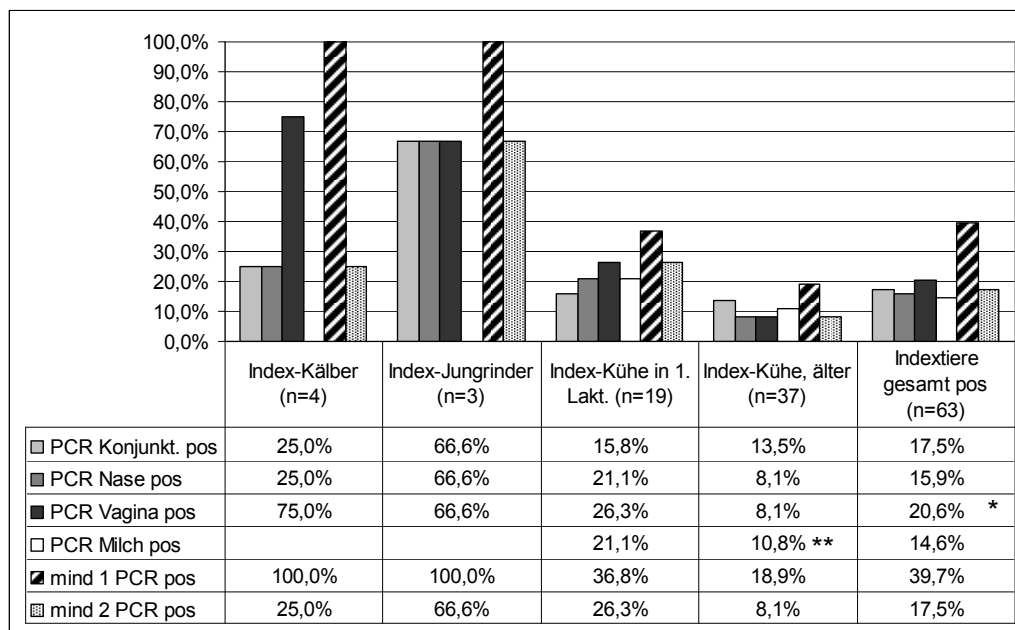
* signifikant: bezogen auf Tiergruppe der älteren Kühe ($p < 0,01$);

** bezogen auf Tiergruppe der älteren Kühe: $p < 0,1$.

Abbildung 3: Darstellung des Anteils PCR-positiver Untersuchungsergebnisse in Tupferproben und Milchproben von Probanden verschiedener Altersgruppen sowie für die Indextiere

Bei den 63 Indextieren handelte es sich um vier Kälber, drei Junginder, 19 Kühe in der ersten Laktation und 37 Milchkühe höherer Laktationen. Diese Tiere wurden nicht anteilig proportional zu den im Betrieb gehaltenen Altersgruppen ausgewählt, sondern ausschließlich auf Basis klinischer Symptome. Für die Indextiere konnten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den anderen Probandengruppen ermittelt werden (Abbildung 3).

Aus Abbildung 4 gehen die Nachweisraten von chlamydienspezifischen DNA-Sequenzen bei Indextieren in Abhängigkeit von deren Alter hervor.



* Signifikant bezogen auf alle Altersgruppen (gesamt) der „Nicht-Indextiere“ ($p < 0,05$)

** $p < 0,1$; bezogen auf Altersgruppe der älteren Kühe der „Nicht-Indextiere“

Abbildung 4: Darstellung des Anteils PCR-positiver Untersuchungsergebnisse in Tupfer- und Milchproben von Indextieren verschiedener Altersgruppen

In der Gruppe „Indextiere“ wurden die Kühe in der ersten Laktation und die älteren Milchkühe mit den „Nicht-Indextieren“ verglichen. Aufgrund der geringen Anzahl beprobter Index-Kälber und -Rinder werden die Ergebnisse in Tabelle 19 in hellgrauer Schriftfarbe dargestellt.

Tabelle 19: Gegenüberstellung des Anteils PCR-positiver Untersuchungsergebnisse in Tupfer- und Milchproben von Indextieren im Vergleich zu Nicht-Indextieren

PCR positive Ergebnisse	Index-Kälber	Index-Jungrinder	Index-Kühe in 1. Lakt.	Index-Kühe ≥ 2 . Lakt.	Indextiere, gesamt
Konjunktivaltupfer	-	↑↑	↓ n. s.	↑ n. s.	-
Nasentupfer	↓↓	↑↑	↑ n. s.	↓ n. s.	↓↓ $p < 0,05^*$
Vaginalabstrich	↑↑	↑↑	↑↑ n. s.	↓↓ n. s. $p < 0,1$	-
Milchproben			↑↑ n. s.	-	-
mind. 1 positives Ergebnis	↑↑ RR 1,5	↑↑ RR 1,93	↓ n. s.	↓ n. s.	↓ n. s.
mind. 2 positive Ergebnisse	↓	↑↑	↑↑ n. s.	-	-

Bezug zu Tabelle 19: n. s.: nicht signifikant, *signifikant

- OR $1 \pm 0,2$; Abweichung Index- vs. „Nicht-Indextiere“

↓, ↑ OR $> 0,6$ bis $0,8$; OR $< 1,4$ bis $1,2$; Abweichung Index- vs. „Nicht-Indextiere“

↓↓, ↑↑ OR $\leq 0,6$; OR $\geq 1,4$; Abweichung Index- vs. „Nicht-Indextiere“

RR Relatives Risiko (wurde berechnet, wenn bei Formel OR im Nenner eine 0 war)

4.1.2 Kultur

13 Proben von zwölf Rindern aus fünf Betrieben wurden mittels Kultur untersucht. Eine Kultivierung gelang aus Probenmaterial von acht Tieren; der isolierte Stamm wurde als *Cp. pecorum* identifiziert (Tabelle 20).

Tabelle 20: Einzeltielergebnisse der PCR und der Kultivierung von Chlamydien aus ausgewähltem Probenmaterial

Betrieb Nr.	je ein Tier aus Tiergruppe	PCR Konjunktivaltupfer	PCR Nasentupfer	PCR Vaginalabstrich	PCR Milchproben	mind. 1 positives Ergebnis in der PCR	Kultur
1	Indextier	neg.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg./neg.
2	Jungrind	neg.	pos.	neg.	nicht vorh.	pos.	neg./neg.
2	Jungrind	neg.	pos.	neg.	nicht vorh.	pos.	neg./neg.
3	Kalb	pos.	pos.	nicht vorh.	nicht vorh.	pos.	2x pos.*
3	Jungrind	neg.	pos.	neg.	nicht vorh.	pos.	neg./neg.
5	Kuh in 1. Lakt.	neg.	neg.	pos.	neg.	pos.	pos.*
5	Jungrind	neg.	neg.	neg.	nicht vorh.	neg.	pos.*
5	Kalb	neg.	pos.	pos.	nicht vorh.	pos.	pos.*
9	ältere Kuh	neg.	pos.	neg.	neg.	pos.	pos.*
9	Indextier	neg.	pos.	pos.	nicht vorh.	pos.	pos.*
9	Kalb	neg.	pos.	neg.	nicht vorh.	pos.	pos.*
9	Kalb	neg.	pos.	pos.	nicht vorh.	pos.	pos.*

Legende: **pos*** - Nachweis *Cp. pecorum*; Lakt. – Laktation; nicht vorh. – nicht vorhanden

4.1.3 Antikörpernachweis mittels ELISA

Tabelle 21 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der Bestimmung der chlamydien-spezifischen Antikörper in den Seren der Probanden. Von 225 Tieren sollten jeweils gepaarte Sera mittels Antikörper-ELISA untersucht werden. Bei drei Tieren konnte nur eine einmalige Blutprobennahme erfolgen, da diese Tiere bei der zweiten Blutprobenentnahme nicht mehr im Betrieb verweilten, so dass das Einzelergebnis nicht in die Auswertung einfließt. Zum Zeitpunkt der ersten Beprobung wurden bei 103 von 222 Probanden (46 %) chlamydien-spezifische Antikörper nachgewiesen. Anlässlich der zweiten Beprobung galt dieses für 114 von 222 Tieren (51%); die Anzahl fraglicher Ergebnisse betrug für den ersten Beprobungszeitpunkt 14 und für den zweiten 18. Bezogen auf die Anzahl beprobter Tiere entspricht das einem Anteil von 6 bzw. 8%.

In 13 Fällen fand in der Periode zwischen dem ersten und zweiten Entnahmezeitpunkt eine Serokonversion statt, während bei fünf Tieren die erste ELISA-Untersuchung positiv und die zweite negativ ausfiel. Der Anteil serokonvertierter Tiere ist mit $p < 0,0025$ statistisch signifikant (McNemar-Test mit Kontinuitätskorrektur, da $n < 30$, siehe Anhang Tabelle A 19 ff.). Dieser Effekt wird noch deutlicher, wenn man die Tiere mit fraglichem Testergebnis gemeinsam mit den positiv getesteten Tieren in der Gruppe „nicht negativ“ zusammenfasst.

Zwölf Tiere wiesen in der ersten Untersuchung ein negatives und in der zweiten Untersuchung ein fragliches Ergebnis auf. Fünf Tiere hatten im ersten ELISA ein fragliches Ergebnis und im zweiten ein negatives Ergebnis. Auch der Wechsel negativer Testergebnisse im ersten ELISA nach „fraglich“ im zweiten ELISA ist mit $p < 0,05$ signifikant.

Tabelle 21: Nachweis chlamydienspezifischer Antikörper in gepaarten Serumproben mittels CHEKIT©-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40

		ELISA 2. Probe			Gesamt
		negativ	positiv	fraglich	
ELISA 1. Probe	negativ Anzahl Tiere	80	13**	12*	105
	% innerhalb von ELISA 1	76,2 %	12,4 %	11,4 %	100,0 %
	% innerhalb von ELISA 2	88,9 %	11,4 %	66,7 %	47,3 %
	positiv Anzahl Tiere	5	93	5	103
	% innerhalb von ELISA 1	4,9 %	90,3 %	4,9 %	100,0 %
	% innerhalb von ELISA 2	5,6 %	81,6 %	27,8 %	46,4 %
	fraglich Anzahl Tiere	5	8	1	14
	% innerhalb von ELISA 1	35,7 %	57,1 %	7,1 %	100,0 %
	% innerhalb von ELISA 2	5,6 %	7,0 %	5,6 %	6,3 %
Gesamt	Anzahl Tiere	90	114	18	222
	% innerhalb von ELISA 1	40,5 %	51,4 %	8,1 %	100,0 %
	% innerhalb von ELISA 2	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %

** signifikant mit $p < 0,0025$; * signifikant mit $p < 0,05$

Die Nachweisraten von Antikörpern im Blut der beprobten Tiere lagen in den verschiedenen Betrieben zwischen 13 und 80 %. Tabelle 22 und Abbildung 5 geben eine Übersicht über die Ergebnisse des Antikörper-ELISA in den verschiedenen Betrieben. In den Betrieben 3, 6 und 15 wurden nicht mehr als vier Tiere positiv getestet (Nachweisraten von unter 27 % bei „mind. einem positiven Ergebnis pro Tier“). In den Betrieben 2, 8 und 13 wurden jeweils mehr als zehn positive Tiere zu einem der beiden Untersuchungstermine ermittelt.

In den Betrieben 8, 10 und 14 lieferte der Antikörper ELISA für jeweils zwei Tiere bei der ersten Beprobung ein fragliches und bei der zweiten Beprobung ein positives Ergebnis. Insgesamt wurde für acht Tiere zum ersten Entnahmezeitpunkt ein fragliches und zum zweiten Entnahmezeitpunkt ein positives Ergebnis ermittelt. Dagegen ergab die Untersuchung anlässlich der ersten Probennahme für fünf Tiere ein positives Ergebnis, während in der zweiten Untersuchung ein fragliches Ergebnis ermittelt wurde. Im Betrieb 12 wurde im Zeitraum zwischen der ersten und der zweiten Probennahme bei fünf Tieren eine Serokonversion festgestellt, die Sera zweier weiterer Tiere wurden als fraglich eingestuft (siehe Tabelle A 17 im Anhang).

Die Betriebe 4, 8 und 14 wurden in der Tabelle gekennzeichnet, da dort im Zeitraum von sieben Monaten vor der ersten Probennahme eine Impfung gegen Chlamydien durchgeführt worden war.

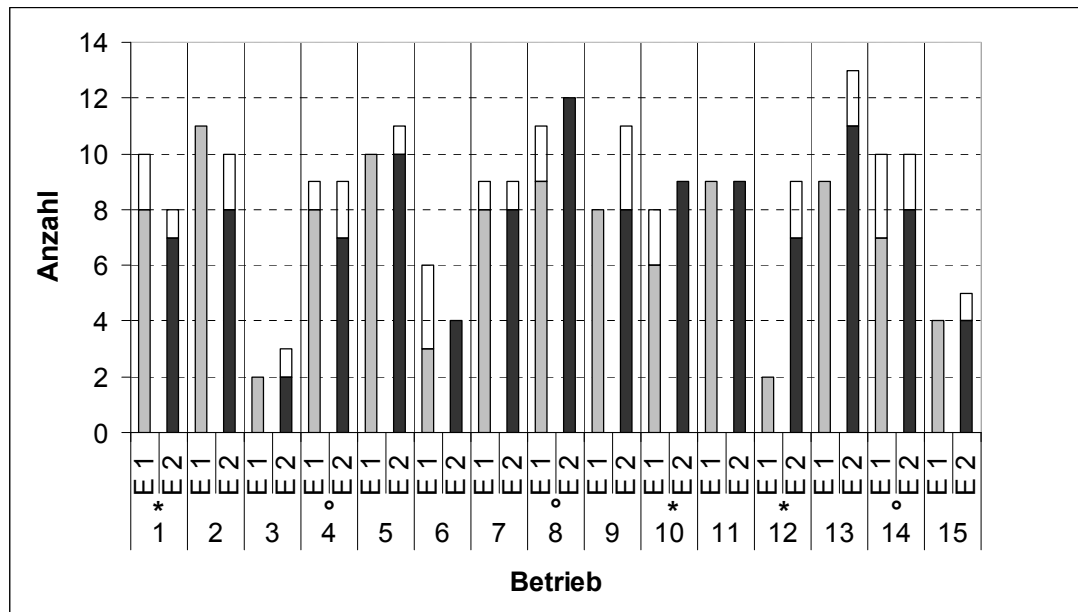
Tabelle 22: Nachweis chlamydienspezifischer Antikörper in gepaarten Seren mittels CHEKIT®-Chlamydia ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz). Die Darstellung der Untersuchungsergebnisse erfolgt getrennt nach Betrieben (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40

Betrieb	mind. 1 positives Ergebnis Anzahl Tiere (%)	positives Ergebnis im ELISA 1 Anzahl Tiere (%)	positives Ergebnis im ELISA 2 Anzahl Tiere (%)
*1	9 (60)	8 (53)	7 (50)
2	11 (73)	11 (73)	8 (53)
3	2 (13)	2 (13)	2 (13)
°4	8 (53)	8 (53)	7 (47)
5	10 (67)	10 (67)	10 (67)
6	4 (27)	3 (20)	4 (27)
7	10 (67)	8 (53)	8 (53)
°8	12 (80)	9 (60)	12 (80)
9	9 (60)	8 (53)	8 (53)
*10	9 (64)	6 (40)	9 (64)
11	10 (67)	9 (60)	9 (60)
*12	7 (50)	2 (13)	7 (50)
13	11 (73)	9 (60)	11 (73)
°14	9 (60)	7 (47)	8 (53)
15	4 (27)	4 (27)	4 (27)

° Chlamydienimpfung innerhalb von sieben Monaten vor der Beprobung

* ELISA 1: n=15; ELISA 2: n=14

In Abbildung 5 werden die Anteile an positiven und fraglichen Untersuchungsergebnissen in den verschiedenen Betrieben mithilfe gestapelter Säulen verdeutlicht.



° Chlamydienimpfung innerhalb von sieben Monaten vor der Beprobung

* ELISA 1: n=15; ELISA 2: n=14

Abbildung 5: Nachweis chlamydienspezifischer Antikörper im Serum von Probanden aus 15 Betrieben. Dargestellt werden die Untersuchungsergebnisse des CHEKIT®-Chlamydia ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) zu den zwei Entnahmezeitpunkten mithilfe gestapelter Säulen. Anzahl positiver Tiere (graue Säulen (1. Probennahme) und dunkelgraue Säulen (2. Probennahme)) sowie fraglich getesteter (weiß) Tiere

In Abbildung 6 wird der Anteil Probanden mit positivem, fraglichem und negativem ELISA-Testergebnis in Abhängigkeit vom Alter dargestellt (siehe auch Tabelle im Anhang A 18). Der Anteil positiver Testergebnisse war in der Gruppe der Jungtiere am geringsten und stieg mit zunehmendem Alter der Tiere an.

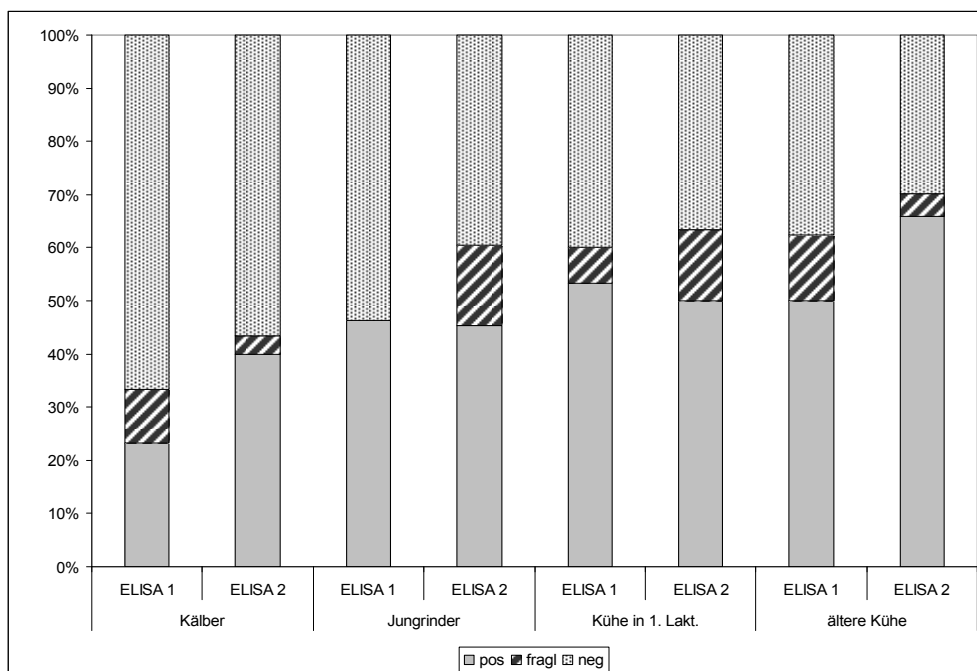


Abbildung 6: Nachweis chlamydienspezifischer Antikörper bei den Probanden in Abhängigkeit vom Alter. Dargestellt wird der Anteil negativer, fraglicher und positiver Ergebnisse im CHEKIT©-Chlamydia ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) anlässlich zweier Blutprobenentnahmen (ELISA 1, ELISA 2)

Abbildung 7 zeigt einen Vergleich zwischen den Untersuchungsergebnissen der Indextiere und den übrigen Probanden. Die Untersuchungsergebnisse blieben innerhalb der Gruppe der Indextiere bei der ersten und zweiten Beprobung konstant.

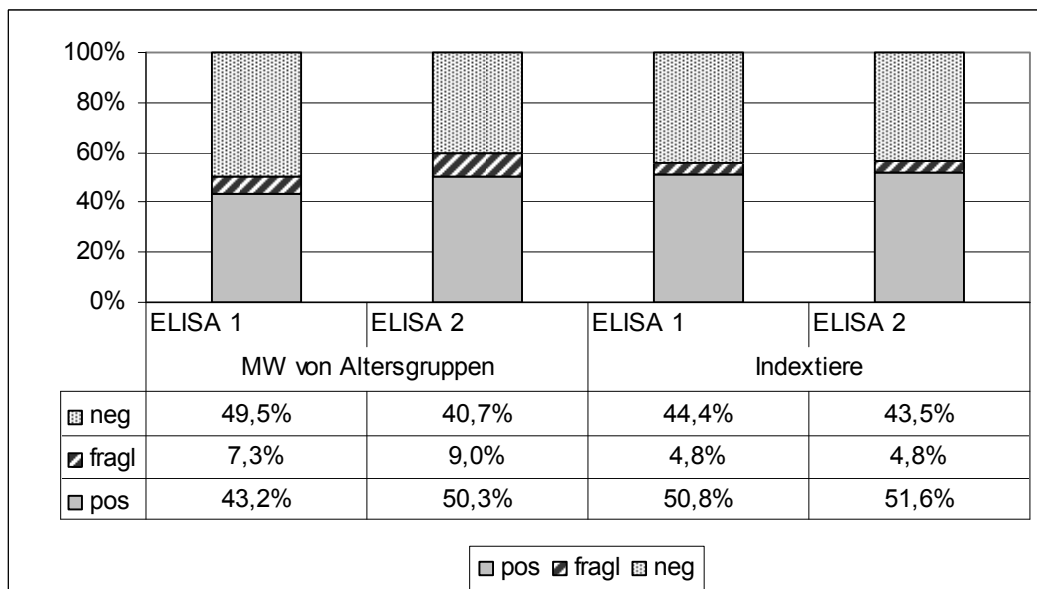


Abbildung 7: Anteile negativer, positiver und fraglicher Ergebnisse mittels CHEKIT©-Chlamydia ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) bei den Indextieren im Vergleich zu den übrigen Probanden (Mittelwert) anlässlich zweier Blutprobenentnahmen (ELISA 1, ELISA 2)

Tabelle 23 zeigt das Verhältnis zwischen positiven und negativen Testergebnissen im ELISA bezogen auf die einzelnen Tiergruppen. In der Gruppe der Kälber weist die Mehrheit der Tiere ein negatives Testergebnis auf; erst in den Gruppen der Kühe kehrt sich das Verhältnis zugunsten der positiv getesteten Tiere um.

Tabelle 23: Nachweis chlamydienspezifischer Antikörper mittels CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz). Dargestellt werden die Ergebnisse für die jeweilige Altersgruppe und für die Indextiere zum Zeitpunkt der ersten Probennahme (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40

	n	ELISA – 1. Serum		
		negativ (%)	positiv (%)	fraglich (%)
Kälber	30	20 (66,7 %)	7 (23,3 %)	3 (10,0 %)
Jungrinder	54	29 (53,7 %)	25 (46,3 %)	0
Kühe in 1. Lakt.	30	12 (40,0 %)	16 (53,3 %)	2 (6,7 %)
ältere Kühe	48	18 (37,5 %)	24 (50,0 %)	6 (12,5 %)
Indextiere	63	28 (44,4 %)	32 (50,8 %)	3 (4,8 %)
Gesamt	225	107 (47,6 %)	104 (46,2 %)	14 (6,2 %)

Tabelle 24 stellt die Ergebnisse der zweiten Probennahme dar, welche drei bis vier Wochen nach der ersten Beprobung erfolgte.

Tabelle 24: Nachweis chlamydienspezifischer Antikörper mittels CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz). Dargestellt werden die Ergebnisse für die jeweilige Altersgruppe und für die Indextiere zum Zeitpunkt der zweiten Probennahme (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40

	n	ELISA – 2. Serum		
		negativ (%)	positiv (%)	fraglich (%)
Kälber	30	17 (56,7 %)	12 (40,0 %)	1 (3,3 %)
Jungrinder	53	21 (39,6 %)	24 (45,3 %)	8 (15,1 %)
Kühe in 1. Lakt.	30	11 (36,7 %)	15 (50,0 %)	4 (13,3 %)
ältere Kühe	47	14 (29,8 %)	31 (66,0 %)	2 (4,3 %)
Indextiere	62	27 (43,5 %)	32 (51,6 %)	3 (4,8 %)
Gesamt	222	90 (40,5 %)	114 (51,5 %)	18 (8,1 %)

Betrachtet man die Anzahl Tiere, deren Ergebnis sich von der ersten zur zweiten Probennahme von negativ nach positiv geändert hat, ergibt sich für die Gruppe der Kälber mit $p < 0,01$ und für die Gruppe der älteren Kühe mit $p < 0,025$ ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Beprobungsterminen. Bei Einbeziehung der fraglichen Ergebnisse (Gruppe nicht negative Tiere) ergibt sich für die Gruppe der Jungrinder mit $p < 0,005$ ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen den Entnahmezeitpunkten.

4.1.4 Gemeinsame Auswertung der PCR- und ELISA-Ergebnisse

In Tabelle 25 sind die Ergebnisse des Antikörper ELISA- und der PCR-Untersuchungen abgebildet. In jeweils einer Spalte wurden alle negativen und alle Fälle, die in mindestens einem ELISA-Test ein positives Ergebnis hatten, zusammengefasst. In je einer Zeile wurden alle Tiere mit negativem PCR-Ergebnis und mit positivem PCR-Ergebnis an mindestens einem Entnahmeort dargestellt.

Von insgesamt 225 beprobten Tieren entfiel der größte und damit statistisch signifikante Anteil ($p < 0,05$) mit 76 Tieren (33,8 %) auf die Gruppe mit mindestens einem positiven Antikörper-ELISA-Test und negativem Nachweis von Chlamydienantigenen in der PCR. Bei 54 Tieren (24 %) konnten keine Chlamydienantikörper, jedoch Chlamydien spezifische DNA nachgewiesen werden. 49 Tiere (21,8 %) wiesen sowohl Chlamydienantikörper als auch Chlamydien-DNA auf und bei 46 Tieren (20,4 %) gelang weder der Nachweis von gegen Chlamydien gerichteten Antikörpern noch von chlamydienspezifischer DNA.

Tabelle 25: Vierfeldertafel der Ergebnisse der PCR-Untersuchungen und des CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz); ein PCR Ergebnis wurde als „positiv“ gewertet, wenn an mindestens einem Entnahmeort ein Nachweis erfolgte. Ein positives Testergebnis des ELISA zum ersten bzw. zweiten Entnahmezeitpunkt wurde ebenfalls als „positiv“ gewertet

			ELISA		Gesamt
			negativ	mindestens 1 positives Ergebnis	
PCR	negativ	Anzahl	46	76	122
		% der Gesamtzahl	20,4 %	*33,8 %	54,2 %
	mindestens 1 positives Ergebnis	Anzahl	54	49	103
		% der Gesamtzahl	24,0 %	21,8 %	45,8 %
Gesamt	Anzahl	100	125	225	
	% der Gesamtzahl	44,4 %	55,6 %	100,0 %	

* signifikant, $p < 0,05$

Bei Betrachtung der Untersuchungsergebnisse in den verschiedenen Altersgruppen fällt auf, dass im Jungtieralter der Anteil Tiere, in deren Probenmaterial chlamydien-spezifische DNA-Sequenzen nachgewiesen wurden höher ist als bei den erwachsenen Tieren (Abbildung 8), während in der zuletzt genannten Gruppe der Anteil Tiere überwiegt, der chlamydien-spezifische Antikörper aufweist. Beim Vergleich der Altersgruppen „Kälber“ und „ältere Kühe“ ergibt sich mit $p < 0,01$ im Hinblick auf die Untersuchungsergebnisse ein signifikanter Unterschied (siehe Abbildung 8, Tabelle A 27, im Anhang).

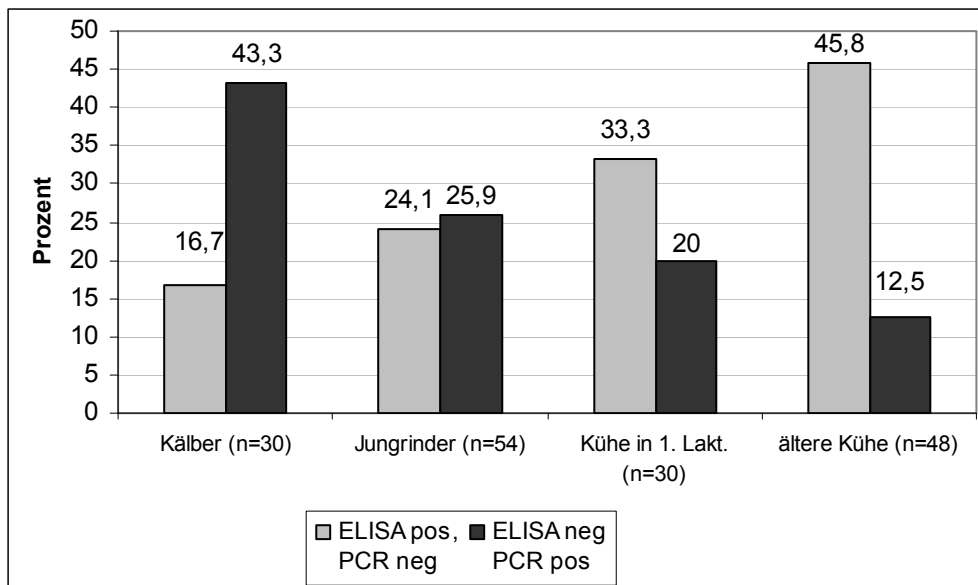


Abbildung 8: Anteil Probanden innerhalb der verschiedenen Altersgruppen, deren Untersuchungsergebnisse im Antikörper-ELISA und der PCR die Kombination „ELISA-negativ und PCR-positiv“ bzw. „ELISA-positiv und PCR-negativ“ aufweisen

Analog zur Abbildung 8 veranschaulicht Abbildung 9 den Anteil derjenigen Tiere, die innerhalb einer bestimmten Altersgruppe eine Kombination negativer bzw. positiver Befunde in der PCR und im Antikörper-ELISA aufweisen. Für diesen Aspekt ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Altersgruppen (siehe Tabelle A 28 im Anhang).

Beim Vergleich der Untersuchungsergebnisse von Indextieren und den übrigen Probanden ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied ($p > 0,05$, Abbildung 10; Tabelle A 29, siehe Anhang).

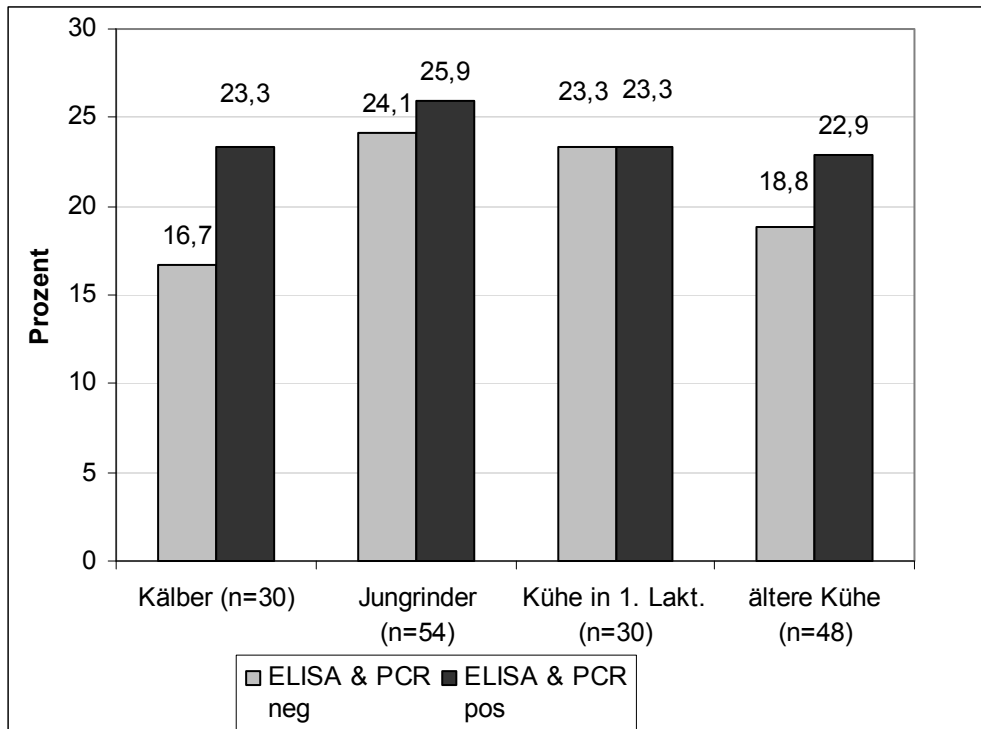


Abbildung 9: Anteil Probanden innerhalb der verschiedenen Altersgruppen, deren Untersuchungsergebnisse im Antikörper-ELISA und der PCR die Kombination „ELISA-negativ und PCR-negativ“ bzw. „ELISA-positiv und PCR-positiv“ aufweisen

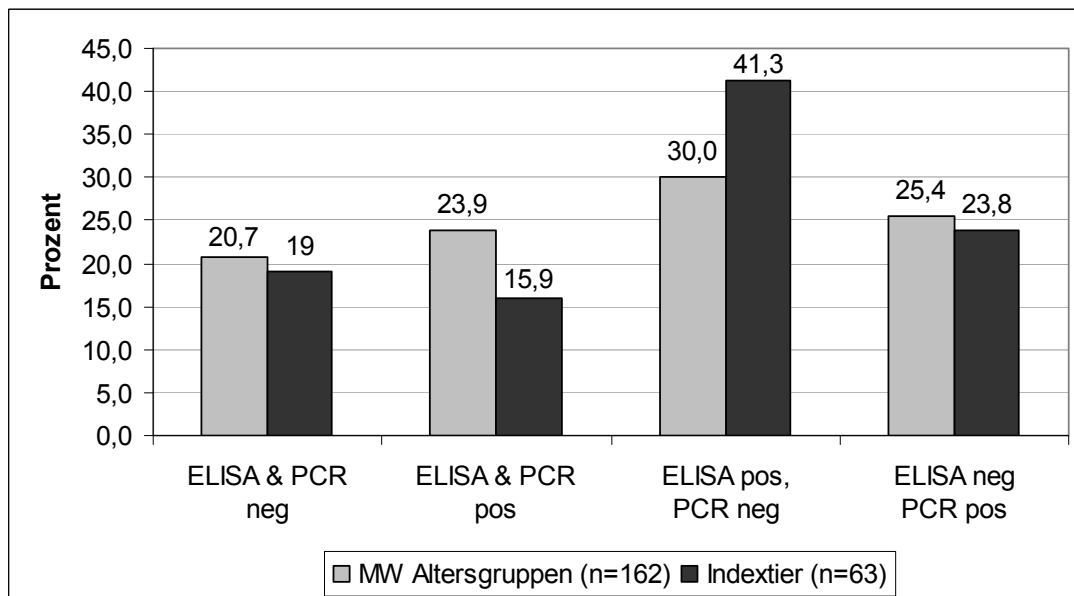


Abbildung 10: Vergleich der Untersuchungsergebnisse der PCR und des Antikörper ELISA in der Gruppe der Indextiere mit denen der übrigen Probanden. Dargestellt ist der Anteil der Tiere deren Untersuchungsergebnisse im Antikörper-ELISA und der PCR die folgenden Kombinationen aufweisen: „ELISA-negativ und PCR-negativ“,

„ELISA-positiv und PCR-positiv“, ELISA positiv und PCR negativ“, „ELISA negativ und ELISA positiv“

4.2 Auswertung der Betriebsmerkmale

Da die Betriebe 4, 8 und 14 bis sieben Monate vor der Beprobung eine Vakzination gegen Chlamydien durchgeführt hatten und sich durch diese Managementmaßnahme grundsätzlich von den anderen Betrieben unterschieden, wurden diese Betriebe bei der Betrachtung der Betriebsmerkmale nicht berücksichtigt.

Basierend auf den Laboruntersuchungen an den Probanden wurden die Betriebe entweder der Gruppe mit wenig Nachweisen chlamydienspezifischer Antikörper oder der Gruppe mit zahlreichen Nachweisen zugeordnet. Auf Basis der vorliegenden Untersuchungsergebnisse wurden die Betriebe mit weniger als 30 % positiv befundeten Tieren von Betrieben mit 60 % und mehr positiv befundeten Tieren (siehe Tabelle 22) unterschieden. Die Betriebe 3, 6 und 15 gehörten demnach der ersten Gruppe an, während die Betriebe 1, 2, 5, 7, 9, 10, 11 und 13 der zweiten Gruppe zugeordnet wurden.

Betrieb 12 konnte keiner der Gruppen zugeordnet werden, da es im Beobachtungszeitraum bei fünf Tieren zu einer Serokonversion kam. Der Leiter des Betriebes 12 verkaufte seine Kälber bereits seit mehreren Jahrzehnten an einen Viehhändler. Die Aufzucht erfolgte dann in Betrieben in Niedersachsen. Tragende Rinder wurden je nach Bedarf wieder von Betrieben aus Niedersachsen zugekauft. Von einem aktiven Geschehen kann in der Herde des Betriebes 12 ausgegangen werden. Bei der ersten Beprobung wurden nur zwei Tiere mit Antikörpern detektiert, während sich bei der zweiten Beprobung die Zahl positiver Ergebnisse auf sieben erhöhte. Zusätzlich wurden noch zwei fragliche Ergebnisse ermittelt. Zum Zeitpunkt der Beprobung des Betriebes wurden respiratorische Erkrankungen (Pneumonien), insbesondere bei den Kälbern, diagnostiziert und therapiert.

4.2.1 Ergebnisse des Vergleichs der Betriebscharakteristika in Betrieben mit hoher und niedriger Nachweisrate bei den Probanden in der direkten und indirekten Diagnostik

Bei den 15 Betrieben handelte es sich ausschließlich um Milchkuh haltende Betriebe im Vollerwerb mit integrierter Acker- und Weidelandnutzung. Betrieb 9 wurde als sog. „Ökobetrieb“ nach EG RL 1809/99 bewirtschaftet. Alle anderen Betriebe wurden konventionell bewirtschaftet. Der Ökobetrieb existiert seit dem Jahr 2000. Die Betriebe 7 und 8 wurden aufgrund des Braunkohleabbaus am Niederrhein im

Jahr 2000 und 2001 umgesiedelt. Auf allen Betrieben wurden Rinder der Rasse schwarz-bunte Holstein-Friesian gehalten.

In allen Betrieben wurde die Nachzucht selbst aufgezogen. Damit sorgten die Betriebsleiter für Remontierung aus dem eigenen Betrieb. In Betrieben mit niedriger Nachweisrate gab einer von drei Betriebsleitern an, zusätzlich Tiere zuzukaufen. In Betrieben mit hoher Nachweisrate kauften fünf der acht Betriebsleiter Tiere auf Auktionen zu.

Tabelle 26 gibt einen Überblick über Ergebnisse des Vergleichs von Betriebscharakteristika unter Berücksichtigung der Untersuchungsergebnisse. Die Betrachtungen erfolgen rein deskriptiv, da aufgrund der geringen Anzahl von Betrieben ($n \geq 2$) innerhalb der Gruppen eine statistische Bearbeitung nicht sinnvoll war.

Tabelle 26: Vergleich ausgewählter Betriebsmerkmale in Betrieben mit niedrigen (Anteil positiv getesteter Tiere < 30%) bzw. hohen Nachweisraten (Anteil positiv getesteter Tiere > 60%) von chlamydienspezifischer DNA und chlamydienspezifischen Antikörpern

Merkmal	PCR-Nachweis niedrig; (Betriebe 2 und 3); n=2	PCR-Nachweis hoch; (Betriebe 1 und 15); n=2	Antikörpernachweis niedrig; (Betriebe 3, 6 und 15); n=3	Antikörpernachweis hoch; (Betriebe 1, 2, 5, 7, 9, 10, 11 und 13); n=8
Herdengröße: Anzahl Milchkühe; MW, (Spannweite)	116 (101-130)	74 (67-81)	121 (81-152)	75 (29-174)
Liege-/Futterplätze: Verhältnis Anzahl Tiere : Anzahl Plätze; MW, (Spannweite)	0,68 (0,5-0,75)	0,93 (0,78-1,0)	0,74 (0,5-1,0)	0,95 (0,5-1,2)
Zukauf: Anzahl der Betriebe	0	2	1	5
Entmistungsverfahren Fallschieber: Anzahl der Betriebe	1	1	3	3
Stadtwasser: Anzahl der Betriebe	1	1	2	4
Zuchtbulleneinsatz: Anzahl der Betriebe	2	1	1	6

Merkmal	PCR-Nachweis niedrig; (Betriebe 2 und 3); n=2	PCR-Nachweis hoch; (Betriebe 1 und 15); n=2	Antikörper-nachweis niedrig; (Betriebe 3, 6 und 15); n=3	Antikörper-nachweis hoch; (Betriebe 1, 2, 5, 7, 9, 10, 11 und 13); n=8
Wildgänse auf Weideflächen: Anzahl der Betriebe	0	1	0	4

Legende: MW = Mittelwert

Betriebe mit niedriger Nachweisrate von chlamydien-spezifischen Antikörpern und DNA wiesen im Vergleich zu Betrieben mit höheren Nachweisraten einen größeren Tierbesatz auf. Das Verhältnis zwischen der Anzahl der Tiere und Anzahl der Liege- und Futterplätze war in Betrieben mit niedrigen Nachweisraten kleiner (0,7) als in den anderen Betrieben. In den Betrieben mit niedriger Nachweisrate von chlamydien-spezifischen DNA-Sequenzen bzw. Antikörpern wurde von den Betriebsleitern angegeben, keine bzw. einmal Tiere zugekauft zu haben. Hingegen kauften die Betriebsleiter beider Betriebe mit hoher Chlamydien-DNA-Prävalenz Tiere zu; in den Betrieben mit gehäuften Antikörpernachweisen wurden in fünf von acht Betrieben Tiere von Auktionen zugekauft.

In allen Betrieben mit niedriger Antikörpernachweisrate wurde mithilfe eines Faltschiebers entmistet. In fünf von acht Betrieben mit hoher Antikörpernachweisrate wurden die Milchkühe auf Teilspaltenböden mit Gülleentmistung gehalten; in drei Betrieben wurde hier ein Faltschieber eingesetzt. Der Vergleich von DNA-Prävalenz ergibt in den Betrieben hierzu kein einheitliches Bild.

In den beiden Betrieben mit niedriger DNA-Prävalenz sowie bei zwei der drei Betriebe mit niedriger Antikörpernachweisrate wurde mit Stadtwasser getränkt. In Betrieben mit hoher DNA- und Antikörpernachweisrate ergibt sich kein einheitliches Bild, es wird zur Hälfte Stadt- und zur anderen Hälfte Brunnenwasser genutzt.

Ein Zuchtbulle kam in beiden Betrieben mit geringen chlamydien-spezifischen DNA-Nachweisen zum Einsatz. Von den Betriebsleitern beider Betriebe mit hoher Nachweisrate von chlamydien-spezifischer DNA fallen die Antworten entgegengesetzt aus. In Betrieb 1 sorgte ein Bulle für die Nachzucht, in Betrieb 15 wurde künstlich besamt.

Die Betriebsleiter wurden zum Vorkommen von Wildgänsen auf ihren Weideflächen und am Hof befragt. Betriebsleiter der Betriebe mit niedrigen Nachweisraten von chlamydien-spezifischer DNA bzw. Antikörpern gaben an, keinen Wildgänsekontakt auf Hof und Weiden zu haben. Dagegen wurde von der Hälfte der Betriebsleiter von

Herden mit hoher DNA- und Antikörpernachweisraten ein Problem mit Wildgänsen auf den Hof- und Weideflächen beschrieben.

4.2.2 Ergebnisse des Vergleichs ausgesuchter Merkmale der Tiergesundheit in Betrieben mit hoher und niedriger Nachweisrate in der direkten und indirekten Diagnostik

Die folgende Tabelle enthält Informationen über die Durchführung von Impfungen gegen Chlamydien, IBR/IPV und BVD/MD in Betrieben mit definierten Antikörpernachweisraten sowie mit dem Nachweis von chlamydienspezifischen DNA-Sequenzen.

Tabelle 27: Vergleich der Ausprägung von Merkmalen des Tiergesundheitsmanagements in Betrieben mit niedriger bzw. hoher Prävalenz von chlamydienspezifischer DNA („DNA-Prävalenz“) und Chlamydienantikörpern.

Merkmal	PCR-Nachweis niedrig; (Betriebe 2 und 3); n=2	PCR-Nachweis hoch; (Betriebe 1 und 15); n=2	Antikörpernachweis niedrig; (Betriebe 3, 6 und 15); n=3	Antikörpernachweis hoch; (Betriebe 1, 2, 5, 7, 9, 10, 11 und 13); n=8
Impfung gegen Chlamydien (Zeitraum: länger als ein Jahr); Anzahl der Betriebe	1	1	1	4
Impfung gegen IBR/IPV; Anzahl der Betriebe	2	1	3	4
Impfung gegen BVD/MD; Anzahl der Betriebe	0	1	1	4

Von den drei Betrieben mit niedriger Antikörpernachweisrate führte ein Betrieb 24 Monate vor der Beprobung eine Chlamydienvakzination durch. Bei den anderen hier dargestellten Betrieben wurde jeweils bei genau der Hälfte der Betriebe eine Impfung gegen Chlamydien vorgenommen. In allen Betrieben mit niedriger Chlamydien-DNA- und Antikörpernachweisrate wurden Impfungen gegen BHV 1 durchgeführt. In denen mit hoher DNA- und Antikörpernachweisrate wurde jeweils bei genau der Hälfte der Betriebe pro Kategorie eine Impfung gegen BHV 1 durchgeführt.

Die Impfung gegen BVD/MD wurde in einem Betrieb mit niedriger Antikörpernachweisrate durchgeführt; kein Betrieb mit niedriger DNA-Prävalenz hatte diese Impfung durchgeführt. Die Hälfte der Betriebe mit hoher DNA- und Antikörpernachweisrate impften gegen BVD/MD.

4.2.3 Ergebnisse der Tierleistungsparameter im Durchschnitt aller Betriebe

Die Tierleistungsparameter wurden vom Landeskontrollverband Nordrhein-Westfalen erfasst und zur Verfügung gestellt. Aufgrund der geringen Anzahl der Betriebe kann hier eine statistische Auswertung der Daten mit dem Ziel des Vergleichs von Betrieben mit unterschiedlichen Nachweisraten nicht vorgenommen werden. Die Gesamtergebnisse der zur Verfügung gestellten Daten aller Betriebe werden in Tabelle 28 dargestellt. Sie dienen zum Vergleich der Ergebnisse mit den Untersuchungen von KEMMERLING et al. (2009).

Tabelle 28: Milchleistungsdaten (Mittelwerte und Standardabweichung) von Kühen auf den untersuchten Betrieben (n)

Variable	MW		± SD
Herdengröße, (n=15)	87,00	±	42,00
Milchmenge/Jahr (kg), (n=13)	8347,00	±	1021,00
Fettgehalt (%), (n=13)	4,13	±	0,33
Eiweißgehalt (%), (n=13)	3,37	±	0,15
Log Zellzahl (1000/kg Milch), (n=13)	5,38	±	0,26
Anzahl Laktationen/Jahr, (n=12)	1,84	±	0,47
Merzung/Jahr, (n=11)	23,73	±	14,82
BSI, (n=11)	1,80	±	0,40
Rastzeit, (n=10)	92,00	±	16,00
Güstzeit, (n=11)	131,00	±	27,00

Legende: BSI = Besamungsindex (Zahl der Besamungen je Trächtigkeit); MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung

4.3 Ergebnisse der Untersuchungen beim Menschen

In Zusammenarbeit mit der Universität Essen, Institut für Pathologie, und den Berufsgenossenschaftlichen Kliniken Bergmannsheil, Klinikum der Ruhr-Universität Bochum, Medizinische Klinik III (Pneumologie, Allergologie, Schlaf- und Atemwegsmedizin), fand die Untersuchung von „Personen mit Tierkontakt“ auf den teilnehmenden Betrieben statt. Zusätzlich zum durchgeführten Lungenfunktionstest wurden induzierte Sputumproben gewonnen sowie eine Blutprobe entnommen und auf Chlamydienantikörper untersucht. Die Ergebnisse der PCR-Untersuchung und der kulturellen Anzucht beim Menschen wurden zwecks Abgleich mit den Tierdaten von den oben genannten Instituten zur Verfügung gestellt (siehe Tabelle 29).

Die letzte Spalte dieser Tabelle bezieht sich auf die Angaben im Fragebogen; die Interviews wurden im Rahmen der Betriebsbesuche durchgeführt.

Die Response der kostenlosen Untersuchungen für die Probandinnen und Probanden lag bei 60 %; es waren insgesamt 20 Kontaktpersonen aus neun Betrieben vertreten. Die kulturelle Anzucht aus Probenmaterial wurde bei Kontaktpersonen aus drei Betrieben durchgeführt. In zwei Fällen, bei Kontaktpersonen aus den Betrieben 4 und 5, gelang die Chlamydienanzucht. Die PCR-Untersuchung wurde bei Proben aller teilnehmenden Kontaktpersonen durchgeführt. Der Nachweis von Chlamydien-DNA gelang bei fünf Kontaktpersonen aus den Betrieben 5 und 10. Bei zwei Kontaktpersonen des Betriebs 5 wurde *C. trachomatis* und *Cp. abortus* isoliert. Bei drei Kontaktpersonen des Betriebs 10 wurden Chlamydien diagnostiziert, davon zweimal *Cp. abortus* und einmal *Cp. psittaci*.

In der Tabelle 29 erscheint in der letzten Spalte ein „Ja“, wenn im Fragebogen mindestens drei Fragen zu aktuellen Beschwerden (Fließschnupfen, Nasenatmungsbehinderung, Husten, Auswurf, Dyspnoe und Atopie) mit „Ja“ beantwortet wurden.

Insgesamt gaben elf Personen im Interview an, zum Zeitpunkt der Befragung unter aktuellen Beschwerden wie Fließschnupfen, Nasenatmungsbehinderung, Husten, Auswurf, Dyspnoe und/oder Atopie zu leiden. Sechs dieser elf Personen waren Zigarettenraucher oder -raucherinnen. Bei drei Kontaktpersonen mit aktuellen Beschwerden gelang der Nachweis von chlamydienspezifischer DNA in der PCR bzw. die kulturelle Anzucht. Zwei Personen mit Beschwerden nahmen an der Untersuchung nicht teil. Bei der Befragung gaben 13 Personen an, dass sie aktuell nicht unter drei oder mehr Symptomen leiden. Von den 13 Personen gelang bei drei Personen der Nachweis von chlamydienspezifischer DNA, bei sechs Personen war dieser negativ. Vier Personen nahmen nicht an der Untersuchung teil.

Tabelle 29: Vergleich von Untersuchungsergebnissen der PCR und der Kultur in den Betrieben 1 bis 15 und bei Personen mit Tierkontakt sowie Darstellung der Ergebnisse des DNA Microarray und aktueller Beschwerden

Be- trieb	Rinder: PCR- Nachweis in %	Rinder: kultureller Nachweis	Lfd. Nr.	Mensch: Kultur	Mensch: PCR	Mensch: DNA- Mikroarray	Mensch: aktuelle Be- schwerden*
1	73	neg.	1	n. u.	neg.		Ja
2	27	neg.	1	neg.	neg.		Nein
			2	n. u.	neg.		Nein
3	20	<i>Cp.pecorum</i>	n. u.				Nein
4	100	n. u.	1	neg.	neg.		n. b.
			2	n. u.	neg.		Ja (Raucher/in)
			3	pos.	neg.	k. A.	Ja (Raucher/in)
			4	neg.	neg.		n. b.
5	40	<i>Cp.pecorum</i>	1	n. u.	neg.		Ja (Raucher/in)
			2	pos.	pos.	<i>C. tracho- matis, Cp. abortus</i>	Nein
			3	neg.	pos.	<i>C. tracho- matis, Cp. abortus</i>	Ja
6	40	n. u.	1	n. u.	neg.		Nein
			2	n. u.	neg.		Nein
7	53	n. u.	n. u.				Ja (Raucher/in)
8	13	n. u.	1	n. u.	neg.		Ja (Raucher/in)
9	40	<i>Cp.pecorum</i>	n. u.				Nein
10	47	n. u.	1	n. u.	pos.	<i>Cp. abortus</i>	Nein
			2	n. u.	pos.	<i>Cp. abortus</i>	Nein
			3	n. u.	pos.	<i>Cp. psittaci</i>	Ja
11	33	n. u.	n. u.				Ja
12	40	n. u.	1	n. u.	neg.		Ja
			2	n. u.	neg.		Nein
13	53	n. u.	n. u.				Nein
14	7	n. u.	n. u.				Nein
15	100	n. u.	1	n. u.	neg.		Nein
			2	n. u.	neg.		Ja (Raucher/in)

Legende: n. u. = nicht untersucht; n. b. = nicht bekannt;

* „Ja“, wenn im Fragebogen mindestens drei Fragen zu aktuellen Beschwerden (Fließschnupfen, Nasenatmungsbehinderung, Husten, Auswurf, Dyspnoe und Atopie) mit „Ja“ beantwortet wurden.

5 DISKUSSION

Mit Hilfe einer retrospektiven Analyse von im Rahmen des „Sonderprogramms Verbraucherschutz“ des Landes Nordrhein-Westfalen generierten Daten, welche aus den Jahren 2004 und 2005 stammten, sollten die folgenden Fragen beantwortet werden:

- Lassen sich in Probenmaterial von Tieren, die aus ausgewählten Problembetrieben stammen Chlamydien mittels PCR nachweisen?
- Lassen sich in Sera von den Probanden aus den Problembetrieben in NRW gegen Chlamydien gerichtete Antikörper nachweisen, und/oder kommt es im Beobachtungszeitraum zu einer Serokonversion?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen den Untersuchungsergebnissen und dem Alter der Probanden?
- Lassen sich bei so genannten Indextieren, das sind Tiere, die Symptome aufweisen, welche in der Literatur in Zusammenhang mit Chlamydieninfektionen beschrieben werden, Infektionen mit Chlamydien nachweisen?

Ein Teilaspekt des Projektes widmet sich der Frage nach dem Bezug zwischen Chlamydieninfektionen beim Tier und Gesundheitsproblemen bei Landwirten aus den an der Studie teilnehmenden Betrieben.

5.1 Nachweis von chlamydien-spezifischen DNA-Sequenzen und Antikörpern im Probenmaterial von Rindern aus Problembetrieben

Die Prävalenz von Chlamydien in Rinder haltenden Betrieben wird weltweit als hoch eingeschätzt (CAVIRANI et al., 2001; VLAHOVIĆ et al., 2001; WANG et al., 2001; JEE et al., 2004). Die Methoden, die in den jeweiligen Untersuchungen zum Nachweis von Chlamydieninfektionen eingesetzt werden sowie die Auswahl der Probanden („Fallgruppe“ und/oder „Kontrollgruppe“, Altersunterschiede) und der Betriebe („Problembetriebe“ vs. „Zufallsauswahl“) variieren in den Studien jedoch stark, sodass ein direkter Vergleich der aus ihnen generierten Daten schwierig ist (siehe auch Übersicht Tabelle 3). Darüber hinaus variiert die Spezifität und Sensitivität der verschiedenen Testsysteme derart, dass auf Basis solcher Untersuchungen keine allgemeingültigen Aussagen getroffen werden können.

In der vorliegenden Studie wurde im Probenmaterial von zufällig ausgewählten, klinisch gesunden Probanden und so genannten Indextieren verschiedener Altersgruppen, die von 15 Milchkühe haltenden Betrieben in NRW stammten, sowohl

chlamydien-spezifische DNA nachgewiesen, als auch chlamydien-spezifische Antikörper. Von den 15 Milchkuhe haltenden Betrieben konnte in allen Betrieben ein Hinweis auf die Anwesenheit von Chlamydien entweder über den Nachweis chlamydien-spezifischer DNA-Sequenzen oder von spezifischen Antikörpern generiert werden. In den verschiedenen Betrieben unterschied sich jedoch der Anteil positiv getesteter Probanden stark voneinander. So betrug der Anteil an Tieren mit positiven Testergebnissen je nach Bestand für die PCR zwischen 6,7% und 100% und für den Antikörper-ELISA zwischen 13% und 80%. In einem Betrieb konnte im Laufe der Beobachtungsperiode bei fünf Tieren eine Serokonversion festgestellt werden, was zumindest darauf schließen lässt, dass sich die Tiere in diesem Zeitraum mit Chlamydien auseinandergesetzt haben.

Untersuchungsergebnisse, die sich auf den Nachweis von Chlamydienantigenen oder chlamydien-spezifischen DNA-Sequenzen beziehen, liegen für Deutschland unter anderem für Milchkuhe haltende Betriebe Nordrhein-Westfalens vor. Von zufällig ausgewählten Betrieben wurde bei 13,5 % (n=1074) aller mittels Vaginaltupfer beprobten Tiere chlamydien-spezifische DNA nachgewiesen; die Prävalenz bei den 100 in die Studie eingeschlossenen Herden lag bei 61 % (KEMMERLING et al., 2009). In Vaginal- und Cervix-tupferproben von Milchkuhen aus Österreich wurde eine Prävalenz von 11 % (n=544) ermittelt (PETIT et al., 2008). In 56 Cervix- und Vaginaltupferproben wurde *Cp. pecorum* und in drei Cervix-tupferproben wurde *Cp. abortus* nachgewiesen. KAUFFOLD et al. (2007) untersuchten Bullen von sechs verschiedenen Besamungsstationen auf Chlamydien und wiesen je nach Probenmaterial (Sperma, Präputialsputprobe, Faezes) eine Prävalenz von 9,2 % bis 18 % nach; in Probenmaterial von allen Besamungsstationen wurde chlamydien-spezifische DNA nachgewiesen. Eine vergleichbare Untersuchung auf Ebene der Einzeltiere (Bullen) ergab eine Prävalenz von 6,6 % (20 positive Untersuchungsergebnisse bei 304 Untersuchungen) (TEANKUM et al., 2007). In beiden Veröffentlichungen wird auf das Risiko der Erregerübertragung hingewiesen, welches von potenziellen Trägertieren mit intermittierender Erregerausscheidung ausgehen könnte.

Die Hypothese, dass die Prävalenz von Chlamydien in Betrieben, die aufgrund der Betriebshistorie vorselektiert werden (sogenannte „Problembetriebe“), höher liegt als in zufällig ausgewählten Betrieben (PETIT et al., 2008; KEMMERLING et al., 2009), kann anhand der hier vorliegenden Studienergebnisse nicht bestätigt werden. Bei Berücksichtigung mindestens eines positiven PCR-Ergebnisses je Tier wurde in der vorliegenden Studie eine Einzeltierprävalenz von 45,8 % ermittelt. Ein vergleichbares Ergebnis (49 %) wurde in einem Betrieb mit Verdacht auf chlamydien-assoziierte Erkrankungen nachgewiesen (BIESENKAMP-UHE et al.,

2007). Im Zusammenhang mit den eigenen Untersuchungen muss jedoch festgestellt werden, dass sich die Probennahme in den jeweiligen Betrieben nicht auf eine repräsentative Stichprobe bezog, sondern auf eine begrenzte Anzahl zufällig ausgewählter Probanden und der so genannten Indextiere. Zum besseren Vergleich der Studien müssen hier jedoch die untersuchten Probenmatrizes berücksichtigt werden. Bei den Untersuchungen von BIESENKAMP-UHE et al. (2007) gingen je Tier eine Konjunktival-, Vaginal- und Milchprobe in die Prävalenzberechnung ein. In der Studie von KEMMERLING et al. (2009) wurden dagegen ausschließlich Vaginaltupfer untersucht, die von laktierenden Rindern stammten. Berücksichtigt man in der hier vorliegenden Studie ausschließlich die Vaginaltupfer von Rindern ab der ersten Laktation, dann liegt die Prävalenz für chlamydienspezifische DNA-Sequenzen in diesem Probenmaterial bei 16,7 % (13 von 78 Tieren, Abbildung 3), was in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von KEMMERLING et al. (2009) (13, 5 %) ist.

Verschiedene Autoren sprechen im Zusammenhang mit Einzeltierprävalenzen von der „wahren“ Prävalenz. Sie verstehen darunter, dass unter Berücksichtigung einer geringen Sensitivität des Testsystems (im Falle von Chlamydien zum Beispiel Antikörpertests oder der Nachweis mittels Zellkultur) sowie aufgrund von intermittierender Erregerausscheidung, die Nachweisraten bei den Tieren höher werden, je häufiger eine Probe entnommen und untersucht wird und je mehr Lokalisationen für die Probennahme zur Verfügung stehen (DE GRAVES et al., 2003; REINHOLD et al., 2008 a). Hierzu wird insbesondere vor dem Hintergrund unterschiedlicher Studiendesigns und diagnostischer Methoden festgestellt, dass negative Befunde sowohl von Herden als auch von Einzeltieren keinen Beweis für die Abwesenheit des Erregers darstellen.

Auch wenn der praktizierende Tierarzt mit der PCR-Methode aus oben genannten Gründen zufrieden sein kann, stellt sich die Lage für den Diagnostiker aufgrund der fehlenden Standardisierung und der unzureichenden Validierung des Verfahrens als problematisch dar. In der Humanmedizin wurden Validierungsstudien zum Nachweis von Chlamydien durchgeführt. Kein Verfahren erreichte vergleichbare Sensitivitätswerte gegenüber der PCR (NEWHALL et al., 1999). So wurden in der Zellkultur 60-80 % der Sensitivität im Vergleich zur PCR erzielt, in der Immunhistologie 50-80 %, die Mikroimmunfluoreszenz erzielte 62-75 % und die Enzym-Immunoassays 62-75 %.

SACHSE et al. ziehen im Jahr 2009 die Konsequenzen aus ihren Studienergebnissen und schlagen mit Blick auf steigende Anforderungen an die Aussagekraft, Schnelligkeit und den Durchsatz der Probendiagnostik als alternativen Goldstandard

die Kombination zweier voneinander unabhängiger DNA-Testsysteme vor. Die Real-Time-PCR ist insbesondere aufgrund ihrer Sensitivität und Spezifität für eine quantitative Analyse gut geeignet. Eine Unterscheidung zwischen Spezies und Stämmen gelingt mit ihr jedoch nicht. Hier greift die Diagnostik, die auf DNA-Microarray Technologie basiert. Dabei werden die exakten Nukleotidsequenzen der Zielregionen bestimmt. Die Methode weist eine sehr hohe (annähernd 100 %) Spezifität auf (SACHSE et al., 2009). Die Sensitivität liegt mit 87 % jedoch niedriger als die der Real-Time-PCR (BOREL et al., 2008).

KEMMERLING et al. führten im Jahr 2005 eine Studie an 1074 Kühen von 100 Betrieben Nordrhein-Westfalens durch (KEMMERLING et al., 2009). Vaginaltupfer wurden mittels Real-Time-PCR untersucht. Hier machte man sich die hohe Sensitivität der Real-Time-PCR zunutze. 95 von 145 positiven Proben wurden mithilfe der nested PCR nach KALTENBOECK et al. (1997), modifiziert nach SACHSE und HOTZEL (2002), erfolgreich weiter spezifiziert.

Da in der Planungsphase der hier dargestellten Studie die DNA-Microarray-Technik noch nicht zur Verfügung stand, erfolgte im Einzelfall die weitere Differenzierung der Chlamydien über die Zellkultur. Dabei erfolgte aus dem Probenmaterial, in welchem zuvor mittels PCR chlamydienspezifische DNA-Sequenzen nachgewiesen worden waren, der Nachweis der folgenden Chlamydienspezies: Bei Tieren aus den Betrieben 3, 5 und 9 (PCR-Nachweise in Material aus Konjunktival-, Nasen- und Vaginaltupferproben) gelang die Differenzierung des Stammes *Cp. pecorum*. JEE et al. (2004) gelang der Nachweis von *Cp. pecorum* in den Vaginaltupfern von Kälbern sowie der Nachweis von *Cp. abortus* aus Nasentupfer- und Kotproben. In 544 Vaginal- und Zervixtupferproben gelang dreimal der Nachweis von *Cp. abortus* und 56-mal der Nachweis von *Cp. pecorum* (PETIT et al., 2008). REINHOLD et al. (2008 a) wiesen in Probenmaterial, welches dem Gastrointestinaltrakt entstammte vor allem *Cp. pecorum* nach, während im Probenmaterial, welches aus dem Respirationstrakt oder und von Konjunktivaltupfern stammte hauptsächlich *Cp. abortus* isoliert wurde. JONES beschreibt 1997 eine durch *Cp. pecorum* verursachte Polyarthritus des Rindes und des Schafes. Beim jungen Schaf tritt die Erkrankung enzootisch auf („stiff lamb disease“) und ist häufig mit einer Konjunktivitis vergesellschaftet. Die Betriebsleiter der Betriebe 3 und 5 haben beim Interview besonders auf das Vorkommen von Lahmheiten und Gelenkserkrankungen in ihren Betrieben hingewiesen. In solchen Betrieben sollte mithilfe weiterführender Untersuchungen geklärt werden, ob den Erkrankungen des Bewegungsapparates eine Infektionskrankheit zugrunde liegt oder ob es sich nicht um Auffliegergeschäden verursacht durch ungeeignete Haltungsbedingungen handelt. Bei Tieren des Betriebes 3 wurden bei der klinischen Untersuchung zusätzlich Konjunktividen diagnostiziert,

deren Ursache es ebenso zu klären gilt. Hier kämen als Verursacher neben Chlamydien unter anderem verschiedene Viren (z.B. das Parainfluenza 3 Virus) oder Moraxellen in Betracht. Im Betrieb 9 gelang der Nachweis von *Cp. pecorum* bei den untersuchten Kälbern; eines dieser ca. drei Monate alten Kälber wurde in der Gruppe der Indextiere untersucht, da es starke respiratorische Symptome wie Husten, Atemgeräusche und eitrigen Nasenausfluss aufwies. Auffälliges Kennzeichen der untersuchten Tiere des Betriebes waren die Konjunktividen. Auch in diesem Fall müssen weiterführende Untersuchungen klären, ob andere Erreger als Chlamydien, z.B. die Erreger des Rindergrippekompleses, am Krankheitsgeschehen beteiligt sind.

KEMMERLING et al. (2009) konnten in Nordrhein-Westfalen nach quantitativer Identifizierung positiver Proben (145 von 1074) mithilfe der nested PCR die Chlamydienspezies bei 95 von 145 Proben differenzieren. 56 % der 95 Proben wurden *Cp. psittaci* zugeordnet, *Cp. abortus* wurde bei 36 % der Proben nachgewiesen und *Cp. pecorum* bei 8 %. Diese Ergebnisse lassen sich mit den in der vorliegenden Studie generierten Daten nicht bestätigen. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von KEMMERLING et al. (2009) wurde weder *Cp. psittaci* noch *Cp. abortus* nachgewiesen. Jedoch unterscheidet sich das Studiendesign insbesondere im Hinblick auf die Auswahl der Betriebe sowie qualitativer (Spezifizierungsmethode) und quantitativer (Anzahl der Proben zur Speziesdifferenzierung) Merkmale stark voneinander. Aussagen hinsichtlich der Herkunft und Bedeutung der nachgewiesenen Chlamydienspezies können aufgrund der geringen Anzahl differenzierter Chlamydienspezies im Rahmen dieses Monitorings nicht gemacht werden.

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass - insbesondere im Falle eines hohen Probenaufkommens - die Kultur zur Identifikation des Erregers wenig geeignet ist, da das Verfahren zeitaufwendig, kompliziert und fehleranfällig ist und zudem eine geringe Sensitivität aufweist.

Weltweite Untersuchungen zur **Seroprävalenz** von Chlamydien bei Einzeltieren ergeben kein einheitliches Bild. Eine Prävalenz von unter 10 % wurde aus Australien trotz Auswahl von Betrieben mit Abortproblematik (3,1 %, 37/1004; NORTON et al., 1989) sowie aus der Türkei (8 %; 16/192; GOKCE et al., 2007) gemeldet. Die Herdenprävalenz in 27 getesteten türkischen Rinderherden betrug 27 %. Mehr als doppelt so hoch war die Einzeltierprävalenz in Nordostdeutschland, mit 20 % von 240 zufällig ausgewählten Tieren und einer Herdenprävalenz von 90 % (18/20 Herden; ABD EL-RAHIM, 2002). Die Einzeltierprävalenz in hessischen Be-

trieben wurde mit 41,5 % angegeben (n=445 Tiere; WEHREND et al., 2005) und in Baden-Württemberg mit 33 % (n=617 Tiere) bzw. 81 % von 123 Milchviehbeständen (STING, 1997). Für Bullen von sechs Besamungsstationen wurde eine Einzeltierprävalenz von 51 % ermittelt (KAUFFOLD et al., 2007).

Bei der Betrachtung der hier ermittelten Seroprävalenzen muss die Impfstrategie in Bezug auf Chlamydien berücksichtigt werden. In den Betrieben 4, 8 und 14 wurde, mit Ausnahme von Kälbern und Jungrindern, innerhalb des letzten halben Jahres vor der Probengewinnung im Rahmen dieser Studie auf Anraten des TGD NRW eine Impfung mit einer inaktivierten Chlamydienvakzine durchgeführt, sodass die Anwesenheit von Antikörpern in diesen Betrieben auch über die durch die Impfung hervorgerufene humorale Immunantwort zustande kommen konnte. Die Seroprävalenz in den Betrieben 4 und 14 lag für die jeweils 15 untersuchten Tieren bei 53 bzw. 60 %. In Betrieb 8 konnten im zweiten ELISA nach drei Wochen drei zusätzliche Tiere mit positivem Antikörpernachweis detektiert werden. Diese Tiere hatten im ersten ELISA fragliche Ergebnisse (2) bzw. ein negatives Ergebnis. Die Herde wies eine Seroprävalenz von 80 % auf.

Die eigenen Ergebnisse spiegeln die hohen Nachweisraten sowohl von Chlamydienantikörpern als auch von -antigen innerhalb Deutschlands wider. Beim Vergleich von Methodik und Ergebnissen der in der Literatur beschriebenen Prävalenzuntersuchungen (siehe Tabelle 3) erscheinen die eigenen Befunde aufgrund folgender wichtiger methodischer Auswahlkriterien im Studiendesign plausibel:

- bereits bei der Auswahl der Betriebe wurde von einer hohen Prävalenz ausgegangen,
- die Anzahl der untersuchten Tiere mit n = 15 pro Betrieb/Herde war, verglichen mit in der Literatur beschriebenen Untersuchungen, hoch, sodass die Wahrscheinlichkeit größer war, mindestens ein positives Tier pro Herde zu ermitteln,
- pro Tier wurde für die Untersuchung auf chlamydien-spezifische DNA-Sequenzen Probenmaterial von vier verschiedenen Lokalisationen gewonnen,
- es wurden verschiedene Altersgruppen eingeschlossen und
- es wurden zwei unterschiedliche Diagnostikverfahren (PCR und Antikörper-ELISA) angewendet.

Literaturangaben zu Prävalenzunterschieden zwischen Tieren mit und ohne Abortproblematik variieren. So wurde im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie in Italien in Betrieben ohne Abortproblematik eine Seroprävalenz von 24 % ermittelt, gegen-

über 45 % in Betrieben mit Abortproblemen (CAVIRANI et al., 2001). MARTINOV (1984) konnte in bulgarischen Herden ohne Abortproblematik keine spezifischen Antikörper nachweisen, während für 55 Betriebe mit Abortproblematik eine Seroprävalenz zwischen 23,5 % und 70 % ermittelt wurde. Mit dem CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) wurden in Schweden in 28 % der Fälle positive Serumproben bei insgesamt 525 untersuchten Tieren detektiert. Die getrennte Auswertung von Fällen (Tiere mit Reproduktionsstörungen, insbesondere zurückliegende Aborte) und Kontrollen (Tiere mit normalem Trächtigkeitsverlauf und Geburten ohne besonderen Befund) ergab keine Prävalenzunterschiede, jedoch wurden sowohl Fälle als auch Kontrolltiere aus selektierten 70 Herden mit Reproduktionsstörungen rekrutiert (GODIN et al., 2008). Auch Untersuchungen aus Österreich konnten keinen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Chlamydienantikörpern und Endometritis, Vaginitis oder Abortproblematik belegen (PETIT et al., 2008).

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse sollte durch weitere Untersuchungen geklärt werden, ob in Betrieben, in denen bislang kein Chlamydiennachweis gelang, durch Auswahl einer größeren Probenanzahl, z. B. durch die Beprobung eines größeren Tierkollektivs, durch Einbeziehung aller Altersgruppen sowie die Auswahl von weiteren Entnahmeorten für die Probengewinnung (Nasenschleimhaut, Konjunktiven, Kot, etc.), der Nachweis von Chlamydien gelingt. Hierfür sind beispielsweise speziell die von KEMMERLING et al. (2009) ohne Hinweis auf Präsenz des Erregers untersuchten 39 Betriebe geeignet. Des Weiteren wäre in den hier angesprochenen Betrieben zur Beurteilung des Antikörperstatus eine Aussage zur Seroprävalenz relevant.

Bei dem verwendeten Antikörper-ELISA (CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz)) handelt es sich um einen Test für den Nachweis von Antikörpern gegen *Cp. abortus* im Blutserum und -plasma von Rindern, Schafen und Ziegen. Der Test basiert auf lipopolysaccharidhaltigen inaktiviertem Antigen, welches ursprünglich aus Schafabortmaterial isoliert wurde. Der ELISA erzielt laut Herstellerangaben bei 89-95 % der infizierten Tiere ein positives Testergebnis (Sensitivität), und alle nicht-infizierten Tiere erhalten ein negatives Testergebnis (Spezifität 100 %). In zwei Studien wurde über eine Kreuzreaktion mit *Cp. pecorum* bei experimentell infizierten Lämmern berichtet (VRETOU et al., 2007; WILSON et al., 2009). Die Sensitivität und Spezifität betrug in diesen beiden Studien 73,3/85,5 % und 96,3/96,2 % und liegt damit etwas niedriger als die Angaben des Herstellers. Aufgrund dieser Kreuzreaktionen wird die Interpretation der Testergebnisse erschwert, insbesondere wenn Rinder mit den oben genannten Chlamydienarten gleichzeitig infiziert sind.

Laut SACHSE et al. (2004) ist der Einsatz serologischer Methoden dadurch begrenzt, dass eine Antikörperbildung nicht oder erst relativ spät nach der Infektion nachweisbar ist. Bei latenten Infektionen bleibt der Antikörpertiter generell niedrig, sodass die ohnehin hohe Durchseuchungsrate eine Interpretation der Daten erschwert. Im Rahmen einer Untersuchung an Kälbern (STORZ und KRAUSS, 1985) waren erste Chlamydienantikörper erst nach 43-57 Lebenstagen nachweisbar.

Bei der Auswahl eines geeigneten Antikörpertests im Studiendesign müssen Schwachstellen in Bezug auf die Sensitivität und Spezifität serologischer Tests berücksichtigt werden. Hierbei spielen die klinische und die epidemiologische Situation vor Ort sowie die Anwendung für Einzeltier- oder Herdendiagnostik eine entscheidende Rolle. Nutzt man den CHEKIT[®]-*Chlamydia*-ELISA zur Einzeltierdiagnose, dann bedeutet dies, dass 5 % der positiven Tiere nicht erkannt werden. Für eine Einzeltierdiagnose ist das nicht akzeptabel. Hier ist die Kombination mit einer PCR in Erwägung zu ziehen. Für die Herdendiagnostik sollte beachtet werden, dass sich die Stichprobengröße reduzieren lässt, und zwar umso höher die (geschätzte) Prävalenz, Testsensitivität und -spezifität ist.

Durch die hier vorliegenden Untersuchungen sowie weitere bekannte Prävalenzuntersuchungen konnte die Eignung des ausgewählten Antikörpertests für den Nachweis unspezifischer Chlamydienantikörper insbesondere für epidemiologische Studien mit größerem Gesamtkollektiv festgestellt werden (CAVIRANI et al., 2001; VLAHOVIĆ et al., 2001; WANG et al., 2001; ABD EL-RAHIM, 2002; NIEMCZUK, 2005; KAUFFOLD et al., 2007; GODIN et al., 2008; PETIT et al., 2008).

Der Vorteil der Kombination von direkten und indirekten Nachweisverfahren in einem Kollektiv wie dem hier untersuchten ist, dass durch die Summe der positiven und negativen Testergebnisse ein Gesamtbild über den Chlamydienstatus der Einzeltiere und Herde(n) entsteht, unabhängig

- vom Stadium der Erkrankung (akut, chronisch),
- davon, wie lange die Erkrankung zurückliegt,
- von der (geschätzten) Prävalenz,
- vom Alter der untersuchten Tiere und
- von der Ausscheidungsrate der Chlamydien (z. B. intermittierende Ausscheidung).

5.2 Abhängigkeit der Chlamydiennachweise vom Probenmaterial

In der vorliegenden Studie betragen die Nachweisraten für chlamydien-spezifische DNA-Sequenzen in der PCR in den verschiedenen Matrices (Konjunktivaltupfer, Vaginaltupfer, Nasentupfer und Milchproben) zwischen 13 % und 24 %. Von allen Probenmatrices war die Wahrscheinlichkeit, positive Resultate zu erhalten, bei Nasentupferproben am höchsten, gefolgt von Scheidenabstrichen, Konjunktivalproben und Milchproben.

HELMUTH und SACHSE (2000) wiesen darauf hin, dass mit der hohen Sensitivität der PCR auch eine hohe Anfälligkeit für Kontaminationen einhergehen kann. Mögliche Kontaminationen können zum einen bei der Probenentnahme und zum anderen beim Probenhandling im Labor eine Rolle spielen. In dieser Studie konnte ein Kontaminationsproblem, welches auf die Probenherkunft oder Probenmatrix zurückzuführen wäre, nicht untermauert werden. Berechnet man von allen Matrices mit Nachweis von Chlamydien-DNA die Anteile der Proben, die mindestens einen weiteren positiven Chlamydien-DNA-Nachweis erbrachten, so ist zwischen den Lokalisationen kein nennenswerter Unterschied erkennbar. Bei Probanden mit positiven Konjunktivalproben liegt der Anteil zusätzlicher positiver Nachweise (in einer anderen Probenmatrix) bei 57 %, bei positiven Vaginalproben bei 58 %, der Anteil der Tiere mit positiven Milchproben bestätigt sich in einer weiteren positiven PCR bei 59 %. Bei den Nasentupfern wurde der höchste Anteil mit 60 % positiv getesteter Proben in einer weiteren PCR ermittelt. Erwartungsgemäß ist der Verschmutzungsgrad bei Konjunktivaltupferproben, insbesondere mit Kot, am geringsten. Hier könnte vom geringsten Anteil an falsch-positiven PCR-Ergebnissen ausgegangen werden. Jedoch werden die positiven Ergebnisse nicht signifikant häufiger als in Proben aus anderen Lokalisationen bestätigt. Umgekehrt wurde bei stark kontaminationsgefährdeten Probenahmelokalisationen, wie z. B. bei Vaginaltupferproben kein geringeres Risiko für eine weitere positive PCR ermittelt.

Die Entnahme und Untersuchung von Proben aus mehreren Lokalisationen je Tier erhöht die Belastbarkeit der Aussage bezüglich des Chlamydien-Einzeltierstatus und sollte insbesondere bei der Abklärung klinischer Befunde an Einzeltieren bevorzugt werden.

Für Prävalenzuntersuchungen eignet sich die Untersuchung von Proben aus nur einer einzigen Probenlokalisierung, beispielweise aus der Scheide, nur bedingt, da sie nicht die „wahre Prävalenz“ angeben. Zur Differenzierung der Chlamydien-spezies in weiterführenden Verfahren (z. B. nested PCR, Microarray) eignet sich der Vaginalabstrich als Probenentnahmeort. Aufgrund der einfacheren und schonenderen Probenentnahme ist dieser dem Nasenabstrich vorzuziehen.

5.3 Einfluss des Alters der Tiere

Bezogen auf die untersuchten Altersgruppen wurden mithilfe der PCR-Diagnostik in Nasentupfern der Jungtiere (Kälber und Jungrinder) sowie in den Scheidentupfern von Kälbern verglichen mit der Gruppe der älteren Milchkühe signifikant höhere Nachweisraten erzielt. Ähnliche Beobachtungen machten WITTENBRINK et al. (1993 b), denen es gelang, anlässlich einer einmaligen Beprobung in 42 von 190 Kälberkotproben (22,8 %) Chlamydien nachzuweisen. Bei Untersuchungen von 40 Mutter-Kalb-Paaren von JEE et al. (2004) wurden 61 % der Kälber und 20 % der Mütter in mindestens einer Probe mithilfe der PCR positiv getestet. Dabei wurden von den Kälbern Nasen-, Vaginal- und Rektaltupferproben entnommen und von den Müttern Vaginaltupferproben und Milchproben. JEE et al. fanden bei 61 % der Kälber positive DNA-Nachweise in Vaginaltupfern und bei 29,3 % in Nasentupfern. Bei den Müttern konnte bei 10 % in Vaginaltupfern sowie bei 15 % der Milchproben der Nachweis auf chlamydienspezifische DNA erbracht werden. Tendenziell stimmen die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit denen von JEE et al. überein. Berechnet man den Mittelwert für die DNA-Nachweise der Kühe ab der ersten Laktation, so liegt die Nachweisrate in Vaginaltupfern bei 16,7 %, in Milchproben bei 12,1 %. Die höheren Nachweisraten von Chlamydien-DNA in Vaginalproben bei Kälbern lassen jedoch nicht den Schluss zu, dass die Nachweisraten aus Vaginalproben aller Altersgruppen am höchsten sind. Insbesondere die Altersgruppe der Jungrinder, die zum ersten Mal besamt wurden, weist eine deutlich niedrigere Nachweisrate in den Vaginalproben als alle anderen Tiergruppen auf.

JEE et al. (2004) haben gezeigt, dass der Chlamydiennachweis bei Neonaten in aller Regel negativ verläuft. Die Kälber infizieren sich trotz über das Kolostrum aufgenommenen maternalen Antikörper in der ersten Lebenswoche mit Chlamydien. Die Autoren schlussfolgern aus diesen Beobachtungen, dass sich die Tiere insbesondere in der Phase, in der sie immunologisch naiv sind, in der Umwelt anstecken. Auch ohne vorherigen Sexualkontakt kommt es bereits im Kälberalter zu Vaginalinfektionen. In der hier vorliegenden Studie wurden die Kälber im Alter von bis zu einem halben Jahr beprobt. Eine weitere Differenzierung des Alters (nach Lebenswoche oder Monat) wurde nicht vorgenommen, was dazu führen kann, dass die Beprobung besonders junger Tiere keinen Chlamydiennachweis erbrachte.

REINHOLD et al. (2008 a) weisen in ihrer Arbeit auf die intermittierende Ausscheidung von Chlamydien hin. In einer Kälbergruppe mit erfolgtem Chlamydiennachweis im zweiten Lebensmonat konnten Chlamydien erst wieder im siebten Lebensmonat mithilfe der PCR nachgewiesen werden. In den Monaten drei bis sechs wurden signifikant weniger Chlamydien-DNA-Nachweise erbracht. Dies

fürte zu der Schlussfolgerung, dass ein einziger positiver Nachweis von Chlamydien-DNA nicht ausreicht, um einem Einzeltier den Status eines Chlamydienträgers zu geben. Die Probennahmen für die PCR wurden in der vorliegenden Studie nicht zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt, sodass anzunehmen ist, dass die Prävalenz für Chlamydien-DNA in Wirklichkeit noch höher liegt. Hierfür spricht ebenfalls die mit zunehmendem Alter ansteigende Seroprävalenz.

Sowohl KAUFFOLD et al. (2007) als auch TEANKUM et al. (2007) schlussfolgern aufgrund ihrer PCR-Ergebnisse aus Spermaproben (sowie Präputialspülproben und Kotproben) und den Antikörper-ELISA-Ergebnissen, dass keine Korrelation zwischen dem Nachweis chlamydienspezifischer DNA und dem Nachweis von Chlamydienantikörpern besteht. Abbildung 8 zeigt einen statistisch signifikanten inversen Zusammenhang zwischen den Tieren der verschiedenen Altersgruppen ($p < 0,01$) und den unterschiedlichen Nachweisverfahren: Während bei der Gruppe der Kälbern mit 43 % die höchste Nachweisrate für chlamydienspezifische DNA bei gleichzeitig negativem Antikörpertest zu verzeichnen ist, sinkt diese Nachweisrate in der nächstälteren Altersgruppe der Jungrinder auf 26 % und bei den Kühen in der ersten Laktation auf 20 %; und das niedrigste Niveau ist bei den älteren Kühen mit 12,5 % festzustellen. Umgekehrt wurden hohe Nachweisraten für Chlamydienantikörper ohne gleichzeitigen Nachweis von chlamydienspezifischer DNA bei den älteren Milchkühen mit 46 % ermittelt, bei den jüngeren Kühen mit 33 % und den Jungrindern mit 24 %, und bei den Kälbern erreichen sie dann einen Wert von knapp 17 %.

Dabei erscheint relevant, dass der Nachweis von chlamydienspezifischer DNA bei den jüngeren Tieren signifikant häufiger gelingt als bei älteren Tieren. Im Zusammenhang mit der hohen Nachweisrate für chlamydienspezifische DNA-Sequenzen und der niedrigen Seroprävalenz bei den Kälbern muss davon ausgegangen werden, dass Kälber aufgrund nicht ausreichender Protektion durch spezifische maternale Antikörper (Jee et al., 2004) mit im Betrieb zirkulierenden Chlamydien infiziert werden. Dies verdeutlicht einmal mehr die entscheidende Rolle der Betriebshygiene bei der Prophylaxe von Infektionskrankheiten.

5.4 Einfluss betriebsspezifischer Faktoren

Es wurde in allen Betrieben chlamydienspezifische DNA mittels PCR nachgewiesen. Bei 15 untersuchten Tieren in den Betrieben betrug die durchschnittliche Nachweisrate 46 %. Die niedrigste Nachweisrate wurde im Betrieb 14 mit einem Minimum von 7 % (entspricht dem Chlamydiennachweis bei einem Tier) ermittelt und die höchsten

Nachweisraten von 100 % in den Betrieben 4 und 15. In Untersuchungen von KEMMERLING et al. (2009) wurde bei 61 von 100 Betrieben mindestens ein positives PCR-Ergebnis erzielt. Als positiv wurde ein Betrieb bewertet, wenn mindestens eine untersuchte Probe von zehn beprobten Tieren einer Herde in der PCR positiv war.

In den Betrieben 4 und 8 wurde sieben, im Betrieb 14 dreieinhalb Monate vor der Beprobung eine Chlamydienvakzination durchgeführt. Deshalb wurden diese drei Betriebe aus den Gruppenvergleichen im Zusammenhang mit der Auswertung der Betriebsmerkmale ausgeschlossen. Des Weiteren konnte Betrieb 12 nicht in die Auswertung eingeschlossen werden, da in der Untersuchungsperiode bei fünf Tieren eine Serokonversion stattfand und dieser Betrieb nicht eindeutig den Betrieben mit hoher Seroprävalenz zugeordnet werden konnte.

Aufgrund der geringen Anzahl untersuchter Betriebe und der geringen ermittelten Prävalenzunterschiede können hier statistisch gesicherte Zusammenhänge zwischen Nachweisen von chlamydienspezifischen DNA-Sequenzen und Chlamydienantikörpern und betriebspezifischen Faktoren nicht hergestellt werden. Zufallsergebnisse sind nicht auszuschließen. Der Versuch, die Betriebe in Klassen mit niedrigen und hohen Prävalenzen einzuteilen, führt zu widersprüchlichen Aussagen.

Verschiedene hygienische Bedingungen werden als begünstigend für die Ausbreitung von Chlamydien angesehen. JEE et al. (2004) und KALTENBOECK et al. (2005) konnten als Ergebnis ihrer Regressionsberechnungen ein sog. „Crowding-Phänomen“ feststellen. Dabei handelt es sich um häufigere Chlamydieninfektionen in großen Haltungsgruppen. In Bezug auf das Platzangebot der Tiere (Dichte) konnte dies in der eigenen Untersuchung in den Vergleichsgruppen „niedrige (Sero-) Prävalenz“ vs. „hohe (Sero-)Prävalenz“ nicht dargestellt werden.

KEMMERLING et al. (2009) arbeiteten in ihren Untersuchungen die Risikoindikatoren

- Zukauf von Tieren,
- Einsatz von Zuchtbullen,
- Fehlen von separaten Abkalbeställen sowie
- unzureichende Hygiene der Liegeplätze, Laufgänge und der Tiere

für den Nachweis von Chlamydien-DNA in Betrieben heraus. Der Risikoindikator „Zukauf von Tieren“ scheint auch in den hier untersuchten Betrieben eine Rolle zu spielen. Von der Mehrheit der Betriebsleiter wurde angegeben, dass Tiere zugekauft

wurden. Aufgrund der in den Betrieben existierenden Fruchtbarkeitsprobleme erscheint die Notwendigkeit des Zukaufs zur Remontierung aufgrund von höheren Abortraten und längeren Gützeiten vorprogrammiert. Dies kann zur Einschleppung von bislang nicht vorhandenen Infektionserregern und neuen Chlamydienspezies führen.

Bereits seit mehr als 40 Jahren wird auf das Infektionsrisiko hingewiesen, welches vom Deckbullen als potenziellem Träger und Ausscheider von Chlamydien ausgehen könnte (STORZ et al., 1968; BOWEN et al., 1978). TEANKUM et al. (2007) und KAUFFOLD et al. (2007) verifizierten durch den Nachweis von Chlamydienantigenen den epidemiologischen Zusammenhang bei der venerischen Übertragung von Chlamydien. In der vorliegenden Studie wurde in einem von drei Betrieben mit niedriger Antikörperrate der Einsatz eines Deckbullens festgestellt. Von den Betrieben mit hoher Antikörperrate setzten sechs von acht Betrieben einen Deckbullen ein. Der Infektionsstatus der Bullen ist nicht bekannt. Neben der Einhaltung der guten landwirtschaftlichen Praxis, mit besonderer Wahrnehmung von etablierten Hygienemaßnahmen, erscheint die Statusermittlung von im Betrieb eingesetzten Deckbullen notwendig, um möglichst alle bekannten chlamydienbegünstigenden Risikoindikatoren auszuschließen.

Ein separater Abkalbestall wurde, laut Angaben der Betriebsleiter, in zehn Betrieben geführt. Bei der Betriebsinspektion vor Ort wurde jedoch festgestellt, dass eine deutliche räumliche Trennung zwischen den Tieren im Abkalbestall und weiteren eingestellten Rindern nicht gegeben war. Die Infektion der Kälber mit Chlamydien konnte aufgrund von unregelmäßiger Reinigung des Abkalbestalles und durch Kontakt mit anderen eingestellten Rindern nicht verhindert werden. Auf eine Auswertung dieses Risikoindikators wurde deshalb verzichtet. Weitere Untersuchungen sollten sich anschließen um für die teilnehmenden Betriebe die Rolle der hygienischen Bedingungen zu klären. Dabei sollte ein Scoresystem zur Beurteilung der betriebshygienischen Umstände Anwendung finden.

Der Eintrag von Chlamydien über Wildvögel in Nutztierhaltende Betriebe wird bereits seit längerer Zeit vermutet (BOLTE et al., 2000; BÖNNER et al., 2004). SACHSE et al. (2004) wiesen darauf hin, dass von 84 PCR-positiven Rinderproben 46 eindeutig dem Erreger *Cp. psittaci* zugeordnet werden konnten, und auch KEMMERLING et al. (2009) identifizierten *Cp. psittaci* bei 53 von 95 Tieren in der PCR. In Untersuchungen von BOLTE et al. (2000) wurden Chlamydien bei 13 von 53 Wildgänsen nachgewiesen. Die Gänse wurden bei der regulären Jagd ausübung in Nordrhein-Westfalen geschossen und anschließend untersucht. Weiterführende Untersuchungen (BÖNNER et al., 2004) von 289 im Kreis Mönchengladbach ein-

gesammelten Wildgänseeiern ergaben keinerlei Hinweise auf Chlamydieninfektionen. Die Autoren weisen jedoch darauf hin, dass eine Überprüfung der Ergebnisse, insbesondere im Zusammenhang mit dem Zoonosenpotenzial des Erregers, notwendig ist.

Ein gehäuftes Vorkommen von Wildgänsen auf Weide- oder Grasland wurde von den Betriebsleitern der Betriebe mit einer Antikörperrate unter 30 % verneint, während die Hälfte der Betriebe mit Antikörperrate über 60 % diesbezügliche Probleme angab. Eine ursächliche Beteiligung von Wildgänsen an der Chlamydienproblematik in den Betrieben kann aufgrund der Befragung jedoch nicht festgestellt werden. Es fehlt auch der Nachweis typischer aviärer Chlamydienstämme mit speziesübergreifendem, krankmachendem Potenzial. Weitere Untersuchungen zur Bedeutung von Wildgeflügel für Chlamydiosen von Rindern liegen nicht vor. Zur Klärung der Bedeutung von Wildvögeln als potenziellem Teil der Infektionskette erscheint eine gleichzeitige Untersuchung mit Chlamydiendifferenzierung der auf den Betrieben vorkommenden Vögel und Rinder notwendig.

Zusammenfassend muss festgestellt werden, dass mit dem vorliegenden Studiendesign, insbesondere durch die Auswahl von nur 15 im Vorfeld ausgesuchten Betrieben, denen eine Chlamydienproblematik unterstellt wurde, aufgrund des Fehlens von „Kontrollen“ eine Einschätzung des Beitrags bekannter Risikoindikatoren nicht möglich ist. Die in der Literatur beschriebenen Risikoindikatoren wurden jedoch in den untersuchten Betrieben vorgefunden.

5.5 Zusammenhang zwischen Chlamydiennachweis und klinischer Erkrankung

Die Gruppe der sog. Indextiere wurde in den Betrieben gemeinsam mit den Tierhaltern unter dem Aspekt chlamydienassoziierter Erkrankungen zusammengestellt. Dabei handelte es sich um Tiere mit Fertilitätsstörungen, mit respiratorischen Erkrankungen, Konjunktivitis, Mastitis oder Erkrankungen des Bewegungsapparates.

In der Literatur wurden Chlamydiennachweise im Zusammenhang mit Vulvovaginitis, Vaginitis, Endometritis, Orchitis, Sterilität, Hepatitis, Nephritis, Myokarditis, fibrinöser Pleuritis, Peritonitis, Mastitis (SHEWEN, 1980; STORZ und KRAUSS, 1985) und Vesikulitis (STORZ et al., 1968) beschrieben. Des Weiteren konnte Chlamydienantigen aus Abortmaterial (NABEYA et al., 1991; GRIFFITHS et al., 1995) und aus Genitalsekreten, Sperma und Milch (WITTENBRINK et al., 1994b;

STING und MANDL, 1995; STING, 1997; KAUFFOLD et al., 2007, TEANKUM et al., 2007) isoliert werden.

Jedoch wurden Chlamydien (spezifische DNA-Sequenzen) auch im Genitaltrakt, Darm (WITTENBRINK et al., 1987, 1988, 1993b; GODIN et al., 2008) sowie in Nasen- und Konjunktivalupferproben (JEE et al., 2004; KALTENBOECK et al., 2005; JAEGER et al., 2007; REINHOLD et al., 2008 a) klinisch unauffälliger Rinder nachgewiesen. Experimentell konnten mit chlamydienhaltigem Material Mastitiden bei Rind und Schaf, Infektionen des Genitaltraktes weiblicher Rinder (BOWEN et al., 1978; WITTENBRINK et al., 1993a) sowie Pneumonien (WHITE, 1965) und intestinale Infektionen (EUGSTER und STORZ, 1971) ausgelöst werden.

Aus ätiologischer Sicht konnten einwandfrei Erkrankungen wie der „Enzootische Abort des Schafes“ erstmals in Schottland (GREIG, 1936), der „Epizootische Abort des Rindes“ (1946 erstmals beschrieben), die „Chlamydien-Bronchopneumonie des Rindes und des Schafes“ (1952 und 1956), die „Sporadische Enzephalomyelitis des Rindes“ (erstmals 1940 in den USA beschrieben als „buss encephalitis“), die „Polyarthritis des Rindes und des Schafes“ (1960 bei Lämmern und 1964 bei Kälbern beschrieben), die „Chlamydien-Mastitis des Rindes“ (1955) auf Infektionen durch Chlamydien zurückgeführt werden (WEHR und BEER, 1987).

Im Probenmaterial, welches von Indextieren stammte, gelang der Nachweis von Chlamydien-DNA nicht häufiger als im Probenmaterial von klinisch unauffälligen Probanden. Die Nachweisraten in den verschiedenen Altersgruppen unterscheiden sich nicht von den Ergebnissen der Indextiere. Erst wenn man die Indextiere in die entsprechenden Altersgruppen einteilt, wird deutlich, dass bei älteren Indextieren tendenziell weniger positive DNA-Nachweise erbracht werden als bei den „Nicht-Indextieren“. Dieses Ergebnis ist jedoch nicht signifikant. Signifikant dagegen ist der gehäufte DNA-Nachweis in Nasentupfern der „Nicht-Indextiere“ aller Altersgruppen (Tabelle 14).

Die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie bestätigen die Untersuchungen von REINHOLD et al. (2008 a), die ergaben, dass die PCR-Diagnostik dazu beigetragen hat, Chlamydien auch bei klinisch unauffälligen Tieren nachzuweisen. In Nordrhein-Westfalen konnte in einer Studie an Kälbern mit Atemwegserkrankungen signifikant weniger chlamydien-spezifische DNA nachgewiesen werden als bei Kälbern ohne Atemwegserkrankungen (HOLLBERG et al., 2005). Insbesondere Kälber mit Atemwegserkrankungen könnten jedoch frühzeitig antibiotisch behandelt worden sein, sodass eine Verfälschung des Ergebnisses in Betracht gezogen werden muss. Die Möglichkeit der antibiotischen Vorbehandlung kann auch bei der hier vorliegenden Untersuchung nicht ausgeschlossen werden, da bei der Auswahl der Indextiere

keine Einschränkungen in Bezug auf eine vorherige Antibiotikabehandlung gemacht wurden. Des Weiteren wurden bei vorgefundenen Symptomaten keinerlei differentialdiagnostische Untersuchungen durchgeführt, sodass das ursächliche Agens nicht ermittelt wurde.

Der Zusammenhang zwischen klinischen Erkrankungen bei Indextieren und damit einhergehenden (signifikant) höheren Nachweisraten von chlamydienspezifischer DNA in der PCR kann in dieser Studie nicht belegt werden. Seit der Etablierung der Nukleinsäure-Amplifikationstests werden vor allem bei Tieren, bei denen eine Chlamydiose vermutet wurde, niedrigere Chlamydiennachweisraten ermittelt als bei Tieren ohne Krankheitssymptomatik (WANG et al., 2001; GODIN et al., 2008). Jedoch ist eine Chlamydieninfektion beim Einzeltier häufig schwer erkennbar (JEE et al., 2004; KALTENBOECK et al., 2005). In Expertenkreisen wird die Rolle von Chlamydien als Co-Pathogen oder Wegbereiter für klinische Manifestationen nach wie vor kontrovers diskutiert (REINHOLD et al., 2008 a). Eine gewichtige Rolle scheint der Gesundheits- und Fruchtbarkeitsstatus der gesamten Herde in Verbindung mit der Herdenprävalenz zu spielen (JEE et al., 2004; KALTENBOECK et al., 2005).

In der hier durchgeführten Studie wurden ausschließlich Herden mit Gesundheitsproblemen untersucht. Gesunde Kontrollherden wurden nicht berücksichtigt. Zur Definition und Klassifikation von gesunden und kranken Herden sollte ein objektivierbares Beurteilungssystem etabliert werden, welches auf Tiergesundheitsdaten zurückgreift. Hierzu gehören: die Dokumentation der Behandlung kranker Tiere durch den Tierarzt oder der Anteil gefallener Tiere bei der Tierkörperbeseitigungsanstalt. Dieses Instrument erscheint geeignet, einen Zusammenhang zwischen dem Herdengesundheitsstatus und der vorgefundenen Chlamydienprävalenz herzustellen.

5.6 Zusammenhang zwischen Chlamydienprävalenz und Leistungsparametern im Betrieb

BIESENKAMP-UHE et al. (2007) konnten in einer Impfstudie in Nordrhein-Westfalen zeigen, dass in Betrieben mit hohen Chlamydien-DNA-Nachweisraten eine signifikant höhere Anzahl somatischer Zellen in der Milch vorhanden ist als in Betrieben mit wenigen positiven Chlamydien-DNA-Nachweisen. In der hier vorliegenden Studie gelang es nicht, eine aussagekräftige Einteilung der Betriebe in Bezug auf hohe oder niedrige Nachweisraten unter Berücksichtigung entsprechender Leistungsparameter vorzunehmen. Gründe dafür sind einerseits der Nachweis von

Chlamydien-DNA in der PCR in allen Betrieben und andererseits die Impfung zweier Herden in Betrieben mit niedrigen Nachweisraten in den sieben Monaten vor der Beprobung. Eine Einteilung in die Zellzahlklassen <200.000, 200.000 bis 400.000 und >400.000 somatische Zellen pro Kilogramm Milch ergibt bezogen auf die Chlamydien-DNA-Nachweise in der PCR kein einheitliches Bild (siehe Tabelle im Anhang, Tabelle A 30).

BIESENKAMP-UHE et al. (2007) zeigten des Weiteren, dass eine Impfung einen reduzierenden Einfluss auf die Anzahl somatischer Zellen in der Milch haben kann. In Betrieb 14 war der Zeitraum zwischen Impfung und Beprobung mit 3,5 Monaten am kürzesten. Der Betriebsleiter berichtete über hohe Zellzahlen in der Milch vor der Impfung; zum Zeitpunkt der Beprobung lag die Zellzahl unter 200.000 pro Kilogramm Milch und war nach den Angaben des Betriebsleiters seit der Impfung deutlich zurückgegangen. In den Betrieben 4 und 8 lag die Impfung bereits sieben Monate zurück. Die Betriebe hatten zum Zeitpunkt der Beprobung Zellzahlen zwischen 200.000 und 400.000 pro Kilogramm Milch. Ein kausaler Zusammenhang zwischen der Impfung und einer Reduzierung der Zellzahlen konnte aufgrund des langen Zeitraums zwischen Impfung und Beprobung sowie unterschiedlicher Beprobungszeiträume mit einhergehenden saisonalen Schwankungsmöglichkeiten bezogen auf die Zellzahlen nicht mehr hergestellt werden.

Von KEMMERLING et al. (2009) wurden von Herden der chlamydienpositiven Gruppe niedrigere durchschnittliche Zellzahlen berechnet als in der chlamydiennegativen Gruppe. Das steht im Widerspruch zur oben genannten Impfstudie aus Nordrhein-Westfalen (BIESENKAMP-UHE et al., 2007), bei der der Zusammenhang zwischen PCR-positiven und seronegativen Tieren sowie einer hohen Zellzahl in der Milch nachgewiesen werden konnte. Die in der hier vorliegenden Studie ermittelten durchschnittlichen Zellzahlen von 13 Betrieben liegen deutlich über den Zellzahlen der Betriebe mit positivem Chlamydien-DNA-Nachweis von KEMMERLING et al. (2009; siehe Tabelle A 31).

Die hier untersuchten Betriebe werden aufgrund der Untersuchungsergebnisse allesamt als „chlamydienpositive“ Betriebe angesprochen. Die Variablen (siehe Tabelle A 31)

- Herdengröße,
- durchschnittliche Jahresmilchmenge pro Herde,
- Fett- und Eiweißgehalte,
- Anzahl somatischer Zellen in der Milch,
- Anzahl der Laktationen im Jahr,

- Anzahl der Merzungen im Jahr,
- Besamungsindex,
- Rastzeit und Gützeit

wurden mit den Ergebnissen der Studie von KEMMERLING et al. (2009) verglichen. Die Daten beider Studien wurden vom Landeskontrollverband Nordrhein-Westfalen erhoben. Signifikante Reduktionen in Betrieben, die von KEMMERLING et al. der Gruppe mit positivem Chlamydien-DNA-Nachweis zugeordnet wurden, ergaben sich für die Variablen Milchmenge, Anzahl der Laktationen pro Jahr (bezogen auf die Lebensleistung), Rastzeit und Gützeit und werden mithilfe der hier erhobenen Daten bestätigt. Die Daten der KEMMERLING-Studie wurden im Jahr 2007 erhoben. Aus dem Jahresbericht des Landeskontrollverbandes geht hervor, dass die durchschnittliche Anzahl der Tiere pro Betrieb und die durchschnittliche Milchmenge pro Tier von Jahr zu Jahr steigen. So lag die Herdengröße eines durchschnittlichen Milch erzeugenden Betriebes in Nordrhein-Westfalen im Jahr 2005 bei 48,4 und im Jahr 2007 bei 52,7 Tieren. Das entspricht einem Anstieg von ca. 8 %. Die Milchmenge stieg im gleichen Zeitraum von 7.700 kg auf 8.180 kg pro Tier, das entspricht 6 % im Betriebsdurchschnitt. Jahresunterschiede im Fett- und Eiweißgehalt sind marginal und wurden nicht berücksichtigt.

Rechnet man der Milchmenge 6 % durchschnittliches Milchleistungswachstum der Zweijahresdifferenz hinzu, so liegt die durchschnittliche Jahresmilchmenge pro Kuh in der hier vorliegenden Studie bei 8.848 kg. Von KEMMERLING et al. (2009) werden die geringeren Milchleistungen in Betrieben mit positivem Chlamydien-DNA-Nachweis im Vergleich mit Betrieben, die in der PCR ein negatives Ergebnis aufweisen, bestätigt. Des Weiteren stimmt die durchschnittliche Herdengröße exakt mit der von KEMMERLING et al. ermittelten durchschnittlichen Herdengröße der positiven Herden überein. Berechnet man noch die zusätzlichen 8 % „Herdewachstum“ als Differenz der Jahre 2005 und 2007, so wird die Tendenz zu größeren Herden (94 Tiere pro Herde) bei chlamydienpositiven Herden im Vergleich zu kleineren chlamydien-negativen Herden bestärkt. JEE et al. (2004) weisen darauf hin, dass eine höhere Tierdichte in Betrieben die Häufigkeit und Intensität für Chlamydieninfektionen bei Rindern deutlich erhöht. Beim Vergleich der Herdengröße in den in Kapitel 4.2 betrachteten Betrieben mit unterschiedlicher Prävalenz zeigt sich ein umgekehrtes Bild. Die Betriebe mit besonders hohen DNA- und Antikörpernachweisraten haben im Vergleich zu Betrieben mit niedriger DNA- und Antikörpernachweisraten eine geringere Herdengröße. Ein ähnliches Bild ergibt sich bei der Berechnung der Platzverhältnisse pro Tier. Entgegen den Angaben der Literatur kann bei den hier beschriebenen Betrieben ein negativer Einfluss von größeren Herden bzw. weniger Fläche pro Tier nicht bestätigt werden. Hierbei muss jedoch

dringend darauf hingewiesen werden, dass bei nordrhein-westfälischen Betrieben nicht von der Art Massentierhaltung auszugehen ist, wie sie anderenorts mit Herdengrößen von 500 Tieren und mehr vorgefunden und für das sog. „Crowding-Phänomen“ verantwortlich gemacht werden kann.

Bestätigt werden konnte ein niedrigerer Besamungsindex bei positiven Herden in Bezug zu Herden ohne Chlamydiennachweis in der PCR. Widersprüchlich sind jedoch die Ergebnisse von Fett- und Eiweißgehalten, bei denen auch KEMMERLING et al. (2009) keine Zusammenhänge zum Chlamydienstatus feststellen konnten. Bei den jährlichen Abgangsraten ergaben sich weder aus den Daten der vorliegenden Studie, noch aus den Arbeiten von KEMMERLING et al. (2009) Hinweise auf höhere Abgangszahlen in Betrieben, in denen chlamydien-spezifische DNA nachgewiesen wurde.

5.7 Zoonotisches Potenzial

Infektionen mit Chlamydien beim Menschen verursachen eine Vielzahl unterschiedlicher Erkrankungen. So werden hohe Titer von Anti-*Chlamydophila-pneumoniae*-IgA derzeit als Prädiktor einer koronaren Herzkrankheit sowie der Alzheimer'schen Krankheit diskutiert, während hinreichend bekannt ist, dass *C. trachomatis* Unfruchtbarkeit verursachen kann und *Cp. psittaci* als Erreger der Ornithose gilt (GERARD et al., 2006; HIGUCHI et al., 2006). *Cp. pneumoniae* und *C. trachomatis* galten lange Zeit als ausschließlich humanpathogen. *Cp. pneumoniae* wurde in der Zwischenzeit jedoch auch bei Tieren (Koalas, Pferden) nachgewiesen (HENNING et al., 2000; SACHSE und GROSSMANN, 2002). Das Gefährdungspotenzial für den Menschen, welches möglicherweise von animalen *Cp. pneumoniae* sowie von *Cp. abortus*- und *Cp. pecorum*-Stämmen ausgeht, ist derzeit nicht bekannt, wird aber speziell unter fachkundigen Landwirtinnen und Tierärztinnen im Zusammenhang mit gynäkologischen Problemen diskutiert (POSPISCHIL et al., 2002).

Bei den Untersuchungen der Kontaktpersonen lag der Fokus auf Erkrankungen des Respirationstraktes. Chlamydien stehen im Verdacht, an der Entwicklung der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) beteiligt zu sein (HAHN, 1999; BARNES, 2000). Die Kontaktpersonen wurden nach Fließschnupfen, Nasenatmungsbehinderung, Husten, Auswurf, Dyspnoe und Atopie befragt.

Elf Kontaktpersonen gaben bei mindestens drei Fragestellungen Beschwerden an. Davon konnten aus Proben einer Person Chlamydien in der Kultur angezüchtet werden. Bei einer weiteren Person wurde der Nachweis von *C. trachomatis* und *Cp.*

abortus mithilfe der PCR geführt. Bei einer der unter den beschriebenen Beschwerden leidenden Personen konnte *Cp. psittaci* nachgewiesen werden.

Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen dem Vorkommen der Erreger bei Menschen und Rindern kann im Rahmen der Studie weder belegt noch ausgeschlossen werden. Bei den durchgeführten Untersuchungen wurde in allen Betrieben chlamydienspezifische DNA mithilfe der PCR nachgewiesen. In drei Betrieben gelang der kulturelle Nachweis von *Cp. pecorum* beim Rind. Von zwei dieser drei Betriebe nahm keine Kontaktperson an der Untersuchung teil. In Betrieb 5 wurde bei drei Tieren *Cp. pecorum* in der Kultur angezüchtet; bei den entsprechenden Kontaktpersonen aus Betrieb 5 wurden jedoch *C. trachomatis* und *Cp. abortus* nachgewiesen.

In dieser Studie wurde der Nachweis von *Cp. abortus* beim Rind nicht geführt. Bei anderen Untersuchungen in Nordrhein-Westfalen wurde jedoch *Cp. abortus* beim Rind nachgewiesen (KEMMERLING et al., 2009), sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass dieser Keim, der bei vier Kontaktpersonen nachgewiesen wurde, ebenfalls vom Tier stammt. Weiterführende Untersuchungen erscheinen hier geboten, da keine Erkenntnisse zum Risiko eines Chlamydientransfers von Rindern auf den Menschen vorliegen.

Folgende Fragestellungen sollten in weiteren Studien geklärt werden:

- Werden bei den im Betrieb arbeitenden Personen Chlamydien nachgewiesen?
- Wie häufig sind Chlamydiennachweise bei Personen aus Rinder haltenden Betrieben in Nordrhein-Westfalen im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv ohne landwirtschaftliche Kontakte?
- Welche Chlamydienstämme werden in einem Betrieb bei den dort lebenden und arbeitenden Menschen nachgewiesen, und welche Stämme können bei Rindern und evtl. dort vorkommenden Vögeln nachgewiesen werden? Welche Chlamydienstämme werden im Kontrollkollektiv nachgewiesen?
- Wie häufig sind chlamydienassoziierte Erkrankungen und Symptome bei den auf den Betrieben arbeitenden und lebenden Personen?
- Sind die Angaben zu Chlamydienerkrankungen und -symptomen des Fragebogens und die in der PCR ermittelten Ergebnisse mit den Chlamydien, die bei den aus dem Betrieb stammenden Rindern oder Vögeln nachgewiesen werden konnten, assoziiert?

6 ZUSAMMENFASSUNG

Zwischen September 2004 und Dezember 2005 wurden in Nordrhein-Westfalen 15 Milchkuh haltende Betriebe aufgrund von ungeklärten Tiergesundheitsproblemen für ein Chlamydienmonitoring ausgewählt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit fand eine retrospektive Analyse der erhobenen Daten statt. Die vom Tiergesundheitsdienst NRW begleiteten Betriebe verzeichneten in der Vergangenheit wiederholt Fruchtbarkeitsstörungen, Probleme mit der Eutergesundheit, Atemwegserkrankungen sowie Erkrankungen des Bewegungsapparates, sodass der Literatur zufolge ein Zusammenhang mit Chlamydieninfektionen vermutet wurde. Je Betrieb wurden 15 Tiere beprobt, die den Gruppen „Kälber“, „Jungrinder“, „Kühe in der ersten Laktation“ und „ältere Milchkühe“ zugeordnet wurden, wobei die Anzahl der in den Gruppen untersuchten Tiere dem Anteil am Gesamtbestand entsprach. Von den 15 untersuchten Tieren wurden vier bis fünf Tiere pro Betrieb der Gruppe der sog. Indextiere zugeordnet. Dabei handelt es sich um klinisch kranke Tiere, deren Krankheitserscheinungen im Zusammenhang mit Chlamydiosen in der Literatur beschrieben wurden.

Von 225 Rindern wurden insgesamt 2049 Proben entnommen, davon wurden 801 Proben mittels PCR auf chlamydienspezifische DNA-Sequenzen untersucht. Zum Probenmaterial zählten Tupferproben von Konjunktival-, Nasen- und Vaginalschleimhaut sowie, im Falle laktierender Tiere, auch Milchproben. Bei zwölf Tieren, elf davon mit positivem PCR-Ergebnis, wurde der Versuch zur Anzüchtung des Erregers unternommen. Des Weiteren wurden 222 gepaarte Blutproben mittels ELISA auf die Anwesenheit von Antikörpern gegen Chlamydienantigen untersucht.

In allen 15 Betrieben konnte mithilfe der PCR chlamydienspezifische DNA nachgewiesen werden. Die Prävalenz (mindestens ein positiver PCR-Nachweis pro Tier) betrug in den Betrieben zwischen einem Tier (6,7 %) und allen 15 untersuchten Tieren (100 %). Die Prävalenz, bezogen auf alle untersuchten Tiere (n=225), lag bei 45,8 % (103 Tiere). Von diesen 103 Tieren wurde bei 37 % in mindestens einer weiteren Probe ein positiver PCR-Nachweis geführt. Der Anteil positiver Nasentupferproben war mit 23,6 % gegenüber Tupferproben von der Vaginalschleimhaut (20,4 %) und der Konjunktiven (18,7 %) sowie Milchproben (13,1 %) am höchsten. Die Anteile der unterschiedlichen Matrices in Bezug auf einen weiteren positiven Chlamydien-DNA-Nachweis unterschieden sich kaum voneinander (57 % bis 60 %). Dies spricht gegen eine überdurchschnittliche hohe Kontamination, die möglicherweise das Ergebnis hätte verfälschen können, einer bestimmten Probenentnahmestelle, beispielsweise der Scheidentupferproben. Signifikante Prävalenzunterschiede ($p < 0,01$) wurden zwischen den Altersgruppen, insbesondere bei den Nasentupfern

von Jungtieren (Kälbern und Jungrindern) sowie bei den Vaginaltupfern der Kälber in Bezug auf die älteren Milchkühe, ermittelt. Die signifikant höhere Nachweisrate von chlamydienpezifischer DNA in der Vaginalschleimhaut von Kälbern lässt auf einen vom Sexualkontakt unabhängigen Infektionsweg schließen.

Bei Tieren mit Gesundheitsproblematik wurde eine Prävalenz von 39,7 % ermittelt. Die Prävalenz des Gesamtkollektivs aller Altersgruppen liegt demgegenüber mit 48,2 % höher, ist jedoch statistisch nicht signifikant. Einzig bei der Berechnung der unterschiedlichen Probenmatrizes konnte eine signifikant geringere Nachweisrate aus Nasentupfern der Indextiere im Vergleich zum Altersgruppenkollektiv festgestellt werden.

Von 13 durchgeführten Anzuchtversuchen gelang der Nachweis von *Cp. pecorum* bei acht Tieren (in neun Proben).

In der Untersuchung auf Chlamydienantikörper mittels ELISA-Test waren 93 (42 %) Proben in beiden Untersuchungen (im Abstand von drei Wochen) positiv und 80 (36 %) negativ. Im ersten ELISA-Test lag die Seroprävalenz bei 46 % (103), im zweiten ELISA-Test bei 51 % (114). Die Nachweisraten in den Betrieben lagen zwischen 13 % und 80 %. In einem Betrieb wurde im Untersuchungszeitraum eine Serokonversion detektiert, was auf ein akutes Geschehen hindeutet. Erwartungsgemäß konnten bei den jüngeren Tieren signifikant weniger Antikörper nachgewiesen werden als bei den älteren Tieren. Die Serokonversionsrate innerhalb der verschiedenen Altersgruppen ist signifikant. Demgegenüber konnte bei den Indextieren keine Serokonversion nachgewiesen werden.

Bei der Gegenüberstellung von ELISA und PCR wird folgender Zusammenhang deutlich: Bei den Kälbern überwiegen die Antigennachweise gegenüber den Antikörpernachweisen mit 16,7 %, während bei den älteren Milchkühen die Antikörpernachweise mit 45,8 % überwiegen. Diese Unterschiede sind statistisch signifikant ($p < 0,01$) und lassen darauf schließen, dass Chlamydienneuinfektionen v. a. bei den Jungtieren eine Rolle spielen, was die Rolle der Jungtiere in dem Krankheitsgeschehen unterstreicht.

Im Spiegel der Literatur entsprechen die ermittelten Prävalenzen den Erwartungen an ausgewählte Betriebe mit chlamydienassoziierten Erkrankungen. Die Nachweisraten von chlamydienpezifischer DNA und Antikörpern war in den meisten hier untersuchten Betrieben hoch und ließ eine Schlussfolgerung in Bezug auf Betriebs- und Umwelteinflüsse nicht zu. Die im Rahmen der Studie aufgenommenen Betriebsdaten bei sog. Problembetrieben wurden in einer Nachfolgeuntersuchung von KEMMERLING et al. (2009) mit zufällig ausgewählten Betrieben bestätigt. Beim Vergleich der Betriebsgrößen mit den ermittelten durchschnittlichen Betriebsgrößen

zufällig ausgewählter Betriebe von KEMMERLING et al. (2009) kann die Tendenz zu zahlenmäßig im Durchschnitt größeren Herden mit Chlamydiennachweisen in der PCR im Vergleich zu durchschnittlich kleineren Herden ohne Chlamydiennachweis festgestellt werden.

Ebenso bestätigen die erhobenen Milchleistungsdaten die Untersuchungen von KEMMERLING et al. (2009). Insbesondere die Jahresmilchleistung in Kilogramm sowie die Anzahl der Laktationen pro Jahr nehmen im Vergleich zu Betrieben ohne Chlamydiennachweise signifikant ab.

Abschließend wird festgestellt, dass in allen hier untersuchten Betrieben, die als „Chlamydien-Problembetriebe“ bezeichnet wurden, Chlamydien-DNA und Chlamydienantikörper nachweisbar waren. Ein ursächlicher Zusammenhang von den aufgenommenen Gesundheitsproblemen bei Tier und Mensch und dem Nachweis von Chlamydien konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht hergestellt werden. In landwirtschaftlichen Betrieben erscheint naheliegender, dass sich Chlamydien vor allem dort nachweisen lassen, wo das Betriebsmanagement und die Tierhaltung Defizite aufweisen.

7 SUMMARY

Monitoring of Chlamydia on selected dairy farms in North Rhine Westphalia (Germany)

In the period from September 2004 to December 2005 15 dairy farms with a history of animal health problems such as infertility, mastitis and high somatic cell counts, respiratory diseases and diseases of the musculoskeletal system and suspected involvement of Chlamydia were included in a study funded by the Ministry of Agriculture of NRW. In the present doctoral thesis, the data obtained from the study were analyzed retrospectively. On each farm, 15 animals were sampled and assigned to the following groups depending on the age of the proband: "calf", "heifers", "cows in 1st lactation" and "cows in the 2nd and higher lactation". Four or five cattle, so called "indicator animals", were selected on each farm that resembled clinical symptoms which have been reported with respect to Chlamydia infections in the literature, in the past.

From the 225 cattle 2049 samples were collected in total. Of these samples 801 were tested for Chlamydia specific DNA sequences by PCR. Swabs were obtained from the conjunctivae as well as the nasal and vaginal mucous membranes. In case of lactating animals additional milk samples were examined for the presence of Chlamydia specific DNA. Attempts were undertaken to cultivate the organism in twelve animals, among these eleven with positive PCR results. 222 paired serum samples were examined for the presence of antibodies directed against Chlamydia antigen by ELISA technique.

The PCR results demonstrated Chlamydia specific DNA sequences in material obtained from animals of all 15 farms. The herd prevalence, defined as at least one positive PCR detection per animal, ranged from one animal (6.7%) to 15 animals (100%). The prevalence of all investigated 225 cattle was 45.8% (103 animals). Of the latter 103 animals 37% tested positive in more than one sample. The highest recovery rate was obtained in nasal swabs (23.6%), followed by vaginal swabs (20.4%), swabs from the conjunctivae (18.7%) and milk samples (13.1%). There is only a slight difference in the proportion of animals with more than one positive result as all sets showed between 57 and 60% positive results. This is in contradiction with an above-average contamination of a particular sampling site, such as the vaginal swabs. The significantly higher rate of Chlamydia-specific DNA in vaginal swabs in calves compared to adult cattle suggests an independent infection route without sexual contact.

Indicator animals revealed a prevalence of Chlamydia specific DNA of 29.7%, whereas the prevalence of the total collective of age groups was higher (48.2%), the

difference being not seen as statistically significant. In fact, the only significant lower rate in the positive results was identified in the nose swabs of the indicator animals when compared to the age group collective.

13 attempts were undertaken to cultivate the pathogen resulting in detection of *Cp. pecorum* in 8 animals (9 samples).

93 samples (42%) were tested positive for antibodies in either of two samplings taking place in a three week interval, whilst 80 samples (36%) remained negative. In the first ELISA test, the seroprevalence was 46% (103), in the second ELISA test it was 51% (114). The prevalence of antibody positive sera from the sampled animals ranged between 13 and 80% on the different farms. On one farm seroconversion took place in the course of the observation period possibly due to an infection during the observation period. As expected significantly fewer samples tested positive for antibodies in the younger animals than in adults. The increase in the number of antibody positive samples with age was statistically significant in the groups of clinically healthy animals but not for the indicator animals.

Comparing ELISA and PCR results in the different age groups demonstrated the following characteristics: in calves the number of animals testing positive by PCR exceeded the seropositives by 16,7% ($p < 0.01$) whereas in adult animals a consistent increase in the number of seropositive animals with age (45,8%) versus PCR positive animals was observed. This finding supports the assumption that new chlamydia infections mainly take place among young stock.

The findings of the present study reflect the data given in recent reports of chlamydiosis on farms with health problems in dairy cattle. The prevalence of Chlamydia-specific antibodies and DNA sequences was high on most of the farms included in the study, such that it was not possible to relate operational and environmental characteristics. The observations on farms selected for health problems were in accordance with findings of KEMMERLING et al (2009) in randomly selected farms. When comparing the farm sizes in this study with the average farm size from KEMMERLING et al. (2009), a trend emerge showing that larger herds are more prone to chlamydia infections than smaller herds.

The data from the milk recordings also confirmed the findings of KEMMERLING et al. (2009), in particular, the annual milk yield and the number of lactations per year being significantly lower on farms that tested positive for Chlamydia.

In conclusion, Chlamydia specific DNA and antibodies were detected on farms in NRW that were selected by the animal health service NRW due to animal health problems of unknown origin. No evidence could be demonstrated for the relationship

between health problems in humans and animals and the presence of Chlamydia. As chlamydiosis has been reported to be a multifactorial disease, the improvements of farm management and housing conditions should get more attention on affected farms.

8 LITERATURÜBERSICHT*

- ABD EL-RAHIM, I. H. A. (2002): Serumuntersuchung zur Ermittlung der Verbreitung von Chlamydien-Infektionen beim Rind in Nordostdeutschland. *Prakt Tierarzt*, 83, 268-273.
- BARNES, P.J. (2000): Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*, 343, 269-280.
- BAZALA, E., RENDA, J. (1992): Latente Chlamydieninfektionen als Ursache von Gesundheitsstörungen bei Schweine-, Rinder- und Schafzüchtern in der ČSFR. *Berl Munch Tieraerztl Wochenschr*, 105, 145-149.
- BEATTY, M. A., MORRISON, R. P., BYRNE, G. I. (1994): Persistent *Chlamydiae*: from cell culture to a paradigm for Chlamydial pathogenesis. *Microbiol Mol Biol*, 58, 686-699.
- BIESENKAMP-UHE, C., LI, Y., HEHNEN, H-R., SACHSE, K., KALTENBOECK, B. (2007): Therapeutic *Chlamydophila abortus* and *C. pecorum* vaccination transiently reduces bovine mastitis associated with Chlamydophila infection. *Infect Immun*, 75 (2), 870-877.
- BOLTE, A. L., LUTZ, W., KALETA, E. F. (2000): Untersuchungen zum Vorkommen von Infektionserregern bei freilebenden Graugänsen (*Anser anser* Linné, 1758). *Z Jagdwiss*, 46, 176-179.
- BONGERS, P., HOUTHUIS, D., REMIJN, B., BROUWER, R., BIERSTEKER, K. (1987): Lung function and respiratory symptoms in pig farmers. *Br J Ind Med*, 44, 819-823.
- BOREL, N., KEMPF, E., HOTZEL, H., SCHUBERT, E., TORGERSON, P., SLICKERS, P., EHRLICH, R., TASARA, T., POSPISCHIL, A., SACHSE, K. (2008): Direct identification of *chlamydiae* from clinical samples using a DNA microarray assay - A validation study. *Mol Cell Probes*, 22, 55-64.

* Zeitschriftentitelabkürzungen gemäß:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/citmatch_help.html#JournalLists

- BÖNNER, B. M., LUTZ, W., JÄGER, S., REDMANN, T., REINHARDT, B., REICHEL, U., KRAJEWSKI, V., WEISS, R., WISSING, J., KNICKMEIER, W., GERLICH, W. H., WEND, U. C., KALETA, E. F. (2004): Do Canada geese (*Branta canadensis* Linnaeus, 1758) carry infectious agents for birds and man? Eur J Wildl Res 50: 78-84.
- BÖTTCHER, J., AFIFY, M., VOSSEN, A., ALEX, M., GANGL, A. (2005): Untersuchungen zur Verbreitung der Chlamydieninfektionen bei Wiederkäuern in Bayern. 3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose: Chlamydieninfektionen der Nutztiere – Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte; 13. und 14. Oktober 2005.
- BOWEN, A., SPEARS, P., STORZ, J., SEIDEL, G. E. (1978): Mechanisms of infertility in genital tract infections due to *Chlamydia psittaci* transmitted through contaminated semen. J Infect Dis, 138 (1), 95-98.
- BRYSON, D. G., MCFERRAN, J. B., BALL, H. J., NEILL, S. D. (1978): Observations on outbreaks of respiratory disease in housed calves - (1) Epidemiological, clinical and microbiological findings. Vet Rec, 103, 485-489.
- BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT UND SOZIALE SICHERUNG (2003): Berufskrankheiten-Verordnung; Merkblatt zu der Berufskrankheit Nr. 3102 der Anlage zur Berufskrankheiten-Verordnung (BKV): „Von Tieren auf Menschen übertragbare Krankheiten“. Bundesarbeitsblatt 10/2003, S. 26 ff; 1. September 2003-414-45222-3102.
- CAVIRANI, S., CABASSI, C. S., DONOFRIO, G., DE IACO, B., TADDEI, S., FLAMMINI, C. F. (2001): Association between *Chlamydia psittaci* seropositivity and abortion in Italian dairy cows. Prev Vet Med, 50 (1-2), 145-151.
- CHANGQING, Q., YONGXIN, H., JIZHANG, Z., XIAO-AN, C., FANGFANG, Z. (2006): Epidemiological investigation of Chlamydiosis in dairy cattle in China. Indian J Anim Sci, 76(12), 985-987.
- DANIEL, R. G., HOLLIMAN, A., DAVID, G. P., KIRBY, F. D., SIMPSON, V. R., CRANWELL, M. P., DAWSON, M., GRIFFITH, P. C., BEVAN, B. J. (1993): Bovine Chlamydiosis in the United Kingdom. Vet Rec, 133, 351-352.
- DANNATT, L., DANIEL, P., GRIFFITH, P.C., DAWSON, M. (1998): Investigation of a possible role for *chlamydia* in a new disease syndrome in dairy cattle. Vet Rec, 143, 691-693.

- DEDIE, K., BOCKEMÜHL, J., KÜHN, H., VOLKMER, K.-J., WEINKE, T. (1993): Zoonosen bei Tier und Mensch; Enke Verlag Stuttgart; ISBN: 3-432-25061-4.
- DE GRAVES, F. J., GAO, D., HEHNEN, H. R., SCHLAPP, T., KALTENBOECK, B. (2003): Quantitative Detection of *Chlamydia psittaci* and *C. pecorum* by High-Sensitivity Real-Time PCR Reveals High Prevalence of Vaginal Infection in Cattle. *J Clin Microbiol*, 41 (4), 1726-1729.
- DOUGHRI, A. M., STORZ, J., ALTERA, K. P. (1972): Mode of Entry and Release of *Chlamydiae* in Infections of Intestinal Epithelial Cells. *J Infect Dis*, Vol. 126, No. 6, 652-657.
- DRDLICEK, J. (2009): Untersuchungen zum Vorkommen von *Chlamydiaceae* fam. und *Coxiella burnetti* als Aborterreger bei Rind und Schaf in Nordbayern. Dissertationsschrift, Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen, URN: urn:nbn:de:hebis:26-opus-70409; URL: <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2009/7040/> .
- EUGSTER, A. K., STORZ, J. (1971): Effect of colostral antibodies on the pathogenesis of intestinal chlamydial infections in calves. *Am J Vet Res*, 32 (5), 711-718.
- EVERETT, K. D. E., ANDERSEN, A. A. (1999): Identification of nine species of the *Chlamydiaceae* using PCR-RFLP. *Int J Syst Bacteriol*, 49, 803-813.
- EVERETT, K. D. E., BUSH, R. M., ANDERSEN, A. A. (1999a): Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Bacteriol*, 49, 415-440.
- EVERETT, K. D. E., HORNUNG L. J., ANDERSEN, A. A. (1999b): Rapid detection of the *Chlamydiaceae* and other families in the order *Chlamydiales*: Three PCR tests. *J Clin Microbiol*, 37, 575-580.
- EVERETT, K. D. E., BUSH, R. M., ANDERSEN, A. A. (2000): Phylogenetic analyses of five coding genes support the new *chlamydial* taxonomy. Proceedings of the 4th Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Helsinki, 20-23, 5.

- GAEDE, W., RECKLING, K. F., DRESENKAMP, B., KENKLIES, S., SCHUBERT, E., NOACK, U., IRMSCHER, H. M., LUDWIG, C., HOTZEL, H., SACHSE, K. (2008): *Chlamydophila psittaci* infections during an outbreak of psittacosis from poultry in Germany. *Zoonoses Public Health*, 55 (4), 184-188.
- GERARD, H. C., DRESES-WERRINGLOER, U., WILDT, K. S., DEKA, S., OSZUST, C., BALIN, B. J., FREY, W. H., BORDAYO, E. Z., WHITTUM-HUDSON, J. A., HUDSON, A. P. (2006): *Chlamydophila (Chlamydia) pneumoniae* in Alzheimer's brain. *Immunol Med Microbiol*, 48 (3), 355-66.
- GERBERMANN, H. (1991): Chlamydiose beim Rind und ihre Bedeutung im Fruchtbarkeitsgeschehen. *Wien Tierarztl Monatsschr*, 78, 13-18.
- GODIN, A.-C., BJÖRKMAN, C., ENGLUND, S., JOHANNSSON, K.-E., NISKANEN, R., ALENIUS, S. (2008): Investigation of *Chlamydophila spp.* in dairy cows with reproductive disorders. *Acta Vet Scand*, 50:39; doi: 10.1186/1751-0147-50-39.
- GOELLNER, S., SCHUBERT, E., LIEBLER-TENORIO, E., HOTZEL, H., SALUZ, H. P., SACHSE, K. (2006): Transcriptional response patterns of *Chlamydophila psittaci* in different *in vitro* models of persistent infection. *Infect Immun*, 74, 8, 4801-4808.
- GOKCE, H. I., KACAR, C., GENÇ, O., SOZMEN, M. (2007): Seroprevalence of *Chlamydophila abortus* in aborting ewes and dairy cattle in the North-East part of Turkey. *Bull Vet Inst Pulawy*, 51, 9-13.
- GREINER, M. (2003): Serodiagnostische Tests, Kapitel 3: Evaluierung diagnostischer Tests, 43, (Springer-Verlag) ISBN: 3540004017.
- GREIG, J.R. (1936): Enzootic abortion in ewes; a preliminary note. *Vet Rec*, 48, 1225-1227.
- GREUB, G. (2010): International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae: minutes of the closed meeting, 21 June 2010, Hof bei Salzburg, Austria. *Int J Syst Evol Microbiol*, 60, Pt 11, 2694.
- GRIFFITHS, P. C., PLATER, J. M., MARTIN, T. C., HUGHES, S. L., HUGHES, K. J., HEWINSON, R. G., DAWSON, M. (1995): Epizootic bovine abortion in a dairy herd: Characterization of a *Chlamydia psittaci* isolate and antibody response. *Br Vet J*, 151, 683-693.

- HAHN, D. L. (1999): *Chlamydia pneumoniae*, asthma, and COPD: what is the evidence? *Epidemiol Infect*, 83, 339-344.
- HARTUNG, M. (2007): Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2007. Mitteilungen der Länder zu Lebensmitteln, Tieren, Futtermitteln und Umweltproben. Homepage des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR), Abrufdatum 10.07.2009: http://www.bfr.bund.de/cm/238/erreger_von_zoonosen_in_deutschland_im_jahr_2007.pdf
- HEIL-FRANKE, G., PLAGEMANN, O., SINGER, H. (1993): Virologische und bakteriologische Untersuchungsergebnisse von abortierten Rinderfeten aus Nordbayern. *Tieraerztl Umsch*, 48, 16-20.
- HELMUTH, R., SACHSE, K. (2000): Molekularbiologische Verfahren in der Diagnostik. In: SACHSE, K., GALLIEN, P. (Hrsg.): Molekularbiologische Nachweismethoden ausgewählter Zoonoseerreger. *bgvv-Hefte 02/2000*, 3-6.
- HENNING, K., SACHSE, K., STING, R. (2000): Nachweis von Chlamydien bei einem Stutenabort. *Dtsch Tieraerztl Wschr*, 107, 49-52.
- HENNING, K., SACHSE, K., KIRSCHEN, P., BÖHMER, J., STRUTZBERG-MINDER, K., GROSSMANN, E. (2005): Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum Nachweis von Chlamydien-Antikörpern in Seren vom Schwein. *Berl Munch Tieraerztl Wschr*, 118, 1-7.
- HERRING, A. J. (1993): Typing *Chlamydia psittaci*- a review of methods and recent findings. *Br Vet J*, 149, 455-475.
- HIGUCHI, M. L., SANTOS, M. H., ROGGERIO, A., KAWAKAMI, J. T., BEZZERRA, H. G., CANZIAN, M. (2006): A role of archaeal organisms in development of atherosclerotic vulnerable plaques and myxoid matrices. *Clinics* 61 5: 473-478.
- HOLLBERG, W., APEL, J., ADAMS, W., HEIMBERG, P., SACHSE, K., HOTZEL, H., WINKELMANN, J. (2005): Prävalenz häufiger Erreger von Atemwegserkrankungen von 0 bis 8 Wochen alten Kälbern in NRW. 3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose: Chlamydieninfektionen der Nutztiere – Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte; 13. und 14. Oktober 2005.

- HOLLIMAN, A., DANIEL, R. G., PARR, J. G., GRIFFITH, P. C., BEVAN, B. J., MARTIN, T. C., HEWINSON, R. G., DAWSON, M., MUNRO, R. (1994): Chlamydiosis and abortion in a dairy herd. *Vet Rec*, 134, 500-502.
- HOTZEL, H., BERNDT, A., MELZER, F., SACHSE, K. (2004): *Chlamydiae* in wild boar (*sus scrofa* L.) population in Thuringia/Germany. *Vet Microbiol*, 103, 121-126.
- JAEGER, J., LIEBLER-TENORIO, E., KIRSCHVINK, N., SACHSE, K., REINHOLD, P. (2007): A clinically silent respiratory infection with *Chlamydophila* spp. in calves is associated with airway obstruction and pulmonary inflammation. *Vet Res*, 38 (5), 711-728.
- JEE, J. B., DE GRAVES, F. J., KIM, T. Y., KALTENBOECK, B. (2004): High Prevalence of Natural *Chlamydophila* Species Infection in Calves. *J Clin Microbiol*, 42 (12), 5664–5672.
- JONES, G. E. (1997): Chlamydial disease - more than just abortion. *Vet J*, 153(3), 307-10.
- KALTENBOECK, B., HEHNEN, H.-R., VAGLENOV, A. (2005): Bovine *Chlamydophila* spp. infection: Do we underestimate the impact on fertility? *Vet Res Commun*, 29 (Suppl. 1), 1-15.
- KALTENBOECK, B., SCHMEER, N., SCHNEIDER, R. (1997): Evidence for numerous omp1 alleles of porcine *Chlamydia trachomatis* and novel *chlamydia* species obtained by PCR. *J Clin Microbiol*, 35, 1835-1841.
- KAUFFOLD, J., MELZER, F., HENNING, K., SCHULZE, K., LEIDING, C., SACHSE, K., (2006): Prevalence of *Chlamydiae* in boars and semen used for artificial insemination. *Theriogenology*, 65, 9, 1750-1758.
- KAUFFOLD, J., HENNING, K., BACHMANN, R., HOTZEL, H., MELZER, F. (2007): The prevalence of *Chlamydiae* of bulls from six bull studs in Germany. *Anim Reprod Sci*, 102, 111-121.
- KEMMERLING, K., MUELLER, U., MIELENZ, M., SAUERWEIN, H. (2009): *Chlamydophila* species in dairy farms: polymerase chain reaction prevalence, disease association, and risk factors identified in a cross-sectional study in western Germany. *J Dairy Sci*, 92 (9), 4347-4354.

- KRÜGER, M. (1974): Experimentelle Bedsonieninfektion bei Kalb und Meerschweinchen – ein Beitrag zur Untersuchung der Ätiologie und Pathogenese der Bedonienerkrankungen des Kalbes unter besonderer Berücksichtigung des Atemapparates. Berlin, Humboldt-Universität; Biowiss. Fakultät; Dissertationschrift.
- LENART, J., ANDERSEN, A. A., ROCKEY, D. D. (2001): Growth and development of tetracyclin-resistant *Chlamydia suis*. *Antimicrob. Agents Chemother*, 45, 2198-2203.
- LONGBOTTOM, D., LIVINGSTONE, M. (2006): Vaccination against chlamydial infections of man and animals. *Vet J*, 171, 263-275.
- LOTTHAMMER, K.-H. (1992): Anforderungen an den Tierarzt in der Rinderpraxis der Zukunft. *Prakt Tierarzt*, 73 (12), 1152-1161.
- MARTINOV, S. (1984): Chlamydial infection in herds of cattle with abortions. *Vet Med Nauki*, 21(10). 81-88.
- NABEYA, M., KANEKO, K., OGINO, H., NAKABAYASHI, D., WATANABE, T., MURAYAMA, J., HAYASHI, K., FUKUSHI, H., YAMAGUCHI, T., HIRAI, K., INABA, Y., MATUMOTO, M. (1991): Abortion in Japanese cows caused by *Chlamydia psittaci*. *Vet Microbiol*, 29, 261-265.
- NEUVONEN, E. (1976): Occurrence of antibodies to group specific *Chlamydia* antigen in cattle and reindeer sera in Finnish Lapland. *Acta Vet Scand*, 17, 363-369.
- NEWHALL, W. J., JOHNSON, R. E., DELISLE, S., FINE, D. (1999): Head-to-head evaluation of five *Chlamydia* tests relative to a quality-assured culture standard. *J Clin Microbiol*, 37, 681-685.
- NIEMCZUK, K. (2005): Prevalence of antibodies against *Chlamydophila psittaci* and *Chlamydophila abortus* in cattle in Poland. A preliminary report. *Bull Vet Inst Pulawy*, 49, 293-297.
- NORTON, J. H., TRANTER, W. P., CAMPBELL, R. S. F. (1989): A farming systems study of abortion in dairy cattle on the Atherton Tableland: 2. The pattern of infectious diseases. *Aust Vet J*, 66 (6), 167-170.
- OPPERMANN, H. (1998): Ornithose-Erkrankungen im Zusammenhang mit Jungenten-Handel. *Epidemiologisches Bulletin des RKI* 38/98, 25. September 1998.

- PANTCHEV, A., STING, R., BAUERFEIND, R., TYCZKA, J., SACHSE, K. (2010): Detection of all *Chlamydophila* and *Chlamydia* spp. of veterinary interest using species-specific real-time PCR assays. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 33, 473-84.
- PERNTHANER, A., BAUMGARTNER, W., CERNY-REITERER, S., KÖFER, J. (1990): Seroepidemiological studies of the agent of respiratory diseases in cattle. *Dtsch Tierärztl Wochenschr*, 97 (6), 254-7.
- PETIT, T., SPERGSE, J., AURICH, J., ROSENGARTNER, R. (2008): Prevalence of *Chlamydiaceae* and *Mollicutes* on the genital mucosa and serological findings in dairy cattle. *Vet Microbiol*, 127, 325-333.
- PLAGEMANN, O. (1981): Chlamydien als Abortursache beim Schwein und als Differentialdiagnose zum SMEDI-Komplex. *Tierärztl Umsch*, 36, 842-846.
- POLLMANN, M. (2005): Einfluss eines probiotischen *Enterococcus faecium* auf die natürliche Infektionsrate beim Schwein. Dissertationsschrift, Freie Universität Berlin.
- POPOVICI, V., HIASTRU, F., DRAGHICI, D., BERBINSCHI, C., DOROBANTU, R. (1972): Isolation of *chlamydia* from pigs with various disorders. *Lucr Inst Cerc Vet Bioprep Pasteur*, 8, 19-28.
- POSPISCHIL, A., THOMA, R., HILBE, M., GREEST, P., GEBBERS, J. O. (2002): Abortion in woman caused by caprine *Chlamydophila abortus* (*Chlamydia psittaci* serovar 1). *Schw Med Wschr*, 132, 64-66.
- REINHOLD, P., SACHSE, K. (2004): Chlamydieninfektionen beim Tier. *Pneumologie*, 58, 278-280.
- REINHOLD, P., JAEGER, J., MELZER, F., SACHSE, K. (2005a): Evaluation of lung function in pigs either experimentally or naturally infected with *Chlamydiaceae*. *Vet Res Commun*, 29 (1), 125-150.
- REINHOLD, P., LANGENBERG, A., SACHSE, K. (2005b): The respiratory impedance in pigs experimentally infected with *Chlamydia suis*. *Atemwegs und Lungenerkrankheiten*, 31 (9), 481-482.

- REINHOLD, P., JAEGER, J., LIEBLER-TENORIO, E., BERNDT, A., BACHMANN, R., SCHUBERT, E., MELZER, F., ELSCHNER, M., SACHSE, K. (2008 a): Impact of latent infections with *Chlamydothila* species in young cattle. *Vet J*, 175, 202-211.
- REINHOLD, P., KIRSCHVINK, N., THEEGARTEN, D., BERNDT, A. (2008 b): An experimentally induced *Chlamydia suis* infection in pigs results in severe lung function disorders and pulmonary inflammation. *Vet Res*, 39 (3), 35.
- RØNSHOLT, L. (1977): Herd distribution of seropositive reagents to *Chlamydia* in Danish cattle. *Nord Vet Med*, 29 (11), 474-481.
- RØNSHOLT, L. (1978): *Chlamydia psittaci* infection in Danish cattle. *Acta Pathol Microbiol Scand B*, 86B(5), 291-297.
- RUHL, S., CASSON, N., KAISER, C., THOMA, R., POSPISCHIL, A., GREUB, G., BOREL, N. (2009): Evidence for *Parachlamydia* in bovine abortion. *Vet Microbiol*, 135 (1-2), 169-174.
- RUNGE, M., BINDER, A., SCHOTTE, U., VON KEYSERLINGK, M., ANDRZEJEWSKI, M., HAMANN-THÖLKEN, A., GANTER, M. (2005): Die Bedeutung von Chlamydien als Aborterreger in niedersächsischen Schafbeständen. 3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose: Chlamydieninfektionen der Nutztiere – Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte; 13. und 14. Oktober 2005.
- SACHSE, K., GROSSMANN, E. (2002): Chlamydienerkrankungen der Nutz- und Haustiere – Zoonotisches Potential der Erreger und diagnostische Fragen. *Dtsch Tierärztl Wochenschr*, 109, 142-148.
- SACHSE, K., HOTZEL, H. (2002): Detection and differentiation of *chlamydiae* by nested PCR. In: *Methods and Molecular Biology*, vol. 216: PCR Detection of Microbial Pathogens (Eds. SACHSE K., FREY, J.), 123-136, ISBN: 1-58829-049-2, Humana Press, Totowa NJ.
- SACHSE, K., GROSSMANN, E., JÄGER, C., DILLER, R., HOTZEL, H. (2003): Detection of *Chlamydia suis* from clinical specimens: Comparison of PCR, antigen ELISA and culture. *J Microbiol Methods*, 54, 233-238.
- SACHSE, K., MELZER, F., SCHUBERT, E., REINHOLD, P (2004): Chlamydiosen beim Rind; Pathogenese, Epidemiologie und Diagnostik. *Großtierpraxis*, 5, 14-18.

- SACHSE, K., VRETOU, E., LIVINGSTONE, M., BOREL, N., POSPISCHIL, A., LONGBOTTOM, D. (2009): Recent developments in the laboratory diagnosis of chlamydial infections. *Vet Microbiol*, 135, 2-21.
- SCHACHTER, J. E., STORZ, J., TARIZZI, M., BÖGEL, K. (1973): Chlamydia as agents of human and animal diseases. *Bull WHO*, 443-449.
- SCHACHTER, J. E., HILL, E. C., KING, E. B., COLEMANN, V. R.; JONES, P., MEYER, K. F. (1975): Chlamydial infection in woman with cervical dysplasia. *Am J Obstet Gynecol*, 123, 753-757.
- SCHMATZ, H. D., KRAUSS, H., VIERTEL, P., ISMAIL, A. S., HUSSEIN, A. A. (1978): Seroepidemiological investigations in domestic ruminants from Egypt, Somalia and Jordan for the demonstration of complement fixing antibodies against *Rickettsia* and *Chlamydia*. *Acta Trop*, 35(2), 101-111.
- SCHMIDT, S. M., MÜLLER, C. E., GÜRTLER, L., BRUNS, R., BALLKE, E.H., WIERSBITZKY, H., EHLERS, M., ROSE, H. J., WIERSBITZKY, S. K. W. (2005): *Chlamydophila pneumoniae* Respiratory Tract Infection Aggravates Therapy Refractory Bronchitis or Pneumonia in Childhood. *Klin Padiatr*, 217, 9-14.
- SCHMIDT, S. M., MÜLLER, C. E., MAHNER, B., WIERSBITZKY, S. K. W. (2002): Prevalence, rate of persistence and respiratory tract symptoms of *Chlamydophila pneumoniae* infection in 1211 kindergarten and school age children. *Pediatr Infect Dis J*, 21, 758-62.
- SCHOLZ, R. (1978): Die Verbreitung, Bedeutung und diagnostische Nachweisbarkeit von Chlamydien-Infektionen bei Tieren (mit Ausnahme der Vögel). Hannover: Veterinär-Medizin, Dissertationsschrift.
- SCHRÖDER, C. (2007): Untersuchung zu Inhaltsstoffen des Atemkondensates beim Kalb. Freie Universität Berlin, Dissertationsschrift, URL: http://www.diss.fu-berlin.de/diss/receive/FUDISS_thesis-000000002648.
- SHEWEN, P. (1980): Chlamydial infection in animals: a review. *Can Vet J*, 21, 2-11.
- SIMMERT, J. (2000): Vorkommen von mikrobiell bedingten Fortpflanzungsstörungen bei Rindern im nördlichen Baden-Württemberg unter besonderer Berücksichtigung von *Coxiella burnetti* und Bakterien der Gattung *Chlamydia*. Dissertationsschrift der Freien Universität Berlin; Journal-Nr. 2425.

- SKERMAN, V. B. D., MCGOWAN, V., SNEATH, P. H. A. (1980): Approved lists of bacterial names. *Int J Syst Bacteriol*, 30, 225-420.
- SPRINGER, W. T., FULTON, R. W., HAGSTAD, H. V., NICHOLSON, S. S., GARTON, J. D. (1982): Prevalence of *Mycoplasma* and *Chlamydia* in the nasal flora of dairy calves. *Vet Microbiol*, 7(4), 351-7.
- STING, R. (1997): *Chlamydia psittaci*-Infektionen bei Kühen und weiblichen Schafen im nördlichen Baden-Württemberg. *Tieraerztl Umsch*, 52, 332-339.
- STING, R., MANDL, J. (1995): Antigennachweis von *Chlamydia psittaci* aus Genitalsekreten und der Milch von Kühen sowie blutserologische Untersuchungen. *Tieraerztl Umsch*, 50, 167-175.
- STORZ, J., CARROLL, E. J., BALL, L., FAULKNER, L. C. (1968): Isolation of a psittacosis agent (*Chlamydia*) from semen and epididymis of bulls with seminal vesiculitis syndrome. *Am J Vet Res*, 29, 549-555.
- STORZ, J., KALTENBÖCK, B. (1993): Diversity of chlamydia-induced diseases. In: Z. Woldehiwet and M. Ristic (Hrsg.): *Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals*, Pergamon Press, Oxford / UK, 363-393.
- STORZ, J., KRAUSS, H. (1985): *Chlamydia*. In: *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren*. Bd. 5., Blobel und Schiesser (Hrsg.), Gustav Fischer Verlag, Jena, 447-531.
- STRAUBE, E., RÖDEL, J. (2000): Pathogenic mechanisms of chronic *Chlamydia* infections. Kapitel 1.1. in "*Chlamydia pneumoniae* and chronic diseases", L'AGE-STEHR, J. (Hrsg.); Springer Verlag; ISBN 3-540-41136-4.
- STRAUBE, E., RÖDEL, J., SALUZ, H.-P. (2005): Pathogenetische Mechanismen bei der Infektion mit Chlamydien. 3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose: Chlamydieninfektionen der Nutztiere – Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte; 13. und 14. Oktober 2005.
- SZEREDI, L., JANOSI, S. Z., TENK, M., TEKES, L., BOZSO, M., DEIM, Z., MOLNAR, T. (2006): Epidemiological and pathological study on the causes of abortion in sheep and goats in Hungary (1998-2005). *Acta Vet Hung*, 54 (4), 503-515.

- TEANKUM, K., POSPISCHIL, A., JANETT, F., BRUGNERA, E., HOELZLE, LE, HOELZLE, K., WEILENMANN, R., ZIMMERMANN, DR., GERBER, A., POLKINGHORNE, A., BOREL, N. (2007): Prevalence of *Chlamydia* in semen and genital tracts of bulls, rams and bucks. *Theriogenology*, 67 (2), 303-310.
- THEEGARTEN D., TESCHLER H., STAMATIS G., KONIETZKO N., MORGENROTH K. (1998): Pathologisch-anatomische Befunde bei der operativen Lungenvolumenreduktion des fortgeschrittenen Emphysems. *Pneumologie*, 52, 702-706.
- THEEGARTEN, D., MOGILEVSKI, G., ANHENN, O., STAMATIS, G., JAESCHOCK, R., MORGENROTH, K. (2000): The role of *Chlamydia* in the pathogenesis of pulmonary emphysema. Electron microscopy and immunofluorescence reveal corresponding findings as in atherosclerosis. *Virchows Arch*, 437, 190-193.
- THEEGARTEN, D., HOTZEL H., MOGILEVSKI, G. STAMATIS, G. ANHENN, O., SACHSE, K. (2002): Detection of *Chlamydia psittaci* in advanced pulmonary emphysema. *Eur Respir J*, 20 (38), 220.
- THEEGARTEN, D., HOTZEL, H., SACHSE, K., ROHDE, G., ANHENN, O. (2003): Detection of *Chlamydia psittaci* in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Infection*, 31 (1), 123.
- THEEGARTEN, D., SACHSE, K., MENTRUP, B., FEY, K., HOTZEL, H., ANHENN, O. (2008): *Chlamydophila spp.* infections in horses with recurrent airway obstruction: similarities to human chronic obstructive disease. *Resp Res*, 9, 14.
- VLAHOVIĆ, K., DOVČ, A., ŽUPANČIČ, Ž, PAVLAK, M., JERČIĆ, J. (2001): Comparison of serological procedures for diagnosis of infection with *Chlamydophila sp.* in bovines. *Veterinarski Arhiv*, 71 (6), 367-379.
- VRETOU, E., RADOUANI, F., PSARROU, E., KRITIKOS, I., XYLOURI, E., MANGANA, O. (2007): Evaluation of two commercial assays for the detection of *Chlamydophila abortus* antibodies. *Vet Microbiol*, 123, 153-161.
- WACHENDÖRFER, G., LOHRBACH, W. (1980): Neuere Erkenntnisse zur Humanpathogenität von Säugetierchlamydien. *Berl Munch Tieraerztl Wochenschr*, 93, 248-251.

- WALDER, G., HOTZEL, H., BREZINKA, C., GRITSCH, W., TAUBER, R., WÜRZNER, R., PLONER, F. (2005): An unusual cause of sepsis during pregnancy: recognizing infection with *Chlamydophila abortus*. *Obstet Gynecol*, 106 (5 Pt 2), 1215-1217.
- WANG, F.-I., SHIEH, H., LIAO, Y.-K. (2001): Prevalence of *Chlamydophila abortus* infection in domesticated ruminants in Taiwan. *J Vet Med Sci*, 63 (11), 1215-1220.
- WEBER, A. (2004): Zur aktuellen Epidemiologie ausgewählter bakterieller Zoonosen. *Gesundheitswesen*, 66, 26-30.
- WEHR, J., BEER, J. (1987): Chlamydien-Infektionen. *Infektionskrankheiten der Haustiere*. Teil I, 3. Aufl. J. Beer (Hrsg.), 372 - 389.
- WEHREND, A., FAILING, K., HAUSER, B., JAGER, C., BOSTEDT, H. (2005): Production, reproductive, and metabolic factors associated with chlamydial seropositivity and reproductive tract antigens in dairy herds with fertility disorders. *Theriogenology*, 63, 923-930.
- WERTH, D. (1989): Vorkommen und Bedeutung von *Chlamydia psittaci* und *Coxiella burnetti* bei Hund und Katze – Eine Literaturstudie. *Berl Munch Tieraerztl Wochenschr*, 102, 156-161.
- WHITE, G. (1965): Experimental production of pneumonia in calves by infection with an organism of the psittacosis-lymphogranuloma group. *Vet Rec*, 77, 1124-1126.
- WILSON, K., LIVINGSTONE, M., LONGBOTTOM, D. (2009): Comparative evaluation of eight serological assays for diagnosing *Chlamydophila abortus* infection in sheep. *Vet Microbiol*, 135, 38-45.
- WITTENBRINK, M.M., PETER, U., BISPING, W. (1987): Untersuchungen zum Vorkommen latenter Darminfektionen mit *Chlamydia psittaci* bei Rindern. *Berl Munch Tieraerztl Wochenschr*, 100, 377-381.
- WITTENBRINK, M.M., HORCHLER, H., BISPING, W. (1988): Untersuchungen zum Vorkommen von *Chlamydia psittaci* im Genitaltrakt und im Kot weiblicher Rinder. *J Vet Med*, 35, 237-246.

- WITTENBRINK, M. M. (1991): Anwendung eines amplifizierten Enzymimmunoassay zum Nachweis von *Chlamydien* in eitrigem Vaginalausfluß von Rindern mit einer chlamydienbedingten Endometritis. Berl Munch Tieraerztl Wochenschr, 104, 125-130.
- WITTENBRINK, M. M., SCHOON, H. A., SCHOON, D., MANSFELD, R., BISPING, W. (1993 a): Endometritis in cattle experimentally induced by *Chlamydia psittaci*. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health, 40, 437- 452.
- WITTENBRINK, M. M., BISPING, W., MROZEK, M., HORCHLER, H. (1993 b): Die intestinale *Chlamydia psittaci*- Infektion des Rindes: Häufigkeit sowie technische Aspekte des kulturellen Erregernachweises. Dtsch Tieraerztl Wochenschr, 100, 195-198.
- WITTENBRINK, M. M., GEFÄLLER, S., FAILING, K., BISPING, W. (1994 a): Einfluß von Bestands- und Tierfaktoren auf den Nachweis komplementbindender Antikörper gegen *Coxiella burnetii* beim Rind. Berl Munch Tieraerztl Wochenschr, 107, 185-191.
- WITTENBRINK, M. M., KIRPAL, G., THIELE, D., FISCHER, D., KRAUSS, H., BISPING, W. (1994 b): Nachweis von *Chlamydia psittaci* in Vaginalausfluß von Rindern: Eine notwendige Erweiterung der bakteriologischen Diagnostik zur ätiologischen Klärung von Fruchtbarkeitsstörungen beim weiblichen Rind. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health, 41, 492- 503.
- ZEHLE, H.-H. (2005): Erfahrungen mit dem Einsatz bestandsspezifischer Vakzinen gegen Chlamydien-Erkrankungen beim Rind. 3. Arbeitstagung des nationalen veterinärmedizinischen Referenzlabors für Psittakose: Chlamydieninfektionen der Nutztiere – Diagnostik, Pathogenese und zoonotische Aspekte; 13. und 14. Oktober 2005.

9 ANHANG

9.1 Fragebogen zur Erfassung der Betriebskennzeichen

Vertraulich !



**Projekt 26 Aufklärung der Pathogenese von Chlamydien-
assoziierten Erkrankungen beim Rind**

Checkliste

Kontrollnummer:

Fragenkatalog

Aufklärung der Pathogenese von chlamydienassoziierten Erkrankungen beim Rind

Fassung 27.10.2004

Datum: _____	Betrieb Nr. _____
Milchviehbetrieb <input type="checkbox"/>	Betriebsname: _____
Nachzucht <input type="checkbox"/>	Inhaber: _____
Remontierung <input type="checkbox"/>	Adresse: _____
Zuchtbetrieb <input type="checkbox"/>	Ort: _____
	Telefon: _____

Inhalt:

- 1 Allgemeine Betriebsangaben
 - 1.1 Herkunft der Tiere
- 2 Tierleistung + Qualität**
- 3 Gebäude + Halungsdaten**
 - 3.1 Gebäude
 - 3.2 Hygiene
 - 3.3 Aufstallung
 - 3.4 Weide
- 4 Fütterungs-/Tränkepraxis**
 - 4.1 Futter
 - 4.2 Tränke
- 5 Tiergesundheit**
 - 5.1 Pflege
 - 5.2 Tierarztbesuche
 - 5.3 Arzneimitteleinsatz
 - 5.4 Impfungen
 - 5.5 Gesundheitsstatus
- 6 Bewertung durch den Landwirt**

1 Allgemeine Betriebsangaben

Wer ist überwiegend für die Tiere zuständig	_____
Hoftierarzt	_____
Betriebsgröße in ha	_____
Nutzungsrichtung a) Grünland gesamt in ha	_____
davon im Sommer als Weide genutzt, in ha	_____
b) Ackerland in ha	_____
Welche Futterarten werden angebaut	_____

Haupterwerbszweig ja nein

Betrieb nach Verordnung (EG) Nr. 1804/1999 ja nein

konventionelle Haltung seit: _____

Mitglied in Verband _____

Welche anderen Tiere: Schweine _____ Tiere

Schafe _____ Tiere

Ziegen _____ Tiere

Pferde _____ Tiere

Weitere: Katzen Hunde Gänse Tauben Nager

Vögel Welche? _____

Sonstige Tiere _____

Anzahl der Tiere:

Kälber (bis 6 Monate): _____ Tiere

Jungrinder (bis zur ersten Geburt): _____ Tiere (bei eigener Nachzucht)

Kühe bis zur zweiten Geburt: _____ Tiere (bei eigener Nachzucht)

Ältere Kühe (ab zweiter Laktation): _____ Tiere

Masttiere _____

Zuchtbullen _____ (Name) _____

Soll aufgestockt werden? ja nein Anzahl

Soll abgestockt werden? ja nein Anzahl

Tierbesatz des Betriebes _____ GVE/ha

1.1 Herkunft der Tiere

selbst aufgezogen Ja Nein

zugekauft Ja Nein

welche Tiere Milchkühe Rinder Bulle

aus Ökobetrieb konv. Betrieb

aus Auktionen beiden

aus Deutschland NRW

EU sonst.

Werden die Tiere bei der Einstallung untersucht? Ja Nein

2 Tierleistung + Qualität

Rasse(n): Schwarz-Bunt Rot-Bunt

Kreuzung _____

Andere _____

Findet eine Erfassung der Leistungsdaten statt?

Milchleistung Ja Nein

Herdenmanagement Ja Nein

Wird dafür Software verwendet? Ja Nein

Bemerkungen _____

Erfasste Daten für das Jahr/Monat _____:

Milchleistung (Bestandsdurchschnitt) _____ kg Milch

_____ kg Fett _____ kg Eiweiß

_____ % Fett _____ % Eiweiß

Zellzahl _____ tausend / ml

Ø Zwischenkalbezeit _____

Ø Anzahl der Besamung / Trächtigkeit _____

3 Gebäude + Haltungsdaten**3.1 Gebäude**

Neubau Altgebäude

Sind bauliche Mängel bekannt ja nein

Art: _____

Geplante Umbauten ja nein

Art: _____

3.2 Hygiene

Waschbecken vorhanden ja nein

Bemerkungen _____

Stiefelreinigung vorhanden ja nein

Bemerkungen _____

Krankenstall vorhanden ja nein

Räumliche Abtrennung ja nein

Bemerkungen _____

Ist eine Kadaververwahrung vorhanden ja nein

Bemerkungen _____

Wird eine Schadnagerbekämpfung durchgeführt ja nein

Selbst durchgeführt ja nein

Frequenz _____

Werden die Ställe gereinigt ja nein

Zeitabstände _____

Wie erfolgt Reinigung (Hochdruck, Wasser,...) _____

Werden die Ställe desinfiziert ja nein

Welche Desinfektionsmittel _____

Trennung der Arbeitsgeräte/ Kleidung für Stallabteilungen ja nein

3.3 Aufstallung

	Stall A ¹⁾ (Milchkühe)	Stall B ¹⁾ (Jungrinder)	Stall C ¹⁾ (Kälber)
Ganzjährig	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Anbindestall	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Boxenlaufstall	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Einstreu			
Liegeplätze (Anzahl/Tiere)			
Fressplätze			
Stallboden			
Entmistungsverfahren			

¹⁾Bei unterschiedlichen Haltungsformen auf dem Betrieb differenzierte Bewertung**3.4 Weide**

a) Lage & Beschaffenheit:

Hanglage ja nein
Tallage ja nein
In Waldlichtungen ja nein
Zwischen Ackerflächen ja nein
Natürliche Wasserflächen ja nein
Tränkeeinrichtungen ja nein

b) Weidepflege

Handelsdünger ja nein
Wirtschaftseigener Dünger ja nein
Stallmist, Gülle, Jauche ja nein
Kalkung ja nein

Problematik Wildgänse, Tauben, sonstige Vögel ja nein

Bemerkungen _____

4 Fütterungs-/Tränkepraxis:

4.1 Futter

a) Fütterungssystem:

Milchkühe Manuell Automatisch
Jungrinder Manuell Automatisch
Kälber Manuell Automatisch

Bemerkungen _____

b) Art des Futtermittels

Grundfuttermittel _____

Heu ja nein
Grassilage ja nein
Maissilage ja nein
Rübenblattsilage ja nein
Rüben ja nein
Sonstiges ja nein

Kraffutter ja nein , welche _____

Bemerkungen _____

Fütterungszeiten _____

Eigene Futtermittel (in%) _____ Zukauf (in%) _____

Futtermittelszusammenstellung

Eigene Planung

Software

Beratung

Sonstige _____

Wird Futterqualität überprüft? Ja nein

Frequenz _____/Jahr

Worauf Inhaltsstoffe/ Zusammensetzung

Keimgehalt

Mykotoxine

Sonstige _____

4.2 Tränke

Stadtwasserversorgung Brunnenwasser

Wird Wasserqualität überprüft? ja nein

Frequenz _____x/Jahr

5 Tiergesundheit**5.1 Pflege**

Tiere:

sauber

mäßig verschmutzt

stark verschmutzt

Klauen _____x/Jahr

Bemerkungen _____

5.2 Tierarztbesuche

Routinekontrollen: _____

Anzahl der Besuche in 2003: _____

5.3 Arzneimitteleinsatz

vom Tierarzt 2003 verschriebene Mittel (Arzneimittelgruppen):

5.4 Impfungen

Impfungen:

IBR / IPV

BVD / MD Lebend Tot

Chlamydien Wann: _____ (Monat/Jahr)

andere: _____

5.5 Gesundheitsstatus

prophylaktisch-diagnostische Untersuchungen:

Allgemeinzustand: Fieber

Atemwege: Atemprobleme Husten Nasenausfluss

Magen-Darm: Durchfall Art: _____
Labmagenverlagerung

Gliedmaßen: Lahmheiten Art: _____
Arthritis
Verletzungen: Art: _____
Klauenerkrankungen

Parasitenbekämpfung: jährlich halbjährlich
¼ jährlich keine
bei Bedarf
eingesetzte Mittel : _____
Räude

Fortpflanzungstrakt:

Aborte	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Missbildungen	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Nachgeburtserhalten	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Geburtsparesen	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Mastitis	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Endometritis	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Vaginitis	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>

Sonstige Erkrankungen:

Konjunktividen	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Chron. grippale Infekte	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Pneumonien	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Herzerkrankungen	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Lebererkrankungen	Ja	<input type="checkbox"/>	nein	<input type="checkbox"/>
Sonstige Erkrankungen				

Verluste Milchkühe	Anzahl	_____	Prozent	_____%
Jungrinder	Anzahl	_____	Prozent	_____%
Kälber	Anzahl	_____	Prozent	_____%

Technopathien wenn ja, welche _____

Rückinformationen vom Schlachtbetrieb**Bemerkungen** _____**6 Bewertung durch den Landwirt****Eigene Einschätzung über Hauptprobleme bzgl. Tiergesundheit im Bestand:****Wirksamkeit von Arzneimitteln:**

9.2 Humanmedizinischer Fragebogen

Fragebogen „Chlamydien beim Rind“ (humanmedizinischer Teil)

Betrieb:

Person:	(Kontaktperson 1)	(Kontaktperson 2)
Geschlecht:		
Alter:		
Jetzige Tätigkeit:		
Zeitlicher Umfang der Tätigkeit mit Rindern pro Tag (aktuell, ggf. früher – falls Änderung):		
Zeitlicher Umfang anderer Tätigkeiten:		
Welche:		
Ggf. frühere (z. B.: Geflügel, Schweine usw.)		

Anamnese

Aktuelle Beschwerden		
Fließschnupfen	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit
Nasenatmungsbehinderung	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit
Husten	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit
	an den meisten Tagen des Monats für mindestens 3 Monate pro Jahr in den letzten 2 Jahren (tgl. Husten) ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	an den meisten Tagen des Monats für mindestens 3 Monate pro Jahr in den letzten 2 Jahren (tgl. Husten) ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
	bei Belastung ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	bei Belastung ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
	Anfallsweise ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	Anfallsweise ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Auswurf	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit
	Qualität	Qualität
	weiß <input type="checkbox"/>	weiß <input type="checkbox"/>
	purulent (eitrig) <input type="checkbox"/>	purulent (eitrig) <input type="checkbox"/>
hämorrhagisch (blutig) <input type="checkbox"/>	hämorrhagisch (blutig) <input type="checkbox"/>	

Dyspnoe (Luftnot) bei leichter Belastung (z. B. bei... _____) in Ruhe bei Allergenexposition (z. B. Pollenflug) anfallsweise	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit
Atopie (Allergieneigung, Neuro- dermitis, Asthma, Heu- schnupfen, allerg. Kon- junktivitis)	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> seit
Grippeimpfung	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> am	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> am
Nationalität deutsch	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Größe		
Gewicht		
Nikotin	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> nie <input type="checkbox"/> wie viel/ Tag	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> nie <input type="checkbox"/> wie viel/ Tag
<i>Medikation</i>	früher <input type="checkbox"/> zur Zeit <input type="checkbox"/>	früher <input type="checkbox"/> zur Zeit <input type="checkbox"/>
Steroide oral	<input type="checkbox"/> mg	<input type="checkbox"/> mg
Steroide inhalativ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Theophyllin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
B-Mimetikum (Spray)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
NAC (ACC, Bromuc, Fluimuzil, u. a.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ambroxol (Mucosolvan, u.a.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O2-Langzeittherapie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Andere		

andere Bemerkungen, ggf. frühere Beschwerden:

9.3 Rohdaten der Einzeltieruntersuchungen (tabellarisch)

9.3.1 Tabelle A 1: Betrieb 1

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T1	Kalb	40	120	66		struppiges Fell, kachektisch
T2	Kalb	39,9	110	60		struppiges Fell, fester aufgeblähter Bauch
T3	Jungrind	39,2	70	38	2	Husten
T4	Jungrind	39,1	72	40		Husten
T5	Jungrind	39,1	76	32	1	struppiges Fell, Husten
T6	Kuh in 1. Lakt.	38,2	72	36	4	
T7	Kuh in 1. Lakt.	38,6	70	70	6	Pyometra vor ca. 3 Monaten
T8	Ältere Kuh	37,9	48	20	4	vor ca. 2 Monaten ca. 5 Monate altes Kalb verworfen
T9	Ältere Kuh	38,9	90	28	1 bis 2	viele erfolglose Besamungen
T10	Ältere Kuh	39,1	60	36	2	Kalbung vor ca. 5 Wochen
T11	Ältere Kuh	38,5	96	48	3	eitriger Nasenausfluss, bronchiales Atemgeräusch, orangengroßer Abszess am Tarsalgelenk, Liegeschwielen am Karpalgelenk
T12	Indextier	38,9	70	54	4	Schmerzreaktion bei Probenentnahme mit Vaginaltupfer, Lahmheit
T13	Indextier	39,1	120	40		Kalb, weiblich, rechtes Auge blind
T14	Indextier	38,1	72	46	4	starker Nasenausfluss
T15	Indextier	38,4	60	20	4	starker Nasenausfluss, starke Salivation; Tarsalgelenk: orangengroßer Abszess

9.3.2 Tabelle A 2: Betrieb 2

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T16	Ältere Kuh	38,97	76	40	5	Labmagen OP u. Behandlung vor ca. 3 Monaten, Leistung rückläufig
T17	Ältere Kuh	39,2	80	44	3	Seröser Augenausfluss rechts, Labmagen OP, Klauen-erkrankung (Mortellaro)
T18	Kuh in 1. Lakt.	38,6	80	36	4	Augenentzündung; Hornhautödem mit eingewachsenen Gefäßen
T19	Indextier	39,4	60	60	4	Nachgeburtverhalten, struppiges Fell
T20	Indextier	38,85	92	48	3	Auge: Hornhautödem
T21	Ältere Kuh	38,5	72	44	4	altes Tier
T22	Indextier	38,6	76	44	3	Mastitis, hohe Zellgehalte
T23	Kuh in 1. Lakt.	38,4	100	56	2	nach Kalbung starker Leistungsrückgang, struppiges Fell, Husten, Labmagen OP
T24	Indextier	38,3	68	44	2	schwere Mastitis
T25	Indextier	38,6	96	40	4	Nachgeburtverhalten
T26	Kalb	39,51	96	74	Vorhanden	serös-eitriger Nasenausfluss, Atemgeräusch
T27	Kalb	39,4	80	68	4	
T28	Jungrind	39,3	84	22	4	Husten
T29	Jungrind	39,44	56	26	2	
T30	Jungrind	39,7	84	24	2	

9.3.3 Tabelle A 3: Betrieb 3

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T31	Kalb	38,9	100	36	5	vor einer Woche enthornt
T32	Kalb	39,3	100	36	2	vor einer Woche enthornt
T33	Indextier	38,4	80	20	2	Klauenprobleme
T34	Indextier	38,4	80	20	4	Sprunggelenkserguss, Euter: Strich vorne links verkümmert
T35	Indextier	38,8	92	30	2	Klauen- und Gelenkprobleme, vor 1 Woche gekalbt (Schwergeburt), geringgradiger Durchfall
T36	Indextier	38,6	88	34	2	schlechter Allgemein- und Ernährungszustand, Tarsal- und Karpalgelenkserguss
T37	Ältere Kuh	38,8	100	28	3	
T38	Ältere Kuh	38,8	48	40	3	Trockensteher
T39	Ältere Kuh	38,6	60	26	2	
T40	Jungrind	38	64	28	2	Karpalgelenkserguss rechts
T41	Jungrind	38,2	60	22	3	Augenausfluss
T42	Jungrind	38,6	76	22	2	Pflege- und Ernährungszustand mäßig, Aphte in linkem Nasenloch
T43	Kuh in 1. Lakt.	38,4	80	30	5	
T44	Kuh in 1. Lakt.	38,9	100	20	2	
T45	Indextier	38,8	80	30	2	am 20.11.04 Totgeburt im 7. Monat, Nachgeburtverhalten, Endometritis

9.3.4 Tabelle A 4: Betrieb 4

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T46	Indextier	38,1	40	20	3	entzündetes Auge, Hornhautödem, Karpalgelenksentzündung
T47	Indextier	38,1	60	28	5	Hautabschürfung am linken Sprunggelenk, Bläschen an der Vaginalschleimhaut
T48	Ältere Kuh	38,9	80	22	3	Pflege- und Allgemeinzustand mäßig (lange Klauen, stumpfes Fell), Augenausfluss
T49	Indextier	38,4	56	20	2	somnolent
T50	Ältere Kuh	37,3	60	24	3	etwas Augenausfluss, blasse Vaginalschleimhaut
T51	Ältere Kuh	38,4	80	22	3	Tier leicht verfettet
T52	Kuh in 1. Lakt.	38,1	68	18	3	
T53	Indextier	38,7	88	32	2	Karpalgelenksentzündung, Hautabschürfungen am Tarsalgelenk
T54	Kuh in 1. Lakt.	39	60	20	2	Hautabschürfungen am Tarsalgelenk
T55	Indextier	39	64	50	3	Tier adipös, bereits 39 Monate alt, hat noch nicht gekalbt (bisher nicht aufgenommen)
T56	Jungrind	39,4	60	60	3	
T57	Jungrind	39,1	100	56	1	leicht adipös
T58	Jungrind	38,9	72	38	3	Somnolent
T59	Kalb	39	80	40	2	Kälberflechte, Probleme bei Milchaufnahme
T60	Kalb	38,9	100	40	2	Kälberflechte, schlechte Milchaufnahme

9.3.5 Tabelle A 5: Betrieb 5

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T61	Ältere Kuh	38,5	52	22	4	Ernährungszustand mäßig, Erosion an Sitzbeinhöcker, Tarsalgelenkschwellung, entlastet Hintergliedmaße
T62	Ältere Kuh	39,3	68	24	4	Ernährungszustand mäßig, Kyphose
T63	Ältere Kuh	38,4	56	22	5	Mortellaro, Erosion linkes Tarsal- und Karpalgelenk
T64	Kuh in 1. Lakt.	38,4	56	18	3	Kniegelenkserguss
T65	Kuh in 1. Lakt.	38,5	44	24	5	entlastet Hintergliedmaße
T66	Indextier Kuh in 1. Lakt.	38,4	84	28	3	Mortellaro Hintergliedmaße
T67	Indextier Kuh in 1. Lakt.	38,8	56	30	3	Pflegezustand mäßig (Tier liegt auf Spalten), ggrd. Durchfall, Husten
T68	Indextier Kuh in 1. Lakt.	38,3	64	28	5	offener Tarsalgelenksabszess, entlastet deutlich rechte Hintergliedmaße
T69	Jungrind	38,7	68	40	3	
T70	Jungrind	39	72	44	3	
T71	Jungrind	39,1	100	32	2	
T72	Kalb	39,4	60	22	4	
T73	Kalb	39,2	110	48	3	Kälberflechte
T74	Indextier Kalb	38,4	64	34	2	Zukaufftier, Pneumonie, kachektisch
T75	Jungrind	39,1	76	26	4	Hochtragend

9.3.6 Tabelle A 6: Betrieb 6

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T76	Kuh in 1. Lakt.	38,7	80	52	5	Drei erfolglose Besamungen; hinten links Mortellaro
T77	Kuh in 1. Lakt.	38,4	68	28	3	Eine erfolglose Besamung; keine Auffälligkeiten bei gynäkologischer Untersuchung
T78	Ältere Kuh	39	60	44	2	Besamung in 2004 mehrfach erfolglos, große Fruchtbarkeitsprobleme, Tarsalgelenkschwellung
T79	Indextier Ältere Kuh	39,5	60	36	0	Aktuell Milchleistungsrückgang
T80	Indextier Ältere Kuh	38,4	60	56	3	Fruchtbarkeitsprobleme 2004, Stoffwechsel instabil
T81	Indextier Ältere Kuh	38,7	60	56	2	Fundamentschwäche, absolute Herz-Arrhythmie, Vaginitis
T82	Indextier Ältere Kuh	38,8	80	56	3	nach kurierter Gebärmutterentzündung Besamung mehrfach erfolglos
T83	Ältere Kuh	38,9	70	30	5	Karpal- u. Tarsalgelenkentzündung mit Abszessbildung, Mortellaro hinten links
T84	Ältere Kuh	38,7	72	32	3	Vaginitis
T85	Jungrind	38,4	60	28	4	
T86	Indextier Jungrind	38,7	88	56	2	vorne links hochgradige Karpalgelenkentzündung
T87	Jungrind	38,4	80	36	3	Karpalgelenkserguss
T88	Jungrind	38,5	68	46	4	Umfangvermehrungen (Papillome) linke Halsseite
T89	Kalb	39,1	92	34	1	
T90	Kalb	39,4	120	34	2	

9.3.7 Tabelle A 7: Betrieb 7

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T106	Ältere Kuh	37,7	54	32	2	Mortellaro Hintergliedmaßen, Karpalgelenkserguss
T107	Ältere Kuh	38,4	80	26	3	vor 10 Tagen gekalbt, hatte Milchfieber, Nachgeburtsverhalten, Lahmheit
T108	Ältere Kuh	37,8	68	28	2	Nasenausfluss
T109	Kuh in 1. Lakt.	38,4	68	30	2	Nasenausfluss, Karpalgelenkserguss
T110	Kuh in 1. Lakt.	38,2	68	24	2	Karpalgelenkserguss
T111	Jungrind	38,5	74	32	2	
T112	Jungrind	38,3	68	28	2	
T113	Jungrind	38,1	64	32	3	
T114	Jungrind	38,1	88	30	2	seröser Nasenausfluss
T115	Indextier Jungrind	38,2	66	40	3	vor ca. 8 Wochen im 4. Trächtigkeitsmonat verkalbt
T116	Indextier Jungrind	40,4	80	34	2	am 19.8.05 im 6. Trächtigkeitsmonat verkalbt (Zwillinge), Nachgeburtsverhalten, Mortellaro der Hintergliedmaßen, Klauen der Vordergliedmaßen zu lang
T117	Indextier Jungrind	37,8	60	30	2	plötzlicher Leistungsabfall (Milchrückgang) seit ca. 1 Woche, Husten
T118	Jungrind	38,7	72	40	4	Karpalgelenkserguss
T119	Kalb	39,9	120	52	2	geb. am 9.2.05, bei Untersuchung aufgeregt
T120	Kalb	38,9	150	60		sehr aufgeregt

9.3.8 Tabelle A 8: Betrieb 8

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T121	Kalb	38,9	120	28	2	Scheidenschleimhaut weist petechiale Blutungen auf, seröser Nasenausfluss
T122	Kalb	38,8	120	34	3	seröser Nasenausfluss
T123	Kuh in 1. Lakt.	38,4	60	30	2	
T124	Kuh in 1. Lakt.	38,5	64	44	4	
T125	Ältere Kuh	38,6	76	48	2	
T126	Indextier Ältere Kuh	38,2	76 arhythmisch	32	3	1999 positiver Chlamydienantikörper-Nachweis per ELISA; Tier 13 Jahre alt, hatte vor dem Kalben Probleme aufzustehen
T127	Indextier Ältere Kuh	38,8	80	44	4	Euterprobleme, Milch: Zellgehalte erhöht; Ernährungszustand mäßig, Erosion am Sitzbeinhöcker, Zwischenklauenekzem
T128	Indextier Ältere Kuh	37,4	60	28	2	vor ca. 2 Monaten im 4. Trächtigkeitsmonat verkalbt, Vaginalschleimhaut gerötet, Nasenausfluss
T129	Ältere Kuh	38,2	64	40	3	Milch: erhöhte Zellgehalte; Fruchtbarkeitsprobleme, geb. 1992, entlastet alle Gliedmaßen
T130	Ältere Kuh	38,5	60	34	2	Scheidenschleimhaut mit Bläschen, Fruchtbarkeitsprobleme
T131	Ältere Kuh	38,6	80	36	2	Euterprobleme in der Vergangenheit, Zwischenklauenekzem
T132	Indextier Ältere Kuh	38,3	68	32	2	Fruchtbarkeitsprobleme, Verhärtung im Euter
T133	Jungrind	38,4	84	24	2	Scheidenschleimhaut mit Bläschen
T134	Jungrind	38,3	60	36	1	Scheidenschleimhaut mit Bläschen
T135	Jungrind	38,3	64	26	1	Pansenmotorik schwach

9.3.9 Tabelle A 9: Betrieb 9

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T151	Kuh in 1. Lakt.	37,2	74	44	3	
T152	Kuh in 1. Lakt.	39,2	84	52	3	
T153	Ältere Kuh	37,7	102	40	4	Augenausfluss
T154	Ältere Kuh	38,2	98	30	4	Schleimhäute ödematisiert
T155	Ältere Kuh	38,5	94	52	3	Augenausfluss
T156	Indextier Ältere Kuh	38,3	80	44	4	als Jungtier Pneumonie
T157	Indextier Ältere Kuh	38,5	104	54	5	Altes Tier; 9 1/2 J.; 7 Kalbungen; Zwischenklauenekzem; Karpalgelenkergüsse
T158	Indextier Ältere Kuh	38,2	70	54	3	Sterilität; Endometritis IV. Grades; Eierstockzysten; 4,5 Jahre; 2 Kalbungen
T159	Indextier Kalb	41,3	160	78	3	Absetzer, ca. 3 Monate; Husten; homöopathisch behandelt; eitriger Nasenausfluss; Atem- geräusch
T160	Jungrind	37,7	72	42	3	seröser Nasenausfluss
T161	Jungrind	38,9	120	42	4	Bläschen auf Vaginalschleim- haut; Augenausfluss beidseitig
T162	Jungrind	39,1	118	54	4	Augenausfluss beidseitig
T163	Jungrind	38,7	104	60	4	Augenausfluss beidseitig; sero- muköser Nasenausfluss
T164	Kalb	39,2	130	48		
T165	Kalb	39,1	120	58		

9.3.10 Tabelle A 10: Betrieb 10

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T136	Kuh in 1. Lakt.	38,4	68	34	2	
T137	Ältere Kuh	38,1	60	30	2	ca. 10 Jahre alt
T138	Kuh in 1. Lakt.	37,7	78	34	2	Seröser Nasenausfluss
T139	Ältere Kuh	38,2	60	40	2	Nasenausfluss, vorne links Karpalgelenkerguss, Zwischenklauenekzem
T140	Ältere Kuh	38,3	44	36	4	Trockensteher, kurz vor der Kalbung, Zwischenklauenekzem
T141	Indextier Ältere Kuh	38,3	60	28	2	Trockensteher, Fruchtbarkeitsproblem, jetzt tragend, bronchiales Atemgeräusch, hatte Labmagen-OP, Zwischenklauenekzem
T142	Jungrind	38,7	76	40	2	
T143	Jungrind	38,7	80	36	3	Bläschen auf Scheidenschleimhaut
T144	Jungrind	38,8	80	44	2	
T145	Jungrind	38,4	68	32	3	
T146	Jungrind	38,3	84	54	4	
T147	Indextier Kalb	39,3	76	42	0	3 Wochen alt, behandelt wegen Durchfall und Fieber
T148	Indextier Kalb	39,9	72	56	0	Hornhautverletzung Auge rechts, Augenausfluss links
T149	Kalb	39	96	54	0	Husten, seit 14 Tagen im Betrieb (Auktionstier), seröser Nasenausfluss, verstärktes Atemgeräusch, Kehlkopftzündung
T150	Kalb	39,2	80	48	3	hatte in der Vergangenheit starken blutigen Durchfall (Verdacht Kokzidien oder Kryptosporidien), eitriger Nasenausfluss, Zwischenklauenekzem

9.3.11 Tabelle A 11: Betrieb 11

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T181	Ältere Kuh	38,5	84	52	4	wird schlecht tragend, Zwischenklauenekzem
T182	Ältere Kuh	38,7	72	38	3	
T183	Ältere Kuh	39,9	64	96	3	Altes Tier, ca. 10 Jahre, Euterprobleme, Zwischenklauenekzem
T184	Kuh in 1. Lakt.	38,9	64	84	2	vor 1 Woche gekalbt
T185	Kuh in 1. Lakt.	39,1	80	80	3	
T186	Indextier	38,6	78	74	2	Lahmheit
T187	Indextier	38,6	76	68	3	Euter: erhöhte Zellgehalte auf einem Viertel; Fruchtbarkeitsprobleme, Zwischenklauenekzem, Kapalgelenkerguss, schmerzhaft
T188	Indextier Ältere Kuh	38,4	96	48	3	hat letztes Jahr 6 Wochen vor Geb.termin verkalbt, ca. 5 Jahre (1 Kalb), Bläschen auf Vaginalschleimhaut, Zwischenklauenekzem,
T189	Indextier Kuh in 1. Lakt.	38,8	60	72	2	nicht tragend, ca. 4 Jahre, Geb.verletzung der Scheide (Hämatom)
T190	Jungrind	39	80	40	3	> 6 Monate, von Nov./Dez. 2004
T191	Jungrind	38,9	68	60	3	> 6 Monate, von Nov./Dez. 2004
T192	Jungrind	39,7	100	44	2	> 6 Monate, von Nov./Dez. 2004
T193	Jungrind	39,6	100	80	2	> 6 Monate, von Nov./Dez. 2004
T194	Kalb	40	100	90		Geburtsdatum: 28.08.05
T195	Kalb	40,1	108	60		Geburtsdatum: 13.08.05

9.3.12 Tabelle A 12: Betrieb 12

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T91	Indextier Ältere Kuh	37,9	68	22	5	2-3 Mal verkalbt
T92	Indextier Ältere Kuh	38,4	80	28	2	Lungen- und Euter-probleme, Atemgeräusch, Mortellaro hinten links
T93	Indextier Ältere Kuh	38,4	94	28	5	kachektisch, Leistungsprobleme, sehr dünner Kot
T94	Indextier Ältere Kuh	38	94	28	2	Euter: hohe Zellgehalte in Milch, Mortellaro, entlastet Vorder- gliedmaße
T95	Indextier Ältere Kuh	39,1	60	60	2	Mehrmals Lungen-entzündung, Milch: erhöhte Zellgehalte; Nasenausfluss, Läsion am Auge
T96	Jungrind	38,6	78	50	2	kalbt in 2 Wochen, Erosion am Hüfthöcker, Nabelbruch
T97	Ältere Kuh	38,3	60	22	3	Kachektisch
T98	Ältere Kuh	38,4	74	28	2	Atemwegserkrankung
T99	Ältere Kuh	40,1	80	32	3	Kachektisch, deutliches Atem- geräusch, Läsion Scheide
T100	Kuh in 1. Lakt.	37,8	80	32	4	Zukauf tier (vor 6 Monaten), Leistungsknick nach ca. 4 Wochen, Atemwegsprobleme, vor 10 Tagen gekalbt
T101	Kuh in 1. Lakt.	40,6	80	24	2	deutliches Atemgeräusch, Vaginalschleimhaut gerötet
T102	Ältere Kuh	39	76	26	4	Jährlich Phase mit Atemwegsproblemen, Milch: Zellgehalte erhöht, Abszess am Sitzbeinhöcker, Nasenausfluss
T103	Jungrind	38,6	94	26		Hochtragend
T104	Kalb	39,4	84	30		
T105	Kalb	39,4	130	40		Geb. 18.08.2005

9.3.13 Tabelle A 13: Betrieb 13

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T166	Kuh in 1. Lakt.	37,8	90	40	4	haarlose Stellen an Tarsalgelenken
T167	Ältere Kuh	37,9	89	39	4	Augenausfluss
T168	Ältere Kuh	38	90	44	5	Verschärftes Atemgeräusch, Husten
T169	Ältere Kuh	40,3	92	54	4	Husten, haarlose Stelle auf Tarsalgelenk beidseitig außen
T170	Indextier Ältere Kuh	38,1	70	50	4	Ernährungszustand: mäßig; nach Kalben stoffwechselbedingte Probleme; Milch: hohe Zellzahl; Gelenksarthrosen; Zwischenklauenekzem; ca. 12 Jahre
T171	Indextier Ältere Kuh	38,3	76	44	4	Zwischenklauenekzem Hgldm.; ältestes Tier; haarlose Stelle an Tarsalgelenk
T172	Kuh in 1. Lakt.	38	68	60	3	haarlose Stelle an Karpalgelenk
T173	Indextier Ältere Kuh	38,4	84	42	3	Nachgeburtverhalten, Endometritis; haarlose Stellen an Tarsalgelenken
T174	Indextier Ältere Kuh	39,2	82	88	3	Nachgeburtverhalten, Endometritis, Husten
T175	Jungrind	38,8	90	42	3	Bläschen auf der Vaginalschleimhaut
T176	Jungrind	38,7	98	38	4	haarlose Stelle am linken Tarsalgelenk, Bläschen auf der Vaginalschleimhaut
T177	Jungrind	39	78	44	3	Bläschen auf der Vaginalschleimhaut
T178	Jungrind	38,8	98	40	3	
T179	Kalb	40,2	116	76	3	Augenausfluss, Husten, Atemgeräusch
T180	Kalb	39,9	116	96	3	Augenausfluss, Husten, Atemgeräusch

9.3.14 Tabelle A 14: Betrieb 14

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T196	Ältere Kuh	38,1	60	30	3	EZ mäßig, Labmagen-OP, Kaiserschnitt
T197	Ältere Kuh	38,6	60	45	2	Karpalgelenkserguss, Zwischenklauenekzem, am rechten Tarsalgelenk kindskopfgröße Umfangs-
T198	Ältere Kuh	38,6	88	30	2	Hämatom am Sitzbeinhöcker, Zwischenklauenekzem, am Tarsalgelenk Druckstelle
T199	Indextier	38,4	88	28	2	Läsion und Bläschen auf Vaginalschleimhaut, Zwischenklauenekzem, Erosion am Hüftbein-
T200	Indextier Kuh in 1. Lakt.	38,8	88	50	2	Lahmheit
T201	Kuh in 1. Lakt.	38,4	64	30	2	Bläschen auf Vaginalschleimhaut
T202	Jungrind	38,7	60	36	2	Bläschen auf Vaginalschleimhaut, wird nicht tragend, Zwischenklauenekzem
T203	Jungrind	38,4	64	36	1	Augenausfluss links, wird nicht tragend
T204	Kuh in 1. Lakt.	38,4	64	28	2	Bläschen auf Vaginalschleimhaut
T205	Indextier	38,8	80	40	2	Kachektisch, verkalbt, Lahmheit der Hgldm. Zwischenklauenekzem, Karpalgelenksergüsse
T206	Indextier	38,6	60	44	2	Lahmheit, Wirbelsäule verletzt, Labmagen-verlagerung rechts, kopfgröße Umfangsvermehrung in
T207	Jungrind	38,2	80	20	2	Bläschen auf Vaginalschleimhaut
T208	Jungrind	38,8	92	28	2	
T209	Kalb	39,1	88	46	1	
T210	Kalb	39,3	32	36	3	

9.3.15 Tabelle A 15: Betrieb 15

Tier	Gruppe	Temp. in °C	Pulsschläge pro Minute	Atemzüge pro Minute	Pansen-geräusche pro 2 Minuten	Bemerkungen
T211	Kuh in 1. Lakt.	38,6	96	22	4	Augenentzündung
T212	Kuh in 1. Lakt.	39	72	28	3	Zwischenklauenekzem, Augenentzündung
T213	Ältere Kuh	38,7	64	40	2	Lahmheit durch Klauenprobleme
T214	Ältere Kuh	38,3	64	24	1	
T215	Ältere Kuh	38,6	80	26	2	Lahmheit der Hgldm.
T216	Indextier Ältere Kuh	38,2	80	36	2	altes Tier, mandarinengroße Erosion am Sitzbeinhöcker
T217	Indextier Kalb	39,3	120	60	0	Husten, Atemgeräusch
T218	Jungrind	38,8	80	34	2	geb. 24.04.05
T219	Jungrind	38,7	120	34	3	geb. 27.05.05
T220	Jungrind	39,2	140	60	2	geb. 30.06.05, Husten, Atemgeräusch
T221	Jungrind	39	120	32	3	
T222	Jungrind	39,1	60	40	2	
T223	Indextier	38,4	128	60	3	Husten
T224	Indextier	38,8	120	32	3	
T225	Indextier	38,2	72	24	2	10 Kälber, älteres Tier

9.4 Ergebnisse des Friedrich-Loeffler-Institutes; Diagnostik (tabellarisch)

Tabelle A 16: Ergebnisse der Untersuchungen mittels PCR, CHEKIT[®]-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) und Kultur (1 = positiv; 0 = negativ). Dargestellt werden die Untersuchungsergebnisse für den jeweiligen Betrieb, die Altersgruppen sowie Indextiere

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
1	1	Kalb	1	0	0	nicht vorh.	0	0	
1	2	Kalb	1	1	0	nicht vorh.	<i>fraglich</i>	0	
1	3	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
1	4	Jungrind	1	0	0	nicht vorh.	0	0	
1	5	Jungrind	0	0	1	nicht vorh.	1	1	
1	6	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
1	7	Kuh in 1. Lakt.	1	0	0	0	0	0	
1	8	Ältere Kuh	1	0	0	0	1	1	
1	9	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	1	
1	10	Ältere Kuh	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	<i>fraglich</i>	
1	11	Ältere Kuh	1	0	0	0	1	1	
1	12	Indextier	0	0	1	0	1	0	0/0
1	13	Indextier	0	0	1	nicht vorh.	1	1	
1	14	Indextier	0	0	0	1	0	0	
1	15	Indextier	0	0	0	1	1	nicht vorh.	
2	16	Ältere Kuh	0	1	0	0	1	1	
2	17	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
2	18	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
2	19	Indextier	0	0	0	0	1	1	
2	20	Indextier	0	0	0	0	1	1	
2	21	Ältere Kuh	0	0	1	0	1	<i>fraglich</i>	
2	22	Indextier	0	0	0	0	1	0	
2	23	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
2	24	Indextier	0	0	0	0	1	1	
2	25	Indextier	0	0	0	0	1	<i>fraglich</i>	

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
2	26	Kalb	0	0	nicht vorh.	nicht vorh.	0	0	
2	27	Kalb	0	0	nicht vorh.	nicht vorh.	0	0	
2	28	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
2	29	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	0	0	0/0
2	30	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	0	0	0/0
3	31	Kalb	0	0	nicht vorh.	nicht vorh.	0	0	
3	32	Kalb	1	1	nicht vorh.	nicht vorh.	0	0	2x 1/pec orum
3	33	Indextier	0	0	0	0	0	0	
3	34	Indextier	1	0	0	0	0	0	
3	35	Indextier	0	0	0	0	0	0	
3	36	Indextier	0	0	0	0	0	0	
3	37	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	0	
3	38	Ältere Kuh	0	0	0	nicht vorh.	0	0	
3	39	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
3	40	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	0	
3	41	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	0	0	0/0
3	42	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	<i>fraglich</i>	
3	43	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
3	44	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	0	0	
3	45	Indextier	0	0	0	0	0	0	
4	46	Indextier	0	0	0	1	1	1	
4	47	Indextier	1	1	1	1	1	1	
4	48	Ältere Kuh	1	0	1	1	<i>fraglich</i>	0	
4	49	Indextier	0	0	1	1	1	1	
4	50	Ältere Kuh	1	1	0	1	0	0	
4	51	Ältere Kuh	0	1	1	1	0	0	

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
4	52	Kuh in 1. Lakt.	1	0	1	1	1	<i>fraglich</i>	
4	53	Indextier	1	1	1	1	1	1	
4	54	Kuh in 1. Lakt.	1	1	1	1	1	1	
4	55	Indextier	1	1	1	nicht vorh.	0	0	
4	56	Jungrind	1	1	0	nicht vorh.	0	0	
4	57	Jungrind	1	1	0	nicht vorh.	0	0	
4	58	Jungrind	1	0	0	nicht vorh.	1	1	
4	59	Kalb	1	1	0	nicht vorh.	1	1	
4	60	Kalb	1	0	1	nicht vorh.	0	<i>fraglich</i>	
5	61	Ältere Kuh	0	0	1	0	1	1	
5	62	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
5	63	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
5	64	Kuh in 1. Lakt.	0	0	1	0	1	1	1
5	65	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
5	66	Indextier	0	0	0	0	0	0	
5	67	Indextier	0	0	0	0	1	1	
5	68	Indextier	0	0	0	0	1	1	
5	69	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	1	1	
5	70	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	1
5	71	Jungrind	1	0	0	nicht vorh.	0	<i>fraglich</i>	
5	72	Kalb	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
5	73	Kalb	0	1	1	nicht vorh.	0	0	1
5	74	Indextier	0	0	1	nicht vorh.	0	0	
5	75	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	0	

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
6	76	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	0	0	
6	77	Kuh in 1. Lakt.	1	0	0	0	<i>fraglich</i>	0	
6	78	Ältere Kuh	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	1	
6	79	Indextier	0	0	0	0	0	0	
6	80	Indextier	0	0	0	0	1	1	
6	81	Indextier	0	0	0	0	1	1	
6	82	Indextier	0	1	0	0	0	0	
6	83	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
6	84	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	0	
6	85	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	0	
6	86	Indextier	1	1	0	nicht vorh.	<i>fraglich</i>	0	
6	87	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	0	
6	88	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	0	0	
6	89	Kalb	0	0	1	nicht vorh.	0	0	
6	90	Kalb	0	0	1	nicht vorh.	0	0	
7	106	Ältere Kuh	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	1	
7	107	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	0	
7	108	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	0	
7	109	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
7	110	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
7	111	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	1	<i>fraglich</i>	
7	112	Jungrind	1	1	0	nicht vorh.	1	1	
7	113	Jungrind	1	0	0	nicht vorh.	1	1	
7	114	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	1	1	
7	115	Indextier	0	0	1	1	0	0	
7	116	Indextier	1	0	0	0	0	1	
7	117	Indextier	0	0	0	0	0	0	

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
7	118	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	1	1	
7	119	Kalb	0	0	0	nicht vorh.	0	0	
7	120	Kalb	0	1	0	nicht vorh.	0	0	
8	121	Kalb	0	1	1	nicht vorh.	0	0	
8	122	Kalb	0	0	1	nicht vorh.	0	1	
8	123	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
8	124	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	0	0	
8	125	Ältere Kuh	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	1	
8	126	Indextier	0	0	0	0	1	1	
8	127	Indextier	0	0	0	0	1	1	
8	128	Indextier	0	0	0	0	1	1	
8	129	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
8	130	Ältere Kuh	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	1	
8	131	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
8	132	Indextier	0	0	0	0	1	1	
8	133	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
8	134	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
8	135	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	0	
9	151	Kuh in 1. Lakt.	0	1	0	0	1	1	
9	152	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	0	0	
9	153	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
9	154	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
9	155	Ältere Kuh	0	1	0	0	0	0	1
9	156	Indextier	0	0	0	0	1	1	
9	157	Indextier	0	0	0	0	0	0	
9	158	Indextier	0	0	0	0	1	1	
9	159	Indextier	0	1	1	nicht vorh.	0	0	1

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
9	160	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	0	1	
9	161	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	<i>fraglich</i>	
9	162	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	<i>fraglich</i>	
9	163	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	<i>fraglich</i>	
9	164	Kalb	0	1	0	nicht vorh.	1	1	1
9	165	Kalb	0	1	1	nicht vorh.	1	1	1
10	136	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	0	0	
10	137	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
10	138	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	1	
10	139	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	nicht vorh.	
10	140	Ältere Kuh	0	0	1	nicht vorh.	0	1	
10	141	Indextier	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
10	142	Jungrind	0	1	1	nicht vorh.	1	1	
10	143	Jungrind	1	0	0	nicht vorh.	1	1	
10	144	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	0	0	
10	145	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
10	146	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
10	147	Indextier	1	0	0	nicht vorh.	0	0	
10	148	Indextier	0	0	1	nicht vorh.	0	0	
10	149	Kalb	0	0	1	nicht vorh.	0	0	
10	150	Kalb	0	0	0	nicht vorh.	<i>fraglich</i>	1	
11	181	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	0	

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
11	182	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	0	
11	183	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	0	
11	184	Kuh in 1. Lakt.	0	1	0	0	1	0	
11	185	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	1	1	
11	186	Indextier	0	0	0	0	1	1	
11	187	Indextier	0	0	0	0	1	1	
11	188	Indextier	0	0	0	0	1	1	
11	189	Indextier	0	0	0	0	1	1	
11	190	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	0	
11	191	Jungrind	1	1	0	nicht vorh.	1	1	
11	192	Jungrind	0	0	1	nicht vorh.	1	1	
11	193	Jungrind	0	1	0	nicht vorh.	0	0	
11	194	Kalb	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
11	195	Kalb	0	0	1	nicht vorh.	0	1	
12	91	Indextier	0	0	0	0	0	fraglich	
12	92	Indextier	0	0	0	0	0	0	
12	93	Indextier	0	0	0	0	0	1	
12	94	Indextier	0	0	1	1	0	0	
12	95	Indextier	0	0	0	0	0	0	
12	96	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	fraglich	
12	97	Ältere Kuh	0	0	0	1	0	1	
12	98	Ältere Kuh	0	0	0	1	0	0	
12	99	Ältere Kuh	0	0	0	0	0	1	
12	100	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	1	0	0	
12	101	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	1	1	1	
12	102	Ältere Kuh	0	1	0	0	0	1	
12	103	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	verstorben	
12	104	Kalb	0	0	0	nicht vorh.	0	1	

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
12	105	Kalb	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
13	166	Kuh in 1. Lakt.	1	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	
13	167	Ältere Kuh	1	0	0	0	1	1	
13	168	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
13	169	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
13	170	Indextier	0	0	0	0	1	1	
13	171	Indextier	0	0	0	0	0	0	
13	172	Kuh in 1. Lakt.	1	0	0	0	1	1	
13	173	Indextier	1	0	0	0	1	1	
13	174	Indextier	0	1	0	0	0	<i>fraglich</i>	
13	175	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
13	176	Jungrind	0	0	1	nicht vorh.	0	0	
13	177	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	1	
13	178	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	
13	179	Kalb	0	1	0	nicht vorh.	1	1	
13	180	Kalb	0	1	1	nicht vorh.	0	1	
14	196	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
14	197	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
14	198	Ältere Kuh	0	0	0	0	1	1	
14	199	Indextier	0	0	0	0	1	1	
14	200	Indextier	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	1	
14	201	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	
14	202	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	0	
14	203	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	0	<i>fraglich</i>	
14	204	Kuh in 1. Lakt.	0	0	0	0	0	0	
14	205	Indextier	0	0	0	0	<i>fraglich</i>	1	
14	206	Indextier	0	0	0	0	1	1	
14	207	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	1	

Betrieb Nr.	Tier Nr.	Tier-gruppe	PCR Kon-junktiven	PCR Nasen-tupfer	PCR Vaginal-abstrich	PCR Milch-probe	ELISA 1. Serum	ELISA 2. Serum	Kultur
14	208	Jungrind	0	0	0	nicht vorh.	1	0	
14	209	Kalb	0	0	0	nicht vorh.	<i>fraglich</i>	0	
14	210	Kalb	1	0	0	nicht vorh.	0	0	
15	211	Kuh in 1. Lakt.	0	1	1	0	0	0	
15	212	Kuh in 1. Lakt.	0	1	1	0	0	fraglich	
15	213	Ältere Kuh	0	0	1	0	1	1	
15	214	Ältere Kuh	0	0	1	0	1	1	
15	215	Ältere Kuh	0	1	1	0	0	0	
15	216	Indextier	0	0	1	0	0	0	
15	217	Kalb	1	1	1	nicht vorh.	0	0	
15	218	Jungrind	1	1	1	nicht vorh.	1	1	
15	219	Jungrind	1	1	1	nicht vorh.	0	0	
15	220	Kalb	0	1	1	nicht vorh.	0	0	
15	221	Jungrind	1	1	1	nicht vorh.	0	0	
15	222	Jungrind	1	1	0	nicht vorh.	0	0	
15	223	Indextier	1	1	0	0	0	0	
15	224	Indextier	1	1	0	0	0	0	
15	225	Indextier	1	1	1	nicht vorh.	1	1	

9.5 Ergebnisse der ELISA-Untersuchungen in den Tiergruppen

Tabelle A 17: Kreuztabelle – Nachweise chlamydienspezifischer Antikörper in gepaarten Seren mittels CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) getrennt nach Betrieben (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40

Anzahl	ELISA 2. Serum											
	negativ				positiv				fraglich			
	ELISA 1. Serum			gesamt	ELISA 1. Serum			gesamt	ELISA 1. Serum			gesamt
	Betrieb	negativ	positiv	fraglich		negativ	positiv	fraglich		negativ	positiv	fraglich
1	4	1	1	6	1	6	0	7	0	0	1	1
2	4	1	0	5	0	8	0	8	0	2	0	2
3	12	0	0	12	0	2	0	2	1	0	0	1
4	5	0	1	6	0	7	0	7	1	1	0	2
5	4	0	0	4	0	10	0	10	1	0	0	1
6	9	0	2	11	0	3	1	4				
7	5	1	0	6	1	6	1	8	0	1	0	1
8	3	0	0	3	1	9	2	12				
9	4	0	0	4	1	7	0	8	2	1	0	3

Anzahl	ELISA 2. Serum											
	negativ				positiv				fraglich			
	ELISA 1. Serum			gesamt	ELISA 1. Serum			gesamt	ELISA 1. Serum			gesamt
Betrieb	negativ	positiv	fraglich		negativ	positiv	fraglich		negativ	positiv	fraglich	
10	5	0	0	5	1	6	2	9				
11	5	1	0	6	1	8	0	9				
12	5	0	0	5	5	2	0	7	2	0	0	2
13	2	0	0	2	2	9	0	11	2	0	0	2
14	3	1	1	5	0	6	2	8	2	0	0	2
15	10	0	0	10	0	4	0	4	1	0	0	1
Gesamt	80	5	5	90	13	93	8	114	12	5	1	18

Tabelle A 18: Kreuztabelle – Nachweise chlamydienspezifischer Antikörper in gepaarten Seren mittels CHEKIT®-*Chlamydia* ELISA der Firma DR. BOMMELI AG, Bern (Schweiz) für die jeweiligen Altersgruppen und für die Indextiere (n=15 Tiere pro Betrieb). Bewertung der Messwerte laut Angabe des Herstellers: negativ = OD < 30, positiv = OD > 40; fraglich = OD 30 – 40

Verarbeitete Fälle

	Fälle					
	Gültig		Fehlend		Gesamt	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
ELISA 1. Serum x Tiergruppe x ELISA 2. Serum	222	98,7%	3	1,3%	225	100,0%

ELISA 1. Serum x Tiergruppe x ELISA 2. Serum

ELISA 2. Serum	ELISA 1. Serum	Tiergruppe (Anzahl Tiere)					gesamt
		Kalb	Jungrind	Kuh in 1. Laktation	Ältere Kuh	Indextier	
negativ	negativ	15	20	9	12	24	80
	positiv	0	1	1	1	2	5
	fraglich	2	0	1	1	1	5
	gesamt	17	21	11	14	27	90
positiv	negativ	4	2	0	5	2	13
	positiv	7	22	14	22	28	93
	fraglich	1	0	1	4	2	8
	gesamt	12	24	15	31	32	114
fraglich	negativ	1	6	3	0	2	12
	positiv	0	2	1	1	1	5
	fraglich	0	0	0	1	0	1
	gesamt	1	8	4	2	3	18

9.6 Signifikanzberechnungen

Tabelle A 19: Signifikanzberechnung positiver und negativer Ergebnisse im Chi-Quadrat-Test von McNemar der ELISA-Tests 1 und 2

ELISA 1	ELISA 2		Summe
	positiv	negativ	
positiv	93	5	98
negativ	13	80	93
Summe	106	85	191
chi ² : 4,5		p= < 0,0025 signifikant	
u: 2,12 p=0,017		p= < 0,05 signifikant	

Tabelle A 20: Signifikanzberechnung zusammengefasster fraglicher und positiver Ergebnisse, verglichen mit negativen Ergebnissen (ohne Kontinuitätskorrektur) im Chi-Quadrat-Test von McNemar der ELISA-Tests 1 und 2

ELISA 1	ELISA 2		Summe
	fraglich/ positiv	negativ	
fraglich/ positiv	107	10	117
negativ	25	80	105
Summe	132	90	222
Chi ² : 6,42857143		p= < 0,01 signifikant	
u: 2,54 p=0,0055		p= < 0,01 signifikant	

Tabelle A 21: Signifikanzberechnung fraglicher und negativer Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) im Chi-Quadrat-Test von McNemar der ELISA-Tests 1 und 2

ELISA 1	ELISA 2		Summe
	fraglich	negativ	
fraglich	1	5	6
negativ	12	80	92
Summe	13	85	98
chi ² : 3,76		p= < 0,05 signifikant	
u: 1,94 p=0,0262		p= < 0,05 signifikant	

Tabelle A 22: Signifikanzberechnung fraglicher und positiver Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) im Chi-Quadrat-Test von McNemar der ELISA-Tests 1 und 2

ELISA 1		ELISA 2		
		positiv	fraglich	
positiv		93	5	98
fraglich		8	1	9
		101	6	107
	chi ² :	1,23	P= > 0,05 nicht signifikant	
	u: 1,11 p=0,1335		P= > 0,05 nicht signifikant	

Tabelle A 23: Signifikanzberechnung positiver und negativer Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) zwischen ELISA 1 und 2 bei Kälbern

Altersgruppe: Kälber		ELISA 2		
ELISA 1		positiv	negativ	
positiv		7	0	7
negativ		4	15	19
		11	15	26
	Chi ² : 6,25		p= < 0,01 signifikant	
	u: 2,50 p=0,0062		p= < 0,005 signifikant	

Tabelle A 24: Signifikanzberechnung fraglicher, positiver und negativer Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) zwischen ELISA 1 und 2 bei Jungrindern

Altersgruppe: Jungrinder		ELISA 2		
ELISA 1		fraglich/ positiv	negativ	
fraglich/ positiv		24	1	25
negativ		8	20	28
		32	21	53
	Chi ² : 7,111111		p= < 0,005 signifikant	
	u: 2,67 p=0,0038		p= < 0,005 signifikant	

zweiseitig auch signifikant!

0,0076

Tabelle A 25: Signifikanzberechnung positiver und negativer Ergebnisse (mit Kontinuitätskorrektur) zwischen ELISA 1 und 2 bei älteren Kühen

Altersgruppe ältere Kühe		ELISA 2		
ELISA 1		positiv	negativ	
positiv		22	1	23
negativ		5	12	17
		27	13	40
	Chi ² : 4,166		p= < 0,025 signifikant	
	u: 2,04 p=0,0207		p= < 0,025 signifikant	

Tabelle A 26: Signifikanzberechnung zwischen ELISA und PCR (mindestens ein positives Ergebnis vs. negative Ergebnisse)

Chi²: PCR vs. ELISA

mind 1 pos	PCR		
	ELISA positiv	ELISA negativ	
ELISA positiv	49	76	125
ELISA negativ	54	46	100
	103	122	225
Chi ² = 3,72 p= < 0,05 signifikant			

Tabelle A 27: Signifikanzberechnungen in den Altersgruppen: „ELISA-positiv /PCR-negativ“ vs. „ELISA-negativ /PCR-positiv“

k x 2-Felder-Chi-Quadrat-Test

Altersgruppe	ELISA positiv/ PCR negativ	ELISA negativ/ PCR positiv	Summe	Chi ²
Kälber	5	13	18	5,89814815
Jungrinder	13	14	27	0,70748338
Kühe in 1. Lakt.	10	6	16	0,25961538
ältere Kühe	22	6	28	5,70263736
Summe	50	39	89	
Chi ² = 12,56788428				P=<0,01 (Fg3); signifikant

Tabelle A 28: Signifikanzberechnungen in den Altersgruppen: „ELISA/PCR-negativ“ vs. „ELISA/PCR-positiv“

k x 2-Felder-Chi-Quadrat-Test

Altersgruppe	ELISA/PCR- negativ	ELISA/ PCR-positiv	Summe	Chi ²
Kälber	5	7	12	0,11620161
Jungrinder	13	14	27	0,02684208
Kühe in 1. Lakt.	7	7	14	0,06598793
ältere Kühe	9	11	20	0,01994721
Summe	34	39	73	
Chi ² = 0,228978828 (Fg3); nicht signifikant				

Tabelle A 29: Signifikanzberechnungen der verschiedenen Ergebniskombinationen in den Altersgruppen verglichen mit den Indextieren

k x 2-Felder-Chi-Quadrat-Test

Diagnostikergebnisse	MW Altersgruppen (n=162)	Indextiere (n=63)	Summe	Chi ²
ELISA/PCR negativ	8,5	12	20,5	0,04684475
ELISA/PCR positiv	9,75	10	19,75	0,86889693
ELISA positiv, PCR negativ	12,5	26	38,5	0,717584
ELISA negativ, PCR positiv	9,75	15	24,75	0,0007215
Summe	40,5	63	103,5	
Chi ² =1,63				
p= > 0,2 (Fg3); nicht signifikant				

9.7 Milchleistungsdaten

Tabelle A 30: Milchleistungsdaten dargestellt für die einzelnen Betriebe

Be- trieb	Herdengröße (laktierende Kühe)	Milchmenge /Jahr (kg)	Fettgehalt (Prozent)	Eiweißgehalt (Prozent)	Zellzahl (1000/kg Milch)	Log Zellzahl (1000/kg Milch)	Anzahl Laktationen/Jah r	Merzung/ Jahr	BSI	Rastzeit	Güstzeit
1	67	8624	4	3,48	140	5,15	2,07	31	1,4	105	124
2	101	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
3	130	8280	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	33	k. A.	k. A.	k. A.
4	88	6594	4,12	3,5	325	5,51	1,10	19	1	k. A.	106
5	55	6276	3,72	3,17	383	5,58	1,83	26	2,1	67	108
6	152	8802	3,86	3,41	128	5,11	1,89	38	1,8	81	123
7	29	k. A.	4,26	3,44	244	5,39	1,54	k. A.	1,6	115	162
8	67	8652	4,11	3,27	263	5,42	1,54	8	2,2	105	164
9	43	8607	4,94	3,36	150	5,18	1,78	12	1,9	79	110
10	41	8868	3,72	3,08	198	5,30	2,72	9	1,6	95	117
11	57	9394	4,31	3,44	869	5,94	1,20	12	2,5	105	186
12	112	7683	4,1	3,36	450	5,65	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
13	174	9690	3,91	3,22	296	5,47	2,19	56	1,8	81	112
14	106	7805	4,13	3,44	178	5,25	1,75	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
15	81	9239	4,5	3,6	97	4,99	2,46	17	1,9	82	124
MW	87	8347	4,13	3,37	286	5,38	1,84	24	1,80	91,50	130,55
SD	42	1021	0,33	0,15	204	0,26	0,47	14,82	0,40	15,56	27,18

Legende: SD = Standardabweichung; Log = Logarithmus; BSI = Besamungsindex

Tabelle A 31: Vergleich der erhobenen Betriebsdaten aus der eigenen Untersuchung mit Daten aus der Studie von KEMMERLING et al. (2009); Einteilung in PCR-negative und PCR-positive Betriebe

Variable	Nordrhein-Westfalen 2004 / 2005 MW±SD	Anzahl Betriebe	Vergleich mit Studie von KEMMERLING et al. (2009); Daten aus NRW 2007	KEMMERLING et al. (2009); Daten aus NRW 2007 positive Herden (n=61), MW±SD	KEMMERLING et al. (2009); Daten aus NRW 2007 negative Herden (n=39), MW±SD	Kemmerling et al. (2009); Daten aus NRW 2007 p-value from t-test	*Zunahme↑, Abnahme↓, gleichbleibend↑↓
Herdengröße	87±42	15	Tendenz bestätigt	87±43	79±33	0,307 (n.s.)	↑
Milchmenge/Jahr (kg)	8347±1021	13	bestätigt	8681±793	9197±786	0,002	↓
Fettgehalt (Prozent)	4,13±0,33	13	niedriger	4,24±0,23	4,24±0,09	0,967 (n.s.)	↑↓
Eiweißgehalt (Prozent)	3,37±0,15	13	höher	3,33±0,14	3,34±0,09	0,792 (n.s.)	↑↓
Log Zellzahl	5,38±0,26	13	deutlich höher	5,23±0,13	5,38±0,17	0,48 (n.s.)	↓
Anzahl Laktationen/Jahr	1,84±0,47	12	bestätigt	2,4±0,46	2,9±0,49	<0,001	↓
Merzung/Jahr %	23,73±14,82	11	niedriger	28,7±4,9	26,1±5,7	0,18 (n.s.)	↑
BSI	1,8±0,40	11	Tendenz bestätigt	1,9±0,27	2,0±0,3	0,3 (n.s.)	↓
Rastzeit	92±16	10	bestätigt	91±12	100±11	<0,001	↓
Güstzeit	131±27	11	bestätigt	126±17	136±17	0,006	↓

Legende: MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung; Log = Logarithmus; BSI = Besamungsindex

* Vergleich der negativen mit positiven Herden

10 DANKSAGUNGEN

Mein allerherzlichster Dank gilt allen, die mich in den letzten Jahren unterstützt haben, insbesondere

Frau Prof. Dr. Müller von der Freien Universität Berlin für ihre Unterstützung bei dem Thema, ihre stetige und unermüdliche Diskussionsbereitschaft, die konstruktiven Ratschläge und nicht zuletzt für ihre Motivationskraft,

Frau Dr. Arndt von der Freien Universität Berlin für die kompetente biostatistische Beratung – auch wenn es da oben unter dem Dach schon mal heiß wurde ...,

Frau PD Dr. Reinhold und Herrn Prof. Dr. Zessin für die überaus wichtigen Anregungen, insbesondere zu Beginn der Studie, und ihre Expertise und konstruktive Kritik am Ende der Studie,

Herrn Dr. Sachse, Frau Dr. Schubert und dem Diagnostikteam des FLI für die Bereitschaft, sich mit den vielen Proben zu beschäftigen, und den „good will“ beim gesamten logistischen Prozedere,

Herrn Kamphausen, Herrn Dr. Jaeger und Herrn Dr. Bottermann sowie Frau Höhn für das vorgeschlagene Thema, dafür, dass diese Studie als relevant und prioritär eingestuft wurde, und die dafür zur Verfügung gestellten Mittel,

Herrn Dr. Winkelmann von der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen für das in mich gesetzte Vertrauen, neben den dienstlichen Verpflichtungen zusätzlich eine wissenschaftliche Studie durchzuführen, aber auch für die Vermittlung der vielen Kontakte und die logistische Unterstützung,

Babette Kuhfahl, die mich vor Ort in den Betrieben bei der Probennahme und der gesamten Probenlogistik unterstützt hat,

dem Team vom Untersuchungsamt Krefeld, welches immer frühmorgens die Beprobungsröhrchen mit Inhalt aufbereitete,

Herrn Dr. Hollberg von der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen und dem praktizierenden Tierarzt Herrn Dr. Zentis für die vielen Hinweise zur Symptomatik sowie die Nennung der Betriebe,

und: thank you very much, Rob – for the revision of the summary,

Herrn Dr. Theegarten von der Universität Duisburg-Essen und Frau Dahlmann für die Ergänzung der Untersuchungen seitens der humanmedizinischen Aspekte,

meinen Eltern, die starke Nerven haben mussten, und allen meinen Freundinnen und Freunden, insbesondere Heike, Miklos, Milli, Laurenz, Claudia, Markus, Bettina, Birgit, Susanne, Helmuth, Fabi und Frank sowie meinen Nachbarinnen und

Nachbarn in Obrighoven für ihre Geduld und die Einsicht, dass ich dringend mit dem Schreiben der Doktorarbeit abschließen sollte, um demnächst endlich wieder geordneten Freizeitbeschäftigungen nachgehen zu können

und ganz besonders dem Jörn, der immer seine Wohnung in Berlin als Studierdomizil zur Verfügung gestellt hat

und last, but not least:

allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern aus der Landwirtschaft, die sich viel Zeit für die Untersuchungen genommen haben.

Und zum Allerletzten guten Schluss

meinem Allerliebsten Marc, dem besten Zwillingspapi der Welt

VIELEN DANK!

Teile dieser Arbeit wurden im Rahmen der folgenden Vorträge vorgestellt:

1) VOGEL, M. (2006):

Chlamydien in Rindbeständen in NRW: Ergebnisse eines Monitorings
2. Nordrhein-Westfälischer Tierärztetag in Dortmund, 2. September 2006

2) VOGEL, M., JAEGER, F., WINKELMANN, J., SACHSE, K. (2006):

Chlamydien in Rinderbeständen – Ergebnisse eines Monitorings
6. Berlin-Brandenburger Rindertag, 6. Oktober 2006

3) VOGEL, M., WINKELMANN, J. (2007):

Chlamydien in Rinderbeständen – Ergebnisse eines Monitorings
5. Deutscher Chlamydienworkshop, 8. März 2007 in Hannover

11 SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Ich versichere, die vorliegende Arbeit – Chlamydienmonitoring in ausgewählten Milchkühe haltenden Betrieben Nordrhein-Westfalens – selbstständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Literatur verfasst zu haben.

Marl, den 20. März 2012

Miriam Vogel