

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Methoden

3.1.1 Studienaufbau und Tiermaterial

Die vorliegende Studie wurde nach dem Prinzip einer Querschnittsstudie konzipiert. Es wurden 425 Kälber und deren Mütter beprobt, um Aufschluss über die Prävalenzen von Ausscheidungen der fünf genannten Durchfallerreger zu erhalten. Parallel wurden in jedem Betrieb Umgebungsproben von den Kälberboxen und dem Tränkegeschirr der Kälber entnommen.

Im Zeitraum März 2001 bis Februar 2002 wurden 30 verschiedene Milchviehbetriebe im nördlichen Baden-Württemberg beprobt. In jedem Betrieb wurden von allen Kälbern unter 4 Monaten, mit oder ohne Durchfall, und deren Müttern jeweils ein Rektaltupfer sowie 20 - 25g Kot entnommen und noch am selben Tag im Chemischen- und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart untersucht.

Die Rektaltupferproben wurden auf *Campylobacter* spp. untersucht. Die Kotproben der Kühe wurden auf *Salmonella* spp. und *Yersinia enterocolitica* untersucht, die Kotproben der Kälber zusätzlich noch auf das Vorhandensein von Rotavirus und *Kryptosporidium parvum*.

3.1.2 Datenerhebung

Die betriebsspezifischen Daten wurden mit Hilfe eines Fragebogens, wie ihn Abbildung 7.1 zeigt, vor der Probenentnahme gemeinsam mit dem Landwirt erhoben. Für jedes Durchfallkalb wurden zusätzlich Daten mit Hilfe eines weiteren Fragebogens (Abbildung 7.2.) festgehalten.

3.1.3 Probengewinnung

Nachdem mindestens eine Erst-Kälberdurchfallprobe eines Betriebes zur Untersuchung im Chemischen- und Veterinäruntersuchungsamt eingegangen war, wurde mit dem jeweiligen Tierbesitzer Kontakt zur Möglichkeit einer Probenziehung aufgenommen. Die Erstproben wurden entweder direkt von dem jeweiligen Betriebsinhaber, dessen betreuenden Tierarzt oder dem Rindergesundheitsdienst (Stuttgart) eingesandt. Man kann davon ausgehen, dass das

Chemische- und Veterinäruntersuchungsamt überwiegend Empfänger aller Kälberdurchfallproben des nördlichen Teiles des Landes Baden-Württemberg ist, da die Kosten der Untersuchung einer an dieses Amt eingesandten Kotprobe von der Tierseuchenkasse übernommen werden. Vorab-Recherchen ergaben, dass insgesamt zirka 430 unterschiedliche Betriebe im Jahr 2001 Untersuchungen im Chemischen- und Veterinäruntersuchungsamt in Stuttgart in Anspruch nahmen.

30 Betriebsinhaber waren nach der Kontaktaufnahme bereit, an der Studie teilzunehmen. Der Hauptgrund, sich mit der Teilnahme an der Studie einverstanden zu erklären, war eine kostenlose Monitoring-Untersuchung aller Kälber unter 4 Monaten des Betriebes auf die 5 genannten Erreger. So konnten nachfolgend vielfach die Betriebsinhaber anhand der Untersuchungsergebnisse kompetenter und wirksamer gegen das Bestandsproblem „Kälberdurchfall“ vorgehen. Andererseits war das Risiko, dass Salmonellen gefunden werden, für einen Großteil kontaktierter Landwirte ein Grund, nicht an der Studie teilzunehmen. Es wurden keine weiteren Auswahlkriterien der teilnehmenden Betriebe vorgenommen, außer dass zum Zeitpunkt der Probenentnahme mindestens ein Kalb an Durchfall erkrankt sein musste, es sich um einen Milchviehbetrieb handelte und der Betriebsinhaber sich mit der Teilnahme an der Studie bereit erklärt hatte.

In der Zeit von März 2001 bis Februar 2002 wurde nach einer telefonischen Einverständniserklärung eines Betriebsinhabers der Betrieb aufgesucht, die Daten erhoben und die Kotproben mit Hilfe eines sterilen Handschuhes bzw. die Rektaltupfer mit Hilfe eines sterilen Wattetupfers aus der Ampulla recti der Tiere entnommen. Sowohl das Kontaktieren der Betriebe als auch die Probenentnahme in 30 verschiedenen Milchviehbetrieben im nördlichen Baden-Württemberg erfolgten im Zeitraum März 2001 bis Februar 2002. Bei der Probenentnahme wurden die Rektaltupfer umgehend in Preston Anreicherungsbouillon, der frische Kot in ein steriles Kotprobengefäß verbracht, und noch am gleichen Tag weiter labordiagnostisch im Chemischen- und Veterinäruntersuchungsamt verarbeitet.

3.1.4 Bakteriologische Methoden

Methode zur Isolierung von *Campylobacter* spp.

Zur Isolierung von *Campylobacter*-Keimen wurde ein Rektal- oder Umgebungstupfer in 9 ml (1:10) Prestonanreicherung (Bolton und Robertson, 1982; Bolton et al., 1983) verbracht und für 18 - 24 Stunden bei 42°C im Anaerobiertopf unter mikroaerophilen Bedingungen bebrütet. Die mikroaerophile Atmosphäre in den Anaerobiertöpfen wurde durch einen Gasentwickler erzeugt. Die endgültige Gaskonzentration betrug nach Angaben des Herstellers nach 30 Minuten 6 % Sauerstoff und 10 % CO₂. Nach der Bebrütung wurde von der Anreicherung jeweils zweimal mit Hilfe einer sterilen Plastiköse Material auf einen Preston- und einen Karmali-*Campylobacter*-Selektivnährboden verbracht und im Verdünnungsausstrich ausgestrichen (Bolton und Robertson, 1982; Bolton et al., 1983; Karmali et al., 1986). Anschließend erfolgte die Bebrütung unter mikroaerophiler Atmosphäre bei 42°C für 48 Stunden. Wurde nach dieser Zeit kein Wachstum festgestellt, wurden diese Platten für weitere 4 Tage bebrütet.

Campylobacter-Keime stellten sich auf dem bluthaltigen Preston-Selektivnährboden als etwa 1 mm große, grau-braune Kolonien dar, die aber auch aufgrund der Tendenz dieser Keime zum Schwärmen bis zu 2 mm groß sein könnten. Auf dem schwarzen Karmali-Selektivnährboden waren *Campylobacter*-Keime als etwa 1-2 mm große graue, leicht glänzende Kolonien zu erkennen. Verdächtige Kolonien wurden auf Blutagarplatten für weitere Differenzierungen subkultiviert.

Vorläufige Identifizierung von *Campylobacter*-Keimen

Oxidase-Aktivität

Eine Öse Bakterienmaterial wurde von einer 48 Stunden bebrüteten Blutagarplatte entnommen und auf ein Testfeld eines Dry Slide Oxidase-Testes (Difco, Augsburg) verbracht. Der Test war als positiv zu bewerten, wenn sich nach 20 Sekunden an der Stelle des Bakterienauftrages eine deutliche Blauviolett-färbung zeigte.

Katalase-Aktivität

Von einer 48 Stunden bebrüteten blutfreien Agarplatte wurden einige Kolonien mit einer sterilen Plastiköse entnommen und auf einen Objektträger verbracht. Anschließend wurde ein Tropfen 3%ige H₂O₂-Lösung aufgetropft. Bei einer vorhandenen Katalase-Aktivität kam es zur deutlichen Bläschenbildung.

Gram-Färbung

Eine verdächtige Kolonie wurde der Agarplatte entnommen und mit Hilfe eines Tropfens steriler physiologischer Kochsalzlösung auf einem Objektträger ausgestrichen, luftgetrocknet und nach Hitzestabilisation nach Gram gefärbt. Das Gram-Präparat wurde anschließend mit dem Lichtmikroskop mit Hilfe eines Ölimmersionsobjektives bei einer 1000-fachen Vergrößerung beurteilt. *Campylobacter*-Keime stellten sich als gram-negative kleine, kommaförmige, teils spiralig gewundene Stäbchen dar.

Mobilitätsprüfung

Es wurden von einer 48 Stunden bebrüteten Blutagarplatte einige Kolonien entnommen und auf einem Objektträger in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Anschließend wurden die Keime im Phasenkontrastmikroskop bei einer 1000-fachen Vergrößerung betrachtet und beurteilt. *Campylobacter*-Keime waren an ihren typischen spiralig-drehenden Bewegungen und an ihrem spiralig-gewundenen bis kommaförmigen Aussehen zu erkennen.

Biochemische Identifizierung

Die biochemische Identifizierung der *Campylobacter*-Keime erfolgte mit Hilfe des Api Campy Systems (BioMérieux, Nürtingen). Der Test wurde nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Mit der mitgelieferten Identifizierungssoftware wurde der Test ausgewertet.

Weitergehende Identifizierungsreaktionen

Einige Isolate konnten mit dem Api Campy Test nur auf Genus-Ebene identifiziert werden. Für eine weitergehende Identifizierung waren deshalb weitere Untersuchungen notwendig.

Wachstum unter anaeroben Bedingungen

Um dieses Kriterium zu überprüfen, wurde die zu untersuchende Kolonie auf eine Blutagarplatte verbracht und bei 42°C für 72 Stunden im Anaerobiertopf bebrütet (mod. nach Barrett et al., 1988). Die anaerobe Atmosphäre wurde mit Hilfe eines Gasentwicklers erzeugt. Anschließend wurden die gewachsenen Kolonien nach den oben genannten Kriterien überprüft.

Überprüfung der Aerotoleranz

Die entsprechenden zu überprüfenden Kolonien wurden auf Blutagarplatten ausgestrichen und unter aeroben Bedingungen (Raumluft) bei 30°C und 37°C für 72 Stunden bebrütet (mod.

nach Roop et al., 1984). Die Überprüfung der gewachsenen Kolonien erfolgte wie oben beschrieben.

Nitratreduktion

Von einer 48 Stunden mikroaerophil bebrüteten Blutagarplatte wurden einige Bakterienkolonien entnommen und in 8 ml Nitratnährmedium suspendiert und für 18 Stunden bei 37°C bebrütet. Anschließend wurden dann tröpfchenweise insgesamt ca. 1 ml Sulfanylsäure (Nit 1, BioMérieux, Nürtingen) und ca. 1 ml N,N-Dimethyl-1-Naphtylamin (Nit 2, BioMérieux, Nürtingen) dem Nährboden zugegeben. Eine rosafarbene bis rot-braune Verfärbung signalisiert eine Nitritbildung. War das nicht der Fall, wurde etwas Zinkpulver, das Nitrat zu Nitrit reduziert, zugegeben. Schlug die Farbe deutlich nach rot um, war das ein Anzeichen dafür, dass Nitrat nicht zu Nitrit abgebaut worden war. Hat sich die Farbe nicht geändert, ist von einem Nitratabbau zu anderen Stickstoffverbindungen als Nitrit, also einer positiven Reaktion, auszugehen.

Methode zur Isolierung von *Yersinia enterocolitica* spp.

Um *Yersinia enterocolitica* spp. zu isolieren, wurde jeweils ein Rektal- oder ein Umgebungstupfer (1g) in 9 ml *Yersinia*-Selektiv-Anreicherungsbouillon nach Oßmer (1:10) verbracht und 24 Stunden bei 28°C inkubiert. Anschließend wurde mit Hilfe einer Plastiköse der Anreicherung zweimal Material entnommen und auf je eine *Yersinia*-Selektivagarplatte nach Schiemann und auf *Yersinia*-Selektivagarplatte nach Wauters bzw. ab dem 07.05.01 aufgrund einer Produktionsumstellung der Firma Merck anstelle des zuletzt genannten Mediums auf *Salmonella-Shigella*-Agar verbracht und im Verdünnungsausstrich ausgestrichen. Die Bebrütung erfolgte für 24 und 48 Stunden bei 29°C.

Yersinia-Keime stellen sich auf dem Selektivagar nach Schiemann als Kolonien von wechselnder Größe, Kolonierand und Oberflächenstruktur, aber stets mit einem dunkelroten Zentrum und einem durchsichtigen deutlichen Hof dar.

Auf dem Selektivagar nach Wauters und dem *Salmonella-Shigella*-Agar sind *Yersinia*-Kolonien als durchscheinende, 0,5 - 2 mm große Kolonien mit fein granuliertem Zentrum und einem unscharfen Rand erkennbar.

Parallel dazu wurde 1g Kot in 9 ml PBS-Puffer gegeben und für 4 Tage bei 22 - 24°C bebrütet. Anschließend wurden davon 0,5 ml entnommen und mit 4,5 ml 0,25%ige Kalilauge für 20 Sekunden behandelt. Dann wurde zweimal mit einer Öse Material entnommen und auf die

beiden oben genannten Selektivnährböden im Verdünnungsausstrich ausgestrichen. Die Bebrütung erfolgte für 24 - 48 Stunden bei 29°C.

Vorläufige Identifizierung von *Yersinia*-Keimen

Wachstum auf Blutagarplatten

Adspektorisch verdächtige Kolonien auf den Selektivplatten wurden im Verdünnungsausstrich auf eine Blutagarplatte verbracht und bei 28°C für 1 - 2 Tage bebrütet. Die positiven Kolonien stellten sich als weiß-gräuliche, rund und leicht erhabene Kolonien, die keine β -Hämolyse zeigten, dar.

Oxidase-Aktivität

Eine Öse Bakterienmaterial wurde von einer 12 Stunden bebrüteten Blutagarplatte entnommen und auf ein Testfeld eines Dry Slide Oxidase-Testes (Difco, Augsburg) verbracht. Der Test ist als negativ zu bewerten, wenn sich nach 20 Sekunden an der Stelle des Bakterienauftrages keine deutliche Blauviolettfröbung zeigt.

Beweglichkeitsprüfung

Um die Beweglichkeit verdächtiger Kolonien zu überprüfen, wird etwas Bakterienmasse von einer 24 Stunden bebrüteten Blutagarplatte entnommen und im Stichverfahren zwei Hitchcne-nagar beimpft. Ein Agar wird dann 24 Stunden bei 22°C, der zweite bei 37°C bebrütet. Eine positive Motilität bei 22°C zeigt sich an den Schwärmsspuren entlang des Stichkanals, während bei 37°C das Medium klar und ohne Schwärmsspuren bleibt.

Harnstoffverwertung

Von einer 24 Stunden bebrüteten Blutplatte werden mit Hilfe einer sterilen Plastiköse einige Kolonien entnommen und in Harnstoffbouillon suspendiert. Die sich anschließende Bebrütung erfolgt 24 - 48 Stunden bei 28°C. Eine Verwertung von Urease ist in einer deutlichen roten Fröbung der Suspension zu erkennen.

Fermentation von Dextrose

Von einer 24 Stunden bebrüteten Blutagarplatte werden einige Kolonien entnommen und in der Phenolrot-Dextrose-Bouillon suspendiert. Anschließend folgt die Bebrütung für 24 Stunden bei 28°C. Eine Fermentation von Dextrose ist an dem Farbumschlag nach rot und einer fehlenden Gasentwicklung erkennbar.

Kligler-Nährboden

Von einer 24 Stunden bebrüteten Blutagarplatte wird etwas Bakterienmaterial auf den Kligler-Nährboden im Ausstrich auf der Schrägfläche und im Stich in die Hochschicht verbracht und für 24 Stunden bei 28°C bebrütet. Den Glukoseabbau erkennt man an einem Farbumschlag des Indikators Phenolrot von Rotorange nach Gelb in der Hochschicht.

Biochemische Identifizierung

Die biochemische Identifizierung der *Yersinia*-Keime erfolgte mit Hilfe des Api 20 E Systems (BioMérieux, Nürtingen). Der Test wurde nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Mit Hilfe der mitgelieferten Identifizierungssoftware wurde der Test ausgewertet.

Weitergehende Identifizierung

Die isolierten *Yersinia enterocolitica*-Keime wurden zur weiterführenden Identifizierung in das Institut Mikrobiologie und Tierseuchen der Freien Universität in Berlin versandt.

Methoden zur Isolierung und Differenzierung von *Salmonella* spp.

Zur Isolierung von *Salmonella*-Keimen wurden die Kotproben und die Umgebungsproben je im Verhältnis 1:10 (1g in 9 ml) in gepuffertem Peptonwasser bei 37°C für 18 - 24 Stunden vorangereichert. Anschließend wurden 0,1 ml der 9 ml Voranreicherung in 9,9 ml Selektiv-anreicherung nach Rappaport-Vassiliadis überimpft und für 24 Stunden bei $41,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ bebrütet. Danach wurde davon jeweils Material mittels einer Einmalöse auf eine Rambach-Selektivplatte und eine Brilliantgrün-Phenolrot-Laktoseagarplatte verbracht und im Verdünnungsausstrich ausgestrichen. Die weitere Bebrütung erfolgte bei 37°C für 24 und 48 Stunden.

Von denselben Kot- und Umgebungsproben wurde gleichzeitig etwas Material entnommen und 1g in 10 ml Tetrathionatbouillon gegeben. Der Ausstrich im Verdünnungsausstrich erfolgte anschließend auf je eine Platte Brilliantgrün-Phenolrot-Laktose-Agar und einer Platte mit Gassner-Agar. Die Platten wurden dann für weitere 24 bzw. 48 Stunden bei 37°C bebrütet.

Salmonellen wachsen auf Gassner-Agar als gelbe, durchsichtige Kolonien, auf Brilliantgrün-Phenolrot-Laktose-Agar sind sie als rötliche bis blassrosa Kolonien erkennbar und auf der Rambachplatte präsentieren sich Salmonellen deutlich als himbeerrote Kolonien.

So werden erkennbare verdächtige Kolonien auf Bromthymolblauplatten, Kligler-Nährboden und Blutplatten überimpft und für 24 Stunden bei 37°C bebrütet.

Differenzierung

Anschließend wurden O- und H-Antigene der isolierten Keime, gemäß des Kauffmann-White-Schemas, einer Objektträgeragglutinationsreaktion unter Verwendung von poly- und monovalenten Antisera bestimmt. Eine positive Reaktion zeigt sich in einer mit bloßem Auge sichtbaren körnigen Agglutination. Zur Bestimmung der spezifischen Phase 1 des H-Antigens war teilweise der Einsatz einer Schwärmplatte nötig.

3.1.5 Virologische Methoden

Zum Nachweis von Rotavirus in Kälberkotproben wurde der Bio-X Rotavirus Elisa Kit der Firma Bio X, Belgien, verwendet. Er wurde nach den Angaben des Herstellers durchgeführt und ausgewertet.

3.1.6 Parasitologische Methoden

Zum Nachweis von *Kryptosporidium parvum* in Kälberkotproben wurde der Kryptosporidien Elisa Kit der Firma Bio X, Belgien, verwendet und nach deren Anweisungen durchgeführt und ausgewertet. Parallel wurde jede Kälberkotprobe dünn auf einem sterilen Objektträger mittels eines sterilen Stabes ausgestrichen. Nach der Trocknung des Präparates bei Raumtemperatur wurde es mittels Phasenkontrastmikroskopie bei einer 1000fachen Vergrößerung und Ölimmersion untersucht. *Kryptosporidium parvum* stellt sich als leuchtend gelbes, kreisrundes Gebilde dar, das nach etwa 10 - 15 Minuten seine Leuchtkraft verliert.

3.1.7 Statistische Auswertungsmethode

Die Betriebs- und Einzeltierdaten wurden in eine Excel-Datei eingetragen. Im Anschluss wurden die Ergebnisse sowohl der Laboruntersuchungen als auch die erfragten Daten mit dem Statistik-Programm „Statistica“ der Firma StatSoft unter Hilfe von Dr. Ralf-Peter Gebhardt, Triagon® Coaching, Konstanz, statistisch ausgewertet.

In einem ersten Schritt wurden die Ergebnisse deskriptiv dargestellt. Im zweiten Schritt wurden univariate Analysen mit Hilfe des Chi-Quadrat- und t-Tests zur Information über mögliche Häufungen und Abhängigkeiten zwischen Erregernachweisen und tierspezifischen Parametern erstellt. P-Werte $\leq 0,05$ galten dabei als signifikante Ergebnisse.

Im letzten Schritt der statistischen Auswertung wurde eine multivariate Analyse mittels der Logistischen Regression durchgeführt.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Untersuchte Betriebe und Tiere

Insgesamt wurden in 30 Betrieben Kot- bzw. Rektaltupferproben von 425 Kälbern entnommen. Bei 401 Kälbern war die Kot- bzw. Rektaltupferentnahme auch bei deren Müttern möglich. In jedem Betrieb wurden alle Kälber im Lebensalter von 0 - 4 Monaten untersucht. Zusätzlich wurden in jedem Betrieb Umgebungstupferproben von Kälberboxen, Fresströgen und Tränkegeschirren entnommen.

Alle untersuchten Betriebe gaben an, Probleme mit Kälberdurchfällen zu haben und schickten deshalb Kotproben von an Durchfall erkrankten Kälbern zur Untersuchung auf Durchfallerreger an das Chemische- und Veterinäruntersuchungsamt in Stuttgart. Einsendungen erfolgten vorwiegend, um infektiöse Durchfallursachen zu bestätigen, beziehungsweise auszuschließen. Die Betriebe variierten in Betriebsstruktur, Management und gehaltenen Rinderrassen deutlich. Dies ist den Tabellen 3.1. – 3.3. zu entnehmen.

Tabelle 3.4. enthält Angaben der 30 Betriebe bezüglich ihrer gehaltenen Kälber. In 29 Betrieben erfolgte die Remontierung aus eigener Nachzucht und in nur einem Betrieb wurden zusätzlich Kälber zugekauft.

Tabelle 3.1 Kennzahlen der Untersuchungsbetriebe (n = 30 Betriebe)

Rinder insgesamt	< 50 Rinder	51 – 100 Rinder	101 – 150 Rinder	151 – 200 Rinder	201 - 250 Rinder
Anzahl der Betriebe	1	10	14	3	2
Anzahl an Milchkühen	≤ 25 Tiere	26 - 50 Tiere	51 - 75 Tiere	76 – 100 Tiere	101 – 125 Tiere
Anzahl der Betriebe	2	12	13	1	2
Anzahl an Aufzucht-kälbern	≤ 5 Tiere	6 – 10 Tiere	11 – 15 Tiere	16 – 20 Tiere	21 – 25 Tiere
Anzahl der Betriebe	4	1	14	7	4
Rinder über 4 Monaten, außer Milchkühe	< 25 Tiere	26 – 50 Tiere	51 – 75 Tiere	76 – 100 Tiere	101 – 125 Tiere
Anzahl der Betriebe	4	11	10	4	1

Tabelle 3.2 Angaben zur Tierhaltung neben der Rinderhaltung

Schweinehaltung	Keine		Vorhanden	
Anzahl der Betriebe	20		10	
Hühnerhaltung	Keine		Vorhanden	
Anzahl der Betriebe	21		9	
andere Tierhaltung	Keine	Pferde	Ziegen	Kaninchen
Anzahl der Betriebe	27	2	2	1

(Mehrfachmeldungen waren möglich)

Tabelle 3.3 Angaben zur Haltungsform

Überwiegend gehaltene Rasse	Fleckvieh (FV)	Schwarzbunte (SB)	FV + SB	FV + SB + RB (Rotbunte)
Anzahl d. Betriebe	16	3	9	2
Haltungsform	Anbindestall	Boxenlaufstall		
Anzahl d. Betriebe	7	23		
Weidegang	Milchkühe	Nur weibliche, noch nicht abgekalbte Rinder	Trocken stehende Kühe	Keiner
Anzahl d. Betriebe	3	3	1	23

Tabelle 3.4 Angaben zu den Kälbern

Momentane Anzahl der Kälber	≤ 10 Kälber	11 – 20 Kälber	21 – 30 Kälber	31 – 40 Kälber	41 – 55 Kälber
Anzahl d. Betriebe	3	8	13	4	2
Momentane Anzahl der Kälber mit Durchfall	1 Kalb	2 Kälber	3 Kälber	4 Kälber	Keines
Anzahl d. Betriebe	10	7	8	5	0
Retrospektive Anzahl der Kälber mit Durchfall*	≤ 20 % aller Kälber	21 – 40 % aller Kälber	41 – 60 % aller Kälber	61 – 80 % aller Kälber	81 – 100 % aller Kälber
Anzahl d. Betriebe	1	7	6	5	11
Anzahl eingesandter Durchfallproben von Kälbern*	1 Probe	2 Proben	3 Proben	4 Proben	≥ 5 Proben
Anzahl d. Betriebe	11	12	4	2	1
Behandlungserfolg*	Alle Tiere wieder gesund	Einzelne Todesfälle, trotz Beh.	Mehr als 2 Todesfälle, trotz Beh.	Beh.-Erfolg von nur 50%	Kein Erfolg
Anzahl d. Betriebe	19	6	3	2	0

*Angaben beziehen sich auf das letzte halbe Jahr

3.2.2 Prävalenzen der 5 Durchfallerreger aus Rektaltupfer- bzw. aus Kälberkotproben

Prävalenzen von *Campylobacter* spp. aus Rektaltupferproben der Kälber (n = 425)

Campylobacter-Keime wurden direkt aus den Einzeltierkotproben nach Anreicherung in einer Selektivanreicherungsbouillon auf Selektiv-Agar-Platten angezüchtet. Nach einer vorläufigen phänotypischen Identifizierung folgte die biochemische Differenzierung der Keime bis zur Speziesebene.

Insgesamt gelang 126-mal die Isolierung von *Campylobacter* aus 425 Kälberkotproben. Das entspricht einer Prävalenz von 29,6 %. Es konnten 3 unterschiedliche *Campylobacter*-Spezies nachgewiesen werden. Der proportionale Anteil von *Campylobacter coli* an allen *Campylobacter*-Isolaten betrug mit 4 Isolaten 3,2 %. Mit dem Chi-Quadrat-Test konnte zwischen der gleichzeitigen Schweinehaltung und dem Nachweis von *Campylobacter coli* aus Kälberkot kein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden ($\chi^2 = 0,1$; df = 1, p = 0,75).

Für *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei* betrug der proportionale Anteil mit 9 Isolierungen von allen *Campylobacter*-Isolaten 7,1 %, für *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* mit 113 Isolierungen 89,7 %. *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* wurde auch signifikant häufiger bei

Kälbern gefunden, in deren Betrieben gleichzeitig Hühner gehalten wurden ($\chi^2 = 9,0$, $df = 1$, $p = 0,003$). Im Folgenden werden die 3 Spezies als Campylobacter angesprochen.

In den 30 einzelnen Milchbetrieben wurde der Erreger Campylobacter unterschiedlich häufig nachgewiesen (Tabelle 3.5). Die Betriebsprävalenzen der untersuchten Kälber für Campylobacter schwankten zwischen den Betrieben zwischen 0 und 80 %, der Mittelwert betrug 27,8 %.

In den unterschiedlichen Lebensaltersgruppen der Kälber, eingeteilt nach Lebenswochen, ergaben sich die in Tabelle 3.6 dargestellten Werte für den Anteil an Kälbern, bei denen der Campylobacternachweis gelang.

Tabelle 3.5: Häufigkeiten der Erreger in den untersuchten Betrieben (30)

Betrieb	Anzahl Kälber	<i>Campylobacter</i>			<i>Yersinia enterocolitica</i>			<i>Salmonella</i>			<i>Kryptosporidium parvum</i>			Rotavirus		
		Neg.	Pos.	Prävalenz	Neg.	Pos.	Prävalenz	Neg.	Pos.	Prävalenz	Neg.	Pos.	Prävalenz	Neg.	Pos.	Prävalenz
1	5	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %
2	5	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %	4	1	20,0 %
3	12	12	0	0,0 %	11	1	8,3 %	12	0	0,0 %	8	4	33,3 %	12	0	0,0 %
4	5	3	2	40,0 %	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %	5	0	0,0 %
5	12	9	3	25,0 %	12	0	0,0 %	12	0	0,0 %	6	6	50,0 %	11	1	8,3 %
6	12	12	0	0,0 %	12	0	0,0 %	8	4	33,3 %	10	2	16,7 %	12	0	0,0 %
7	15	12	3	20,0 %	15	0	0,0 %	15	0	0,0 %	12	3	20,0 %	15	0	0,0 %
8	20	20	0	0,0 %	20	0	0,0 %	20	0	0,0 %	15	5	25,0 %	14	6	30,0 %
9	13	11	2	15,4 %	13	0	0,0 %	13	0	0,0 %	9	4	30,8 %	12	1	7,7 %
10	11	6	5	45,5 %	11	0	0,0 %	11	0	0,0 %	8	3	27,3 %	11	0	0,0 %
11	15	3	12	80,0 %	15	0	0,0 %	15	0	0,0 %	11	4	26,7 %	11	4	26,7 %
12	22	19	3	13,7 %	22	0	0,0 %	22	0	0,0 %	18	4	18,2 %	22	0	0,0 %
13	12	11	1	8,3 %	12	0	0,0 %	12	0	0,0 %	12	0	0,0 %	10	2	16,7 %
14	25	12	13	52,0 %	25	0	0,0 %	25	0	0,0 %	19	6	24,0 %	24	1	4,0 %
15	19	18	1	5,3 %	19	0	0,0 %	19	0	0,0 %	19	0	0,0 %	18	1	5,3 %
16	13	9	4	30,8 %	13	0	0,0 %	13	0	0,0 %	10	3	23,0 %	13	0	0,0 %

Tabelle 3.5 (Fortsetzung): Häufigkeiten der Erreger in den untersuchten Betrieben (30)

Betrieb	Anzahl Kälber	<i>Campylobacter</i>			<i>Yersinia enterocolitica</i>			<i>Salmonella</i>			<i>Kryptosporidium parvum</i>			Rotavirus		
		Neg.	Pos.	Prävalenz	Neg.	Pos.	Prävalenz	Neg.	Pos.	Prävalenz	Neg.	Pos.	Prävalenz	Neg.	Pos.	Prävalenz
17	14	8	6	42,9 %	14	0	0,0 %	2	12	85,7 %	9	5	35,7 %	9	5	35,7 %
18	15	7	8	53,3 %	15	0	0,0 %	15	0	0,0 %	14	1	6,7 %	15	0	0,0 %
19	17	5	12	70,6 %	17	0	0,0 %	17	0	0,0 %	14	3	17,7 %	16	1	5,9 %
20	25	22	3	12,0 %	25	0	0,0 %	25	0	0,0 %	21	4	16,0 %	25	0	0,0 %
21	16	4	12	75,0 %	16	0	0,0 %	16	0	0,0 %	12	4	25,0 %	14	2	12,5 %
22	6	6	0	0,0 %	6	0	0,0 %	6	0	0,0 %	5	1	16,7 %	6	0	0,0 %
23	13	12	1	7,7 %	13	0	0,0 %	13	0	0,0 %	7	6	46,2 %	13	0	0,0 %
24	13	5	8	61,5 %	13	0	0,0 %	13	0	0,0 %	8	5	38,5 %	11	2	15,4 %
25	14	7	7	50,0 %	14	0	0,0 %	10	4	28,6 %	12	2	14,3 %	14	0	0,0 %
26	10	8	2	20,0 %	10	0	0,0 %	10	0	0,0 %	10	0	0,0 %	10	0	0,0 %
27	18	11	7	38,9 %	16	2	11,1 %	18	0	0,0 %	16	2	11,1 %	15	3	16,7 %
28	13	13	0	0,0 %	13	0	0,0 %	13	0	0,0 %	10	3	23,1 %	13	0	0,0 %
29	19	8	11	57,9 %	19	0	0,0 %	19	0	0,0 %	18	1	5,3 %	18	1	5,3 %
30	16	16	0	0,0 %	16	0	0,0 %	16	0	0,0 %	15	1	6,3 %	15	1	6,3 %
	425	299	126	29,7 %	422	3	0,7 %	405	20	4,7 %	343	82	19,3 %	393	32	7,5 %

Tabelle 3.6: Häufigkeiten der nachgewiesenen Erreger in Abhängigkeit vom Lebensalter der Kälber

Alter in Wochen	Gesamtzahl d. Proben	<i>Campylobacter</i>			<i>Yersinia enterocolitica</i>			<i>Salmonella</i>			<i>Kryptosporidium parvum</i>			Rotavirus		
		Pos.	Neg.	Prävalenz	Pos.	Neg.	Prävalenz	Pos.	Neg.	Prävalenz	Pos.	Neg.	Prävalenz	Pos.	Neg.	Prävalenz
1	41	5	36	12,2 %	0	41	0,0 %	6	35	14,6 %	6	35	14,6 %	3	38	7,3 %
2	47	11	36	23,4 %	0	47	0,0 %	2	45	4,3 %	26	21	55,3 %	10	37	21,3 %
3	34	6	28	17,7 %	0	34	0,0 %	2	32	5,9 %	15	19	44,1 %	5	29	14,7 %
4	39	12	27	30,8 %	0	39	0,0 %	1	38	2,6 %	11	28	28,2 %	3	36	7,7 %
5	24	7	17	29,2 %	0	24	0,0 %	1	23	4,2 %	3	21	12,5 %	1	23	4,2 %
6	35	11	24	31,4 %	1	34	2,9 %	1	34	2,9 %	8	27	22,9 %	3	32	8,7 %
7	22	5	17	22,7 %	1	21	4,6 %	0	22	0,0 %	1	21	4,6 %	0	22	0,0 %
8	48	14	34	29,2 %	0	48	0,0 %	0	48	0,0 %	3	45	6,3 %	1	47	2,1 %
9	13	5	8	38,5 %	0	13	0,0 %	1	12	7,7 %	0	13	0,0 %	0	13	0,0 %
10	21	5	16	23,8 %	0	21	0,0 %	0	21	0,0 %	2	19	9,5 %	1	20	4,8 %
12	30	13	17	43,3 %	0	30	0,0 %	5	25	16,7 %	2	28	6,7 %	2	28	6,7 %
13	20	10	10	50,0 %	0	20	0,0 %	0	20	0,0 %	0	20	0,0 %	0	20	0,0 %
14	13	5	8	38,5 %	0	13	0,0 %	0	13	0,0 %	2	11	15,4 %	2	11	15,4 %
15	13	8	5	61,5 %	0	13	0,0 %	1	13	7,7 %	1	12	7,7 %	0	13	0,0 %
16	13	4	9	30,8 %	1	12	7,7 %	0	13	0,0 %	2	11	15,4 %	1	12	7,7 %
17	6	2	4	33,3 %	0	6	0,0 %	0	6	0,0 %	0	6	0,0 %	0	6	0,0 %
18	4	2	2	50,0 %	0	4	0,0 %	0	4	0,0 %	0	4	0,0 %	0	4	0,0 %
19	1	1	0	100 %	0	1	0,0 %	0	1	0,0 %	0	1	0,0 %	0	1	0,0 %
21	1	0	1	0,0 %	0	1	0,0 %	0	1	0,0 %	0	1	0,0 %	0	1	0,0 %
Gesamt	425	126	299	29,7 %	3	422	0,7 %	20	405	4,7 %	82	343	19,3 %	32	393	7,5 %

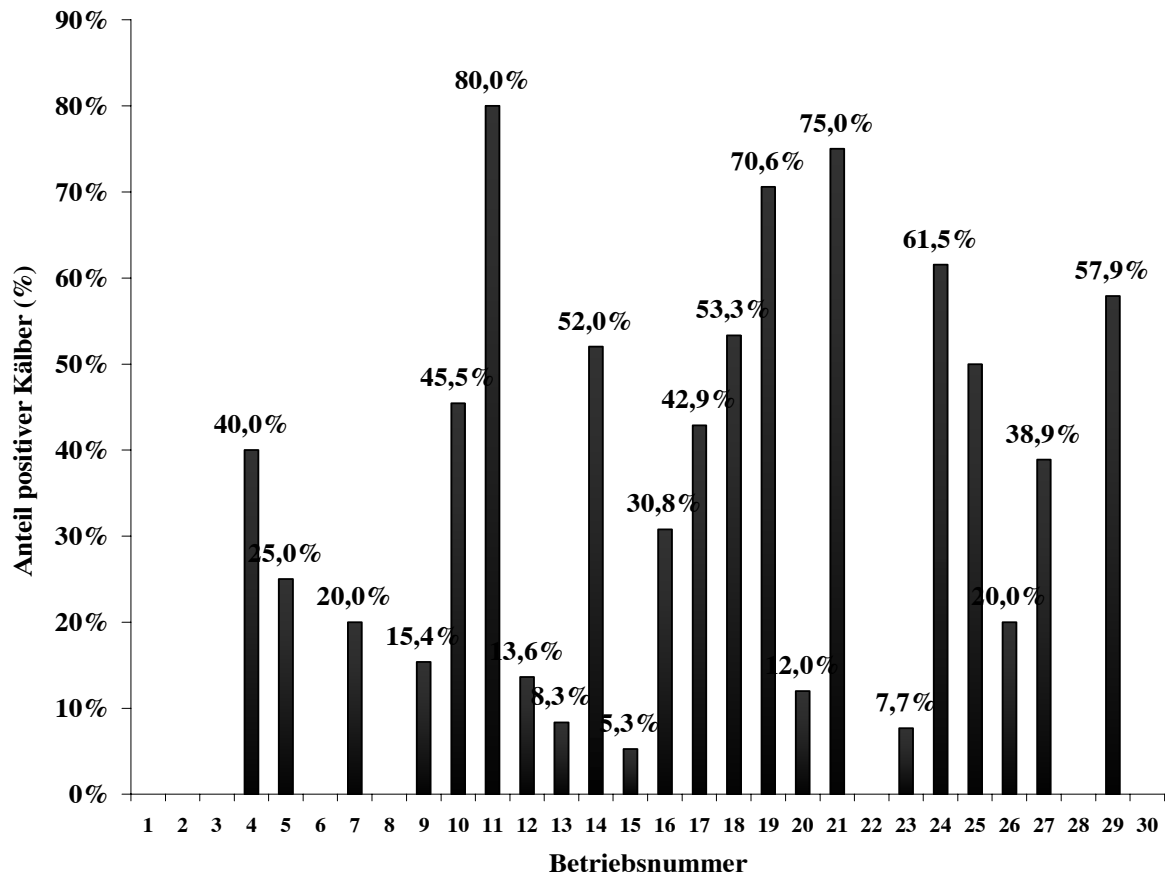
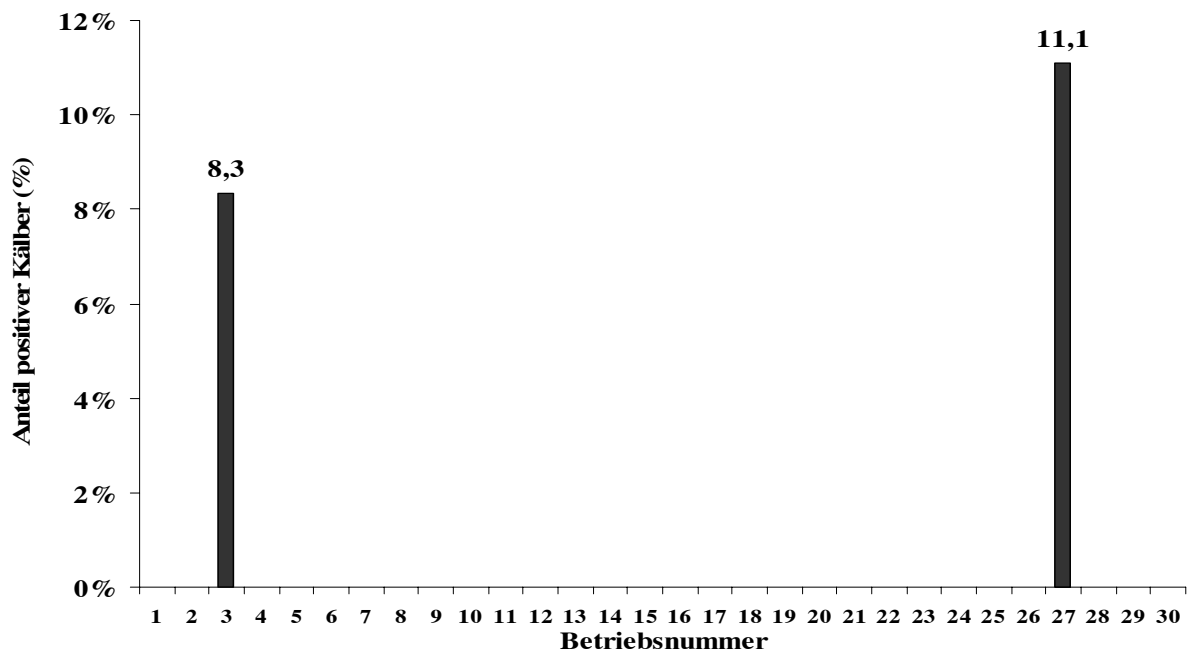
Abbildung 3.1 *Campylobacter* - Nachweishäufigkeiten in den untersuchten BetriebenAbbildung 3.2 *Yersinia enterocolitica* – Nachweishäufigkeiten in den untersuchten Betrieben

Abbildung 3.3 Salmonellen – Nachweishäufigkeiten in den untersuchten Betrieben

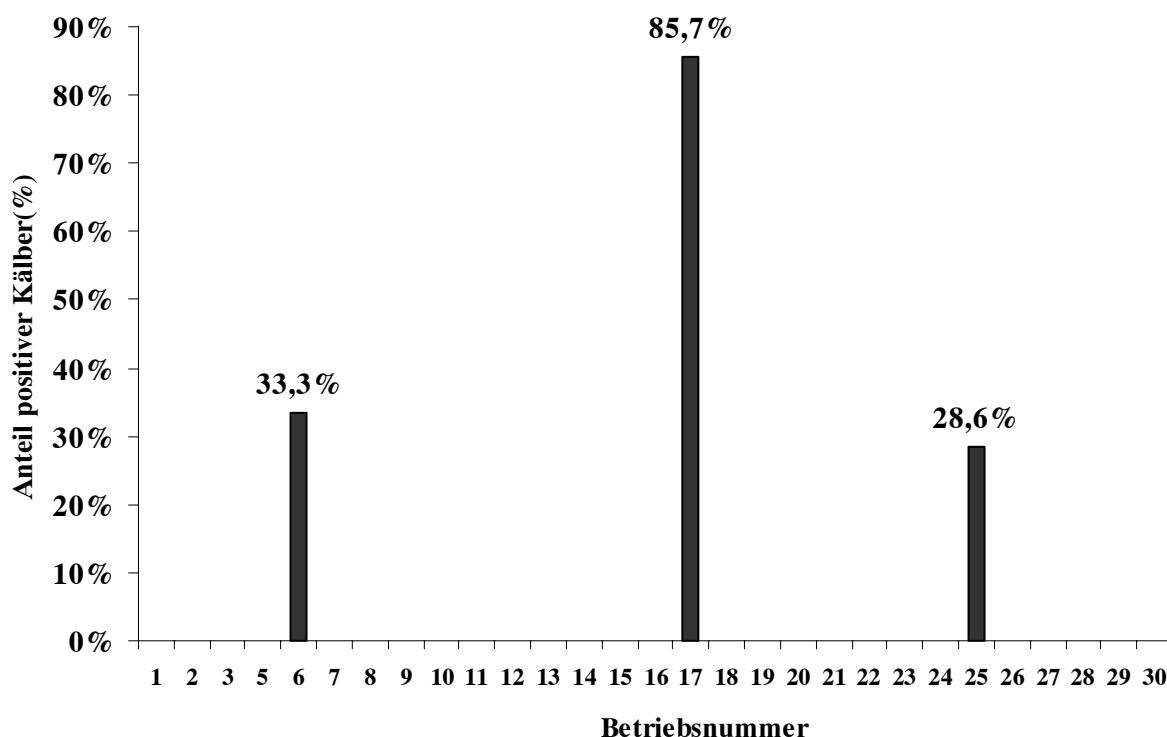


Abbildung 3.4 Kryptosporidien – Nachweishäufigkeiten in den untersuchten Betrieben

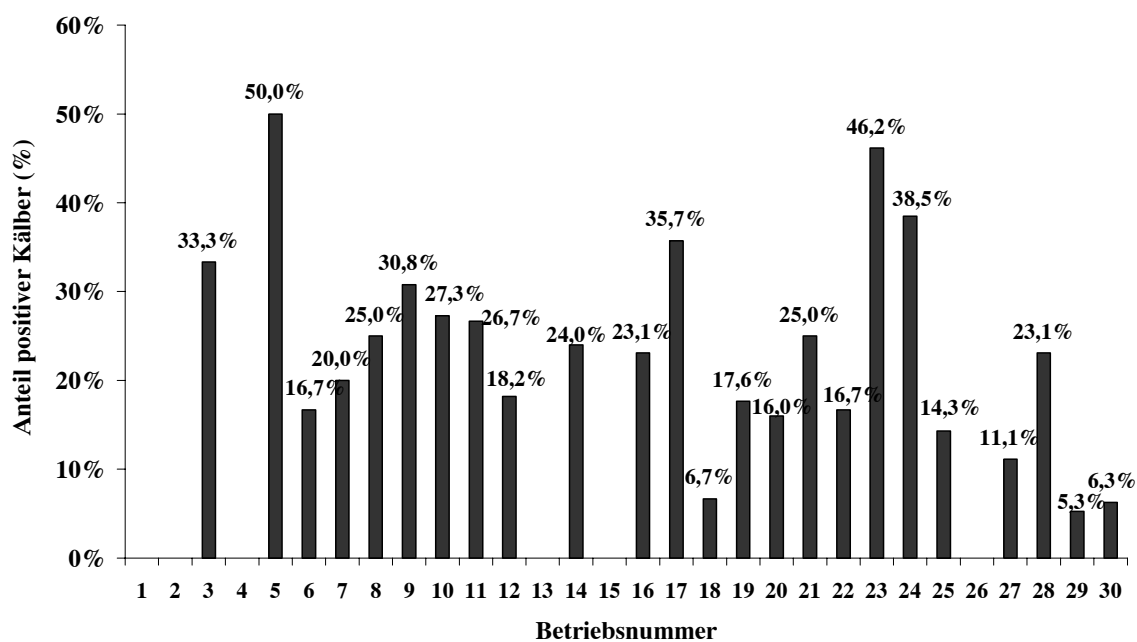


Abbildung 3.5 Rotavirus – Nachweishäufigkeiten in den untersuchten Betrieben

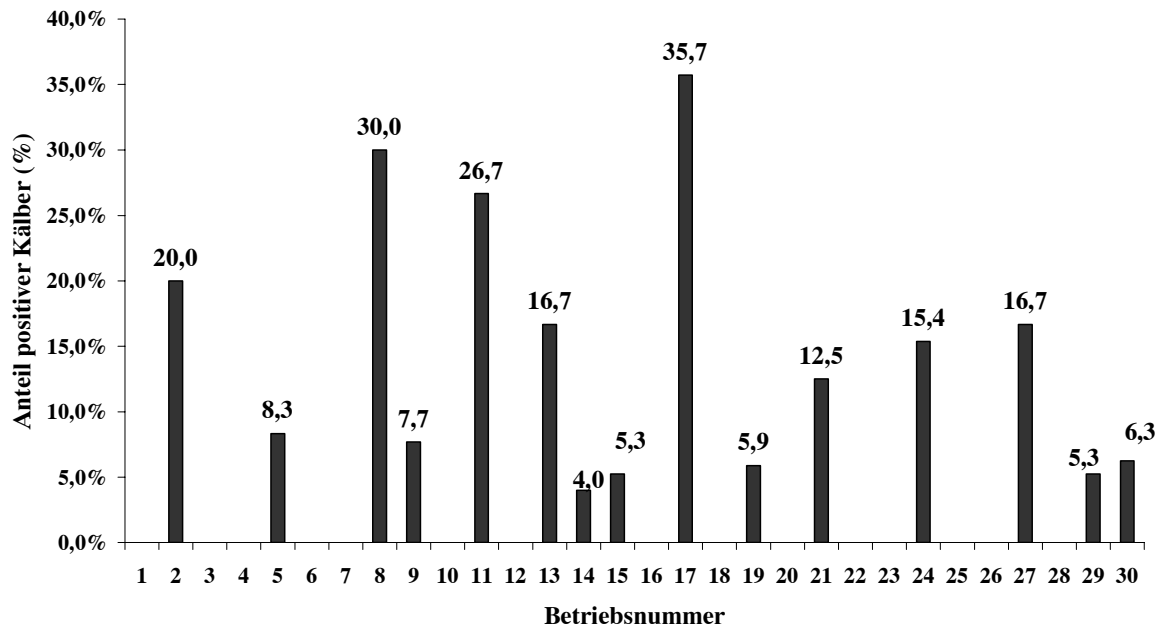


Abbildung 3.6 Prävalenz von Campylobacter in Abhängigkeit vom Lebensalter der Kälber

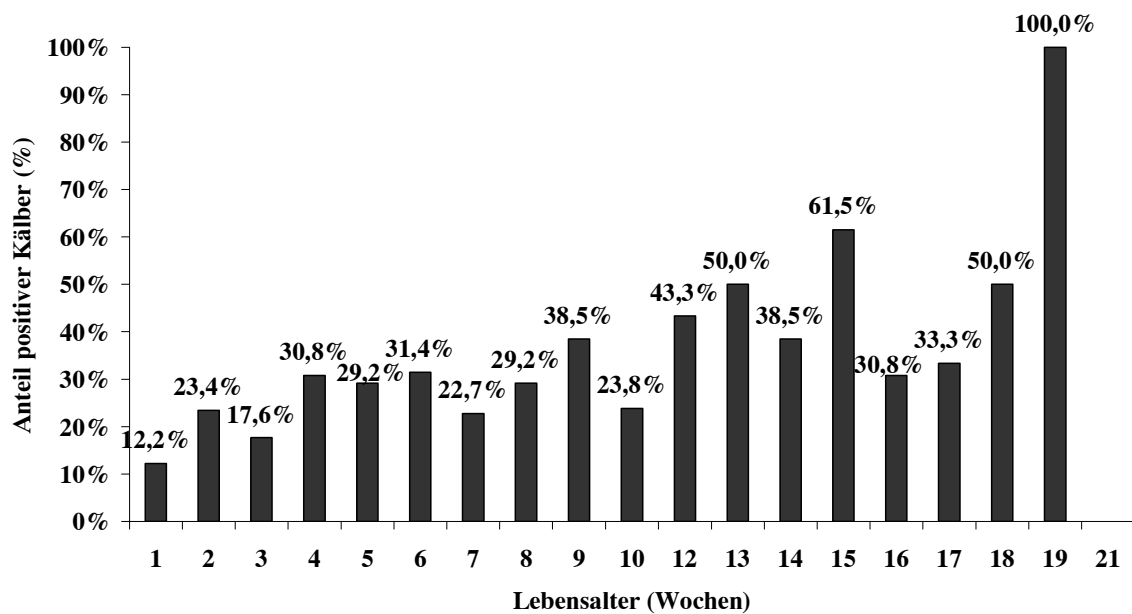


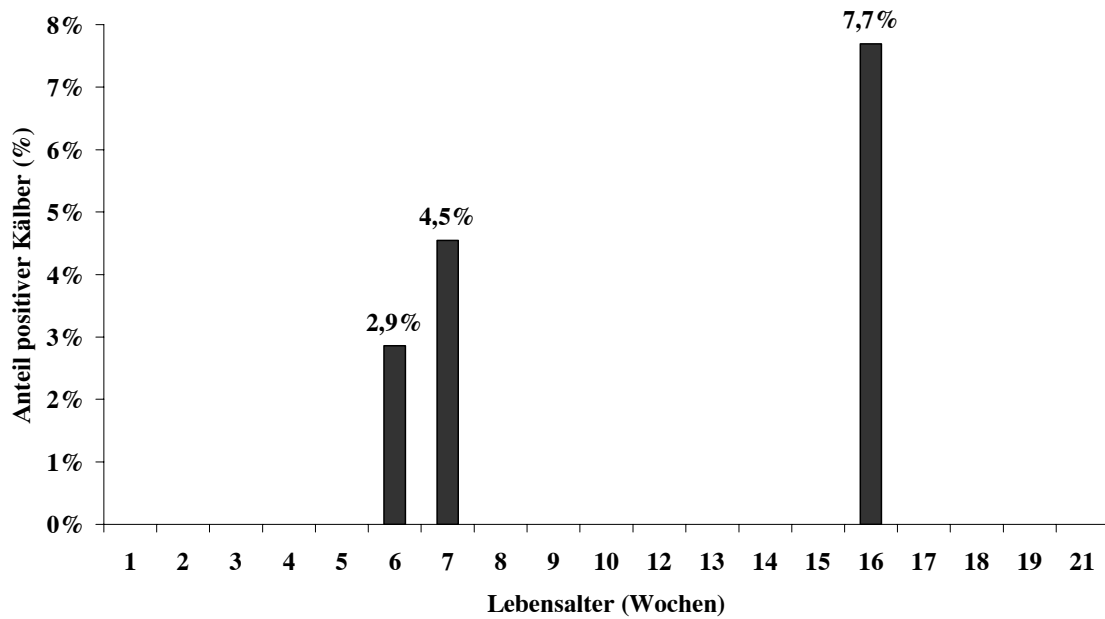
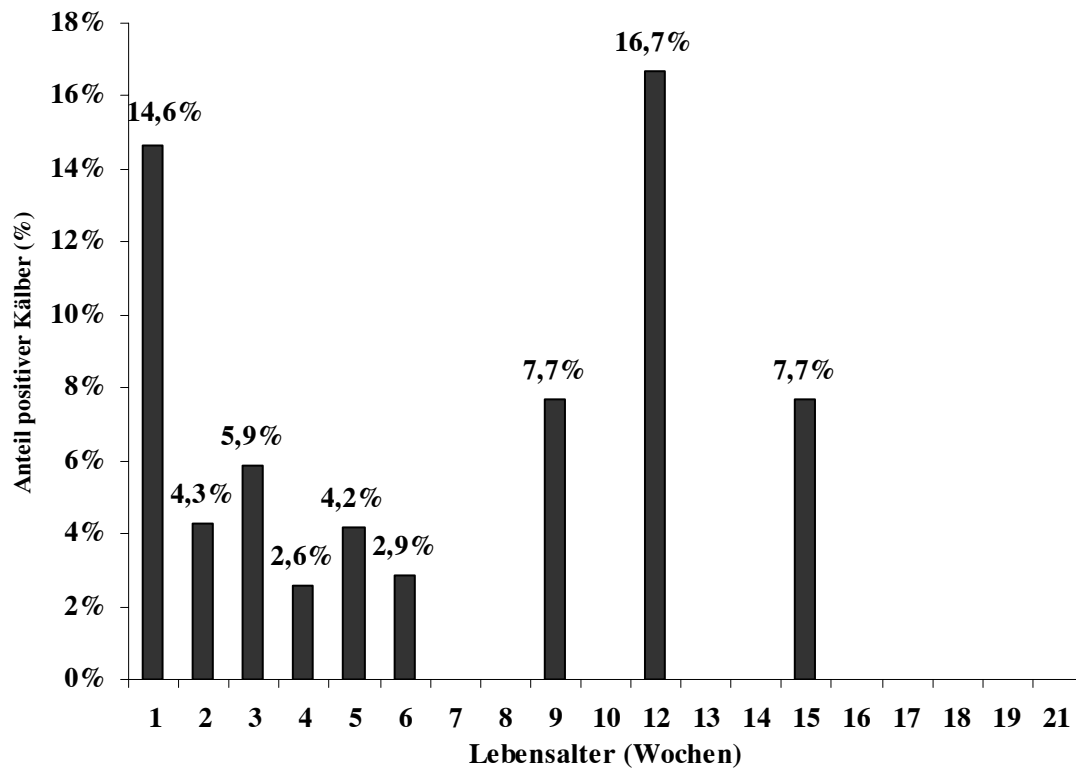
Abbildung 3.7 Prävalenz von *Yersinia enterocolitica* in Abhängigkeit vom Lebensalter der Kälber**Abbildung 3.8** Prävalenz von Salmonellen in Abhängigkeit vom Alter der Kälber

Abbildung 3.9 Prävalenz von *Kryptosporidium parvum* in Abhängigkeit vom Alter der Kälber

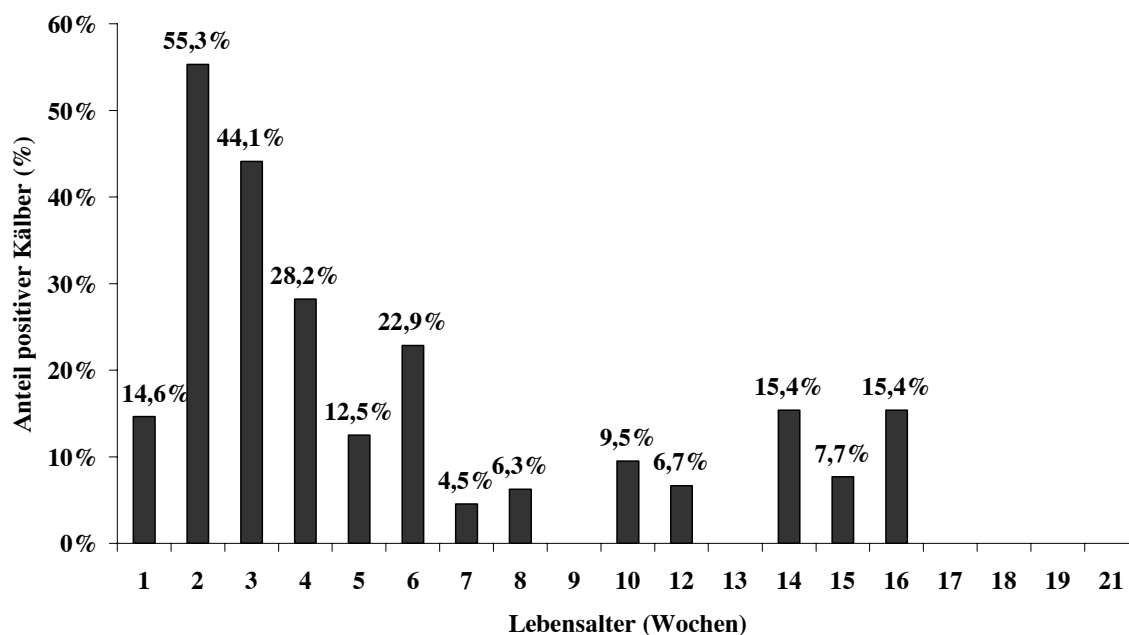
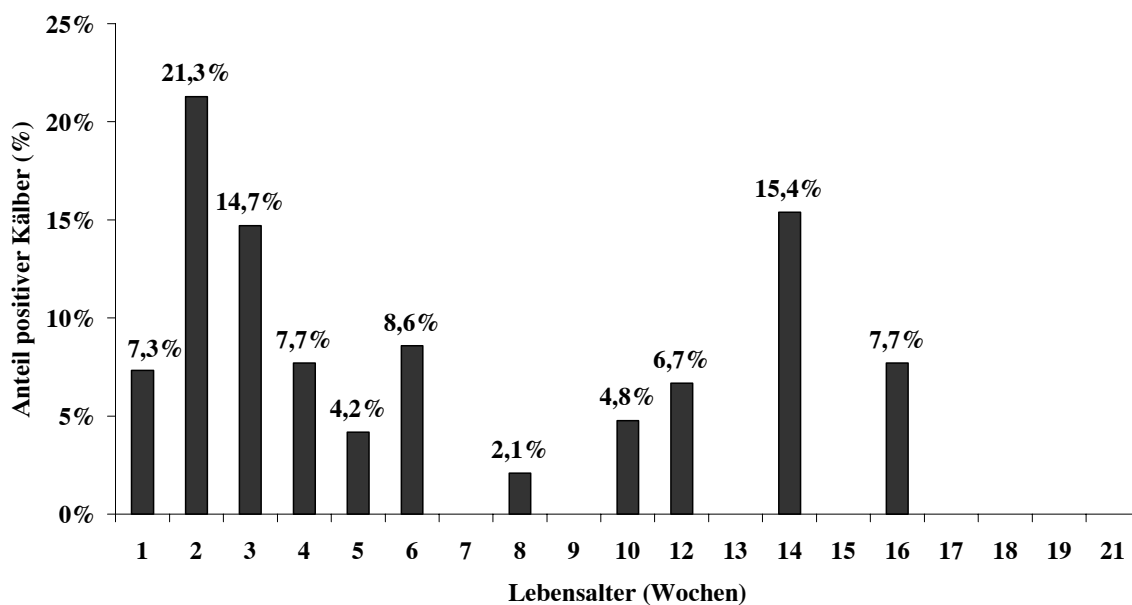


Abbildung 3.10 Prävalenz von Rotavirus in Abhängigkeit vom Alter der Kälber



Prävalenzen von *Yersinia enterocolitica* aus Kotproben der Kälber (n = 425)

Yersinia enterocolitica konnte aus 3 Kälberkotproben isoliert werden. Das entspricht einer *Yersinia enterocolitica*-Prävalenz von 0,7 %.

Bei den Isolaten handelte es sich um ein Isolat aus Betrieb 3 von einem Kalb im Alter von 7 Wochen und zwei Isolaten aus Betrieb 27 bei Kälbern im Alter von 6 und 16 Wochen. Die korrespondierenden Bestandsprävalenzen der beiden Betriebe wurden als 8,3 % (Betrieb 3) bzw. 11,1 % (Betrieb 27) berechnet.

Prävalenzen von *Salmonella* spp. aus Kotproben der Kälber (n = 425)

Salmonella spp. konnte aus 20 Kälberkotproben isoliert werden, das entspricht einer Prävalenz von 4,7 % der untersuchten Kälber. Die altersspezifischen Prävalenzen von *Salmonella* spp. sind in Abb. 3.3 dargestellt. In den Betrieben 6 und 25 wurden jeweils 4-mal *Salmonella* Thyphimurium isoliert (d. h. Bestandsprävalenzen: 36,4 % bzw. 30,8 %), während im Bestand 17 *Salmonella* Coeln 12-mal isoliert wurde (d.h. Bestandsprävalenz von 85,7 %). Die beiden unterschiedlichen Serovare werden im Folgenden als Salmonellen angesprochen.

Prävalenzen von bovinen Rotaviren aus Kotproben der Kälber (n = 425)

Der Nachweis von bovinen Rotaviren wurde mit Hilfe eines ELISA aus den Kotproben der Kälber durchgeführt. Der Nachweis gelang in 32 Fällen, das entspricht einer Prävalenz von 7,5 %. In den verschiedenen Altersgruppen wie auch in den einzelnen Betrieben waren die Anteile der untersuchten Kälber mit positivem Rotavirusnachweis unterschiedlich. Die Betriebsprävalenzen variierten von 0 bis 35,7 %, die durchschnittliche Betriebsprävalenz betrug 7,2 %. Bestandsprävalenzen sind in Tabelle 3.5 dargestellt.

Prävalenzen von *Kryptosporidium parvum* aus Kotproben der Kälber (n = 425)

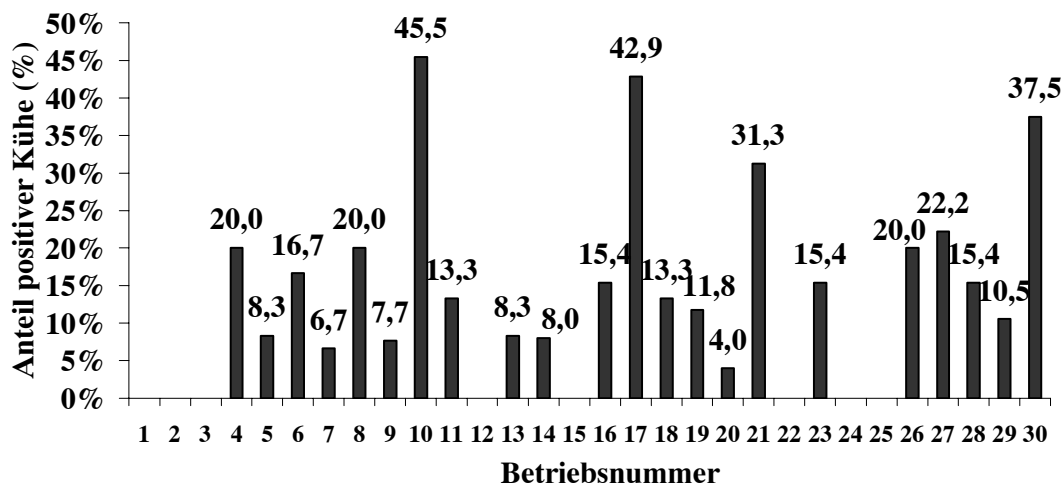
Kryptosporidium parvum wurde mit 2 unterschiedlichen Methoden aus den Kälberkotproben nachgewiesen, zum einen anhand der Nativuntersuchung eines Tropfen Kälberkotes mittels Phasenkontrastmikroskop und zum anderen mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen ELISA-Testes. Insgesamt gelang der Kryptosporidiennachweis bei 82 Kälbern, das entspricht einer Prävalenz von 19,3 %. Die durchschnittliche Bestandsprävalenz betrug 18,6 %, wobei die Nachweishäufigkeiten in den einzelnen Betrieben stark variierten. Abb. 3.4. stellt die unterschiedlichen Bestandsprävalenzen dar. *Kryptosporidium parvum* wird im Folgenden als Kryptosporidium angesprochen.

3.2.3 Punktprävalenzen der 3 bakteriellen Durchfallerreger aus Rektaltupfern bzw. Kot der Kühe

Prävalenzen von *Campylobacter* spp. aus Rektaltupfern der Kühe (n = 401)

Die Isolierung von *Campylobacter* spp. aus Rektaltupferproben der Kühe erfolgte in derselben Weise wie aus den Rektaltupferproben der Kälber.

Insgesamt wurden 401 Rektaltupfer von Kühen untersucht. Für *Campylobacter* spp. wurde mit 56 Isolaten eine Gesamtprävalenz von 14,0 % bestimmt. Es wurden 2 unterschiedliche *Campylobacter*-Spezies isoliert, wobei für *Campylobacter coli* mit nur einem Isolat eine Prävalenz von 0,2 % und für *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* mit 55 Isolaten eine Prävalenz von 13,7 % festgestellt werden konnte. Der durchschnittliche Anteil der untersuchten Kühe mit positivem *Campylobacter*-Nachweis je Betrieb betrug 13,5 %. Die einzelnen Bestandsprävalenzen sind in Abb. 3.11 dargestellt.

Abbildung 3.11 Bestandsprävalenzen von Campylobacter bei Kühen**Prävalenzen von *Yersinia enterocolitica* aus Kotproben der Kühe (n = 401)**

Yersinia enterocolitica wurde aus Kuhkot 16-mal isoliert, das entspricht einer Prävalenz von 4 %.

In Bestand 3 betrug die Prävalenz mit 6 Isolierungen 50 %, in Bestand 16 mit 4 Isolierungen 33,3 % und in Bestand 13 mit 2 Isolierungen 18,2 %. Die restlichen 4 Isolierungen verteilten sich mit jeweils einer Isolierung auf die Bestände 10, 17, 18 und 27.

Prävalenzen von *Salmonella* spp. aus Kotproben der Kühe (n = 401)

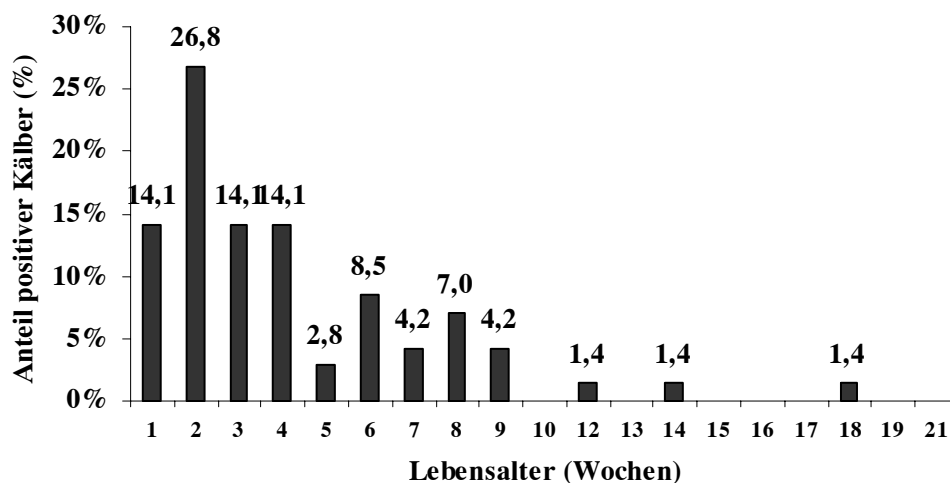
Salmonellen aus dem Kot der Muttertiere konnte nur aus dem Betrieb Nummer 17 isoliert werden. Von den 14 untersuchten Kühen in diesem Betrieb wurde 5-mal der Erreger *Salmonella* Coeln isoliert. Das entspricht einer Bestandsprävalenz von 35,7 %. Die Gesamt-Salmonellenprävalenz aller untersuchten Kühe betrug 1,2 %.

3.2.4 Prävalenz von Kälberdurchfall

„Durchfall“ wurde adspektorisch anhand der veränderten unphysiologischen Kotkonsistenz mit und ohne Störungen des Allgemeinbefindens definiert.

Insgesamt zeigten 71 Kälber bei einer Gesamtprobenzahl von 425 das Symptom „Durchfall“ zum Probenentnahmezeitpunkt. Der Anteil der untersuchten Kälber die Durchfall zeigten, beträgt somit 16,7 % aller beprobten Kälber mit einem Alter bis zu 4 Monaten. Dieser Anteil an durchfallkranken Kälbern verteilt sich auf die verschiedenen Altersgruppen in unterschiedlicher Weise wie Abbildung 3.12 zeigt. Die Durchfallerkrankung war ersichtlich besonders häufig in den ersten vier Lebenswochen. Die Prävalenz von Durchfall stieg von 14,1 % in der 1. Lebenswoche auf 26,8 % in der zweiten Lebenswoche, um dann wieder auf 14,1 % in der 3. und 4. Lebenswoche, und nachfolgend mit weiterem Lebensalter unter 10 % zu sinken. Ab der 10. Lebenswoche traten Durchfälle nur noch vereinzelt und in niedriger Anzahl auf. Insgesamt lag das durchschnittliche Alter von Kälbern mit Durchfall mit 27 Tagen deutlich signifikant unter dem durchschnittlichen Alter von 53 Tagen von Kälbern ohne Durchfall (t-Test: $t = 5,9$, $p = 0,00$). Unterschiede zwischen den Betrieben wurden aufgedeckt, indem die Durchfallhäufigkeit für jeden untersuchten Betrieb einzeln bestimmt wurde. Sie lag zwischen 5 und 60 %. Der Mittelwert der Prävalenzen der Betriebe betrug 18,0 %.

Abbildung 3.12 Prävalenzen von Durchfall in Abhängigkeit vom Lebensalter der Kälber



3.2.5 Kälberdurchfall und die 5 Erreger

Campylobacter spp.

Insgesamt stammten 71 von 425 untersuchten Kotproben von durchfallkranken Kälbern (16,7 %), von nicht-durchfallkranken Kälbern wurden 354 Proben gezogen. Proportional traten 17 der gesamt 126 *Campylobacter*-Nachweise (13,5 %) bei Kälbern mit Durchfall auf, die Mehrzahl der *Campylobacter*-Nachweise (86,5 %) wurde aber bei Kälbern ohne Durchfall geführt.

Auch die Prüfung mit dem Chi-Quadrat-Test ergab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Nachweis von *Campylobacter* und vorhandenem Durchfall der Kälber ($\chi^2 = 1,32$, $df = 1$, $p = 0,25$).

Yersinia enterocolitica

Von 3 Kotproben, aus denen *Yersinia enterocolitica* isoliert werden konnte, stammte keine der Proben von einem Tier, das an Durchfall litt.

Salmonella spp.

Der Anteil der Proben mit positivem Salmonellen-Nachweis von durchfallkranken Kälbern betrug 5 von 20 (25 %), 15 positive Nachweise wurden in Kotproben von gesunden Kälbern geführt. Der Chi-Quadrat-Test bestätigte, dass kein Zusammenhang zwischen Durchfall und dem Nachweis von Salmonellen bestand ($\chi^2 = 1,04$, $df = 2$, $p = 0,59$).

Rotavirus

Der Anteil an Proben mit positivem bovinem Rotavirus-Nachweis von an Durchfall erkrankten Kälbern betrug 11 von 32 (34,4 %).

Mittels des Chi-Quadrat-Testes konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von bovinem Rotavirus und dem gleichzeitigen Auftreten von Durchfall aufgezeigt werden ($\chi^2 = 7,8$, $df = 1$, $p = 0,005$).

Kryptosporidium parvum

Von 82 positiven *Kryptosporidium parvum*-Nachweisen stammten 18 von Kälbern, die Durchfall zeigten. Das sind 22,0 %. Kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Durchfall und der Nachweishäufigkeit von *Kryptosporidium parvum* konnte mit dem Chi-Quadrat-Test nachgewiesen werden ($\chi^2 = 2,0$, $df = 1$, $p = 0,15$).

Tabelle 3.7 Prävalenzen der 5 Erreger bei Kälberdurchfall

71 Durchfallproben gesamt	Kälber mit Durchfall		Prozent- satz	Chi-Quadrat: χ^2 (p-Wert)
<i>Campylobacter</i> spp. (126)	Ja	17	13,5	1,32 (0,25)
	Nein	109	86,5	
<i>Yersinia enterocolitica</i> (3)	Ja	0	0	
	Nein	3	100	
Salmonellen (20)	Ja	5	25	1,04 (0,59)
	Nein	15	75	
Rotavirus (32)	Ja	11	34,4	7,8 (0,005)
	Nein	21	65,6	
<i>Kryptosporidium parvum</i> (82)	Ja	18	22	2,0 (0,15)
	Nein	64	78	

3.2.6 Kälberdurchfall und einzeltierspezifische Einflussgrößen

Kälberdurchfall und Tränkemethode

Durchfallkranke Kälber wurden besonders häufig mit der Flasche gefüttert (33,3 %), gefolgt von Nuckeleimertränkung (29,6 %), Eimertränkung (15,6 %), Automatentränkung (11,0 %) und keiner Tränkung der abgesetzten Kälber (5,6 %). Mit dem Chi-Quadrat-Test konnte für den Zusammenhang zwischen Tränkemethode und Kälberdurchfall eine hohe Signifikanz ermittelt werden ($\chi^2 = 15,7$, $df = 4$, $p = 0,03$) in der Form, dass durchfallkranke Kälber signifikant häufiger mit der Flasche gefüttert wurden.

Kälberdurchfall und Haltung

Mit deutlicher Signifikanz zeigte der Chi-Quadrat-Test die Abhängigkeit zwischen Kälberdurchfall und Haltung. Kälber, die einzeln gehalten wurden, zeigten signifikant häufiger Durchfall als Kälber in Gruppenhaltung ($\chi^2 = 23,6$, $df = 1$, $p = 0,00$).

Kälberdurchfall und Rasse

Die Kälber wurden in Vergleichsgruppen von zwei Rassen zusammengefasst: Schwarzbunt und Kälber, die nicht zur Rasse Schwarzbunt zählten wie Fleckvieh, Rotbunt, Allgäuer. Nach dieser Einteilung hatten schwarzbunte Kälber signifikant häufiger Durchfall ($\chi^2 = 4,68$, $df = 1$, $p = 0,03$) als Kälber anderer Rassen.

Kälberdurchfall und Geschlecht

Zwischen dem Geschlecht der Kälber und Kälberdurchfall konnte mit dem Chi-Quadrat-Test kein Zusammenhang festgestellt werden ($\chi^2 = 0,01$, $df = 1$, $p = 0,91$).

3.2.7 Kotkonsistenz und Einflussgrößen

Kotkonsistenz und Tränkemethode

Die Kotkonsistenz der Kälber präsentierte sich in vier unterschiedlichen Formen: Wässrig, dünnflüssig, dickflüssig und normal. Sie wurden mittels einer Kreuztabelle gegen die fünf Tränkemethoden (mit der Flasche, mit dem Nuckeleimer, mit dem Eimer, am Automaten und abgesetzte Tränkung) getestet. Der Chi-Quadrat-Test ergab einen signifikanten Zusammenhang ($\chi^2 = 37,8$, $df = 12$, $p < 0,05$), in der Form, dass Kälber, die mit der Flasche getränkt wurden, am häufigsten wässrigen Kot präsentierten, während abgesetzte Kälber am häufigsten normalen Kot zeigten.

Kotkonsistenz und Rasse

Die Variablen „Kotkonsistenz“ und „Rasse“ wurden jeweils in Gruppen eingeteilt: die Variable „Kotkonsistenz“ in die o. g. vier, die Variable „Rasse“ in Fleckvieh, Schwarzbunt, Schwarzbunt/Fleckvieh, Allgäuer und Rotbunt-Gruppen eingeteilt. Es stellte sich heraus, dass Kälber der Rasse Schwarzbunt 7,3-mal häufiger wässrigen Kot zeigten als Kälber anderer Rassen und somit ein Zusammenhang zwischen Kotkonsistenz und Rasse bestand ($\chi^2 = 15,7$, $df = 5$, $p = 0,008$).

Kotkonsistenz und Geschlecht

Zwischen den Variablen Kotkonsistenz und Geschlecht ließ sich kein Zusammenhang herstellen.

Kotkonsistenz und die 5 einzelnen Erreger

Bei der Gegenüberstellung von Kotkonsistenz und den einzelnen Erregernachweishäufigkeiten gelang es nur für Rotaviren, einen signifikanten Zusammenhang aufzuzeigen. Für *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, Salmonellen als auch Kryptosporidien ergab die Abprüfung mit dem Chi-Quadrat-Test keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Kotkonsistenz und dem jeweiligen Erreger. Nur bei Rotaviren bestand dieser signifikante Zusammenhang zwischen Kotkonsistenz und dem Rotavirus-Nachweis ($\chi^2 = 10,6$, $df = 3$, $p = 0,01$), in der Form, dass bei Rotavirus-Nachweisen das Kalb besonders häufig dünnflüssigen Kot absetzte.

Anschließend wurden die drei Konsistenzen wässrig, dünnflüssig und dickflüssig als Durchfall zusammengefasst und gegen die Variable Rotavirus-Nachweis getestet. Der Chi-Quadrat-Test ergab einen signifikanten Zusammenhang ($\chi^2 = 7,8$, $df = 1$, $p = 0,005$) in der Form, dass bei Rotavirus-Nachweisen ein Kalb häufig Durchfall zeigte.

3.2.8 Nachweise von *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica* und Salmonellen aus der Umgebung der Kälber

In jedem Betrieb wurden neben den Kotproben und Rektaltupfern auch Umgebungsproben entnommen. Von den Boxenwänden von mindestens 2 Boxen der Kälber und vom jeweiligen Tränkegeschirr (Flasche, Nuckeleimer, Eimer, Automat) wurden Tupferproben für den Nachweis von *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica* und Salmonellen entnommen. In keiner dieser Umgebungsproben konnte einer der 3 genannten bakteriellen Erreger nachgewiesen werden.

3.2.9 Nachweis von Erregern bei Kälbern und deren Mütter

Campylobacter konnte 20-mal sowohl beim Kalb als auch bei dessen Mutter nachgewiesen werden. Der Nachweis gelang dagegen 106-mal nur beim Kalb aber nicht bei dessen Mutter bzw. 6 dieser Muttertiere standen zum Probenentnahmezeitpunkt bereits nicht mehr zur Verfügung. Der Chi-Quadrat-Test zeigte jedoch keinen Zusammenhang zwischen dem *Campylobacter*-Nachweis beim Kalb und einem gleichzeitigen *Campylobacter*-Nachweis bei dessen Mutter auf ($\chi^2 = 5,7$, $df = 6$, $p = 0,45$).

Yersinia enterocolitica konnte von den insgesamt 3 Nachweisen in Kälberkot einmal sowohl bei einem Kalb als auch bei dessen Mutter festgestellt werden. Der Chi-Quadrat-Test konnte auf Grund der geringen Fallzahlen nicht angewendet werden. Salmonellen konnten bei Käl-

bern und deren Mütter in 4 Fällen nachgewiesen werden. Daraus ließ sich mit dem Chi-Quadrat-Test ein deutlicher Zusammenhang für die gemeinsame Nachweisbarkeit von Salmonellen sowohl bei Kälbern als auch bei deren Müttern ableiten ($\chi^2 = 103,7$, $df = 2$, $p = 0,00$).

Tabelle 3.8 Nachweis von Erregern bei Kälbern und Kühen

Erreger	Anzahl pos.		Prozentsatz der pos.		Chi-Quadrat: χ^2 (p-Wert)
	Kälber	Kühe	Kälber	Kühe	
<i>Campylobacter</i> spp.	126	56	29,7	13,9	5,7 (0,45)
<i>Yersinia</i> <i>enterocolitica</i>	3	16	0,7	4	
Salmonellen	20	14	4,7	1,2	103,7 (0,00)

3.2.10 Nachweise der 5 Erreger und betriebsspezifische Einflussgrößen

Univariate und multivariate Analyse der untersuchten Einflussgrößen

Mögliche Häufungen und Abhängigkeiten zwischen den Anteilen an Erreger-Nachweisen und tierspezifischen Parametern wurden mittels univariater Analysen mit Hilfe des t-Tests und des Chi-Quadrat-Tests überprüft, um Hinweise über mögliche Einflussgrößen auf die Prävalenzen der einzelnen untersuchten Durchfallerreger zu erhalten.

Folgende Einflussgrößen wurden getestet: Momentane Anzahl an Durchfallkälbern, Rinderzahl insgesamt, Kälberzahl insgesamt, Tränkemethode, Haltung, Rasse und Geschlecht des Kalbes.

Im Anschluss daran wurde eine multivariate Analyse mittels der Logistischen Regression durchgeführt. In die Regressionsgleichungen gingen als abhängige Variablen dichotom die einzelnen „Erreger“ und „Durchfall“ ein. Als unabhängige Variablen wurden die in der univariaten Analyse als positiv identifizierten Einflussgrößen eingesetzt.

3.2.11 Univariate Analyse

Nachweis der 5 untersuchten Erreger und momentane Anzahl an Durchfallkälbern des betreffenden Betriebes

Der t-Test ergab keine Unterschiede in unterschiedlichen Mengen von momentanen Durchfallkälbern der Betriebe, die im Rahmen dieser Untersuchung aufgesucht wurden und den Nachweishäufigkeiten der einzelnen Erreger. Dabei wurde die Variable „momentane Durchfallkälberanzahl“ in fünf Gruppen (laut Tabelle 3.4) eingeteilt.

Nachweis der 5 untersuchten Erreger und Gesamtzahl der Rinder des betreffenden Betriebes

Anhand des t-Testes zeigte sich, dass *Campylobacter* bei Kälbern, die in einem Betrieb lebten, in dem weniger als insgesamt 132 Rinder gehalten wurden, signifikant seltener nachweisbar war als bei Kälbern aus Betrieben mit mehr als 144 Rindern ($t = -2,5$, $p = 0,01$). Die Variable Rinderzahl insgesamt wurde dazu in fünf Gruppen, siehe Tabelle 3.1, eingeteilt. Für die restlichen untersuchten Erreger spielte die Anzahl der Rinder eines Betriebes insgesamt keine Rolle.

Nachweis der 5 untersuchten Erreger und Gesamtzahl der Kälber des betreffenden Betriebes

Die Nachweise von *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Kryptosporidium parvum* oder bovinen Rotaviren waren gleich in Betrieben mit unterschiedlichen Anzahlen von Kälbern insgesamt. Für Salmonellen wurden mittels des t-Tests jedoch ermittelt, dass sie signifikant häufiger in Betrieben mit kleinen Kälberanzahlen (durchschnittlich weniger als insgesamt 22 Kälber) ausgeschieden wurden als in Betrieben mit durchschnittlich mehr als insgesamt 28 Kälbern ($t = 2,21$, $p = 0,027$). Dazu wurde die Variable ‚Kälberzahl‘ insgesamt in Gruppen, laut Tabelle 3.1, eingeteilt.

Nachweis der 5 untersuchten Erreger und Alter der Tiere

Mit dem t-Test konnte gezeigt werden, dass vermehrt von älteren Kälbern (älter als durchschnittlich 59 Tage) *Campylobacter* ausgeschieden wurde als von im Durchschnitt jüngeren Kälbern von 44 Tagen ($t = -4,0$, $p = 0,00$). *Kryptosporidium parvum* dagegen wurde vermehrt bei Kälbern jünger als 28 Tage gegenüber durchschnittlich 54 Tage ($t = 6,1$, $p = 0,00$) und

bovine Rotaviren vermehrt bei Kälbern jünger als 32 Tage gegenüber 50 Tage nachgewiesen ($t = 2,6$; $p = 0,008$).

Nachweise der 5 untersuchten Erreger und Tränkemethode

Es wurden 5 Kälbertränkemethoden unterschieden: Tränke mit der Flasche, Tränke mit dem Nuckeleimer, Tränke aus dem Eimer, Kälbertränke mit dem Tränkeautomaten und gar keine Kälbertränke mehr, d. h. diese Kälber waren abgesetzt. Mit dem Chi-Quadrat-Test wurden mögliche kategorielle Zusammenhänge zu Häufigkeiten von Erregern abgeprüft.

Der Chi-Quadrat-Test ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen Tränkemethode und *Campylobacter*-Nachweisen ($\chi^2 = 27,3$, $df = 12$, $p = 0,007$). Die Erreger wurden am häufigsten bei abgesetzten Kälbern (55,6 %) nachgewiesen.

Für den Nachweis von *Yersinia enterocolitica* und Salmonellen und den fünf unterschiedlichen Tränkemethoden konnte kein Zusammenhang gefunden werden.

Auch für den Erreger *Kryptosporidium parvum* konnte mit dem Chi-Quadrat-Test ein Zusammenhang zur Tränkemethode ermittelt werden ($\chi^2 = 23,3$, $df = 4$, $p = 0,001$). Dieser Erreger wurde mit 28,4 % am häufigsten bei Kälbern gefunden, die mit dem Nuckeleimer getränkt worden waren.

Bovine Rotaviren wurden ebenfalls bei Kälbern, die mit dem Nuckeleimer getränkt worden waren, am häufigsten nachgewiesen (16,1 %). Dieser Nachweis des Erregers wies eine signifikante Abhängigkeit zur genutzten Tränkemethode auf ($\chi^2 = 10,9$, $df = 4$, $p = 0,03$).

Nachweis der 5 Erreger und Haltung

Zum Zeitpunkt der Probennahme konnten zwei unterschiedliche Haltungsformen der Kälber unterschieden werden: die Haltung der Kälber in der Gruppe oder einzeln. Bei Kälbern, die in der Gruppe gehalten wurden, wurde signifikant häufiger *Campylobacter* ermittelt als bei Kälbern, die einzeln gehalten wurden ($\chi^2 = 10,4$, $df = 1$, $p = 0,01$). Diese signifikante Abhängigkeit wurde mit dem Chi-Quadrat-Test aufgezeigt.

Kryptosporidium parvum wurde dagegen signifikant häufiger bei Kälbern nachgewiesen, die einzeln gehalten wurden als bei Kälbern in Gruppenhaltung ($\chi^2 = 14,3$, $df = 1$, $p < 0,05$).

Auch die Nachweishäufigkeit von bovinen Rotaviren lag für einzeln gehaltene Kälber signifikant höher als bei in der Gruppe gehaltenen Kälbern ($\chi^2 = 8,9$, $df = 1$, $p = 0,002$).

Nachweis der 5 Erreger und Rasse

Es wurden 6 unterschiedliche Rassen unterschieden: Fleckvieh, Schwarzbunt, Rotbunt, Schwarzbunt-Fleckvieh-Mix und Allgäuer. Zwischen der Nachweishäufigkeit keines der fünf Erreger und der Rasse konnte anhand des Chi-Quadrat-Tests kein Zusammenhang erstellt werden. Um die zu untersuchenden Gruppen zu vergrößern, wurden nachfolgend nur 2 Rassen-Cluster gebildet: „Schwarzbunt“ und „nicht Schwarzbunt“. Nun zeigte sich im Chi-Quadrat-Test, dass bei Kälbern der Rasse Schwarzbunt signifikant seltener Rotaviren nachgewiesen werden konnten als bei allen anderen Rassen ($\chi^2 = 5,3$, $df = 1$, $p = 0,022$).

Nachweis der 5 Erreger und Geschlecht

Zwischen Geschlecht und den einzelnen Erreger-Nachweisen konnte kein signifikanter Zusammenhang mittels des Chi-Quadrat-Tests nachgewiesen werden.

3.2.12 Multivariate Analyse

In Logistischen Regressionsmodellen wurde der Einfluss auf von in der univariaten Analyse vorab abgeprüften Haltungsveränderungen und Erregernachweisen gesamt auf die Variablen „Durchfall“ und „Einzelerreger“ multivariat abgeprüft. Die stetigen Variablen „Lebensalter in Wochen“ des jeweiligen Kalbes, „Anzahl der Kälber gesamt“ des Betriebes in dem die Kälber aufgezogen wurden genauso wie die „gesamte Rinderzahl“ des jeweiligen Betriebes und die „momentane Anzahl an Kälber mit Durchfall“ gingen in die Modelle ein. Die Kategorie Betriebszugehörigkeit wurde aufgrund der Gesamtunterschiedlichkeit der 30 Betriebe nicht als sinnvoll erachtet, um in die Modelle miteinbezogen zu werden. Als kategoriale Variablen wurden folgende Variablen in die Modelle integriert: Tränkmethode, Haltung und Rasse. Die kategoriale Variable „Tränkmethode“ wurde aufgrund der fünf unterschiedlichen Kategorien in zwei verschiedene Cluster zusammengefasst. Folgende Tränkmethode wurden als „Tränkung mit Nuckel“ zusammengefasst: „Nuckeleimer“, „Flasche“ und „Automatentränkung“. Die Tränkmethode „Eimertränkung“ und „abgesetzte Tränkung“ wurden mit dem Cluster „Tränkung ohne Nuckel“ erfasst. Die kategoriale Variable „Rasse“ beschrieb zwei Cluster: „Schwarzbunte“ oder „nicht Schwarzbunte“; in letzterer Kategorie sind alle anderen Rassen zusammengefasst. Die Zielvariablen waren: *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, Salmonellen, *Kryptosporidium parvum*, Rotaviren als Einzelerreger und Durchfall.

Bei der Überprüfung der genannten Einflussfaktoren für den Nachweis von *Campylobacter* zeigte sich, dass für Kälber, wenn sie eine „Tränkung ohne Nuckel“ erfuhren, die Wahrscheinlichkeit des Nachweises 0,6-mal geringer war als für Kälber, die eine „Tränkung mit Nuckel“ erfuhren ($p = 0,033$). Im Gegensatz zu den univariaten Ergebnissen ergab sich im multivariaten Regressionsmodell zudem eine Abhängigkeit des *Campylobacter*-Nachweises von der Rasse des Kalbes ($p = 0,03$). Demzufolge war die Wahrscheinlichkeit, den Erreger auszuschleiden bei „nicht schwarzbunten“ Kälbern signifikant höher. Analog zu den Ergebnissen der univariaten Analyse besteht auch zwischen dem positiven *Campylobacter*-Nachweis und der „Rinderzahl insgesamt“ eine signifikante Abhängigkeit ($p = 0,001$). Die Haltung der Kälber übte im Gegensatz zu den Ergebnissen der univariaten Analyse multivariat dagegen keinen Einfluss mehr auf die Nachweishäufigkeit von *Campylobacter* aus. Analog zu den Ergebnissen der univariaten wurde auch in der multivariaten Analyse keine Abhängigkeit von Geschlecht, „Anzahl an momentanen Durchfallkälbern“ und „Kälberzahl insgesamt“ zu den *Campylobacter*-Nachweisen nachgewiesen.

Für den Nachweis von Salmonellen zeigte sich, dass die Einflussfaktoren „Anzahl der momentanen Durchfallkälber“ und die Rasse (Schwarzbunte) jeweils einen signifikanten Einfluss ($p = 0,037$; $p = 0,047$) ausübten. Im Gegensatz zu den in der univariaten Analyse gemachten Beobachtungen übt dagegen die „Kälberzahl insgesamt“ keinen Einfluss mehr auf die Nachweishäufigkeit von Salmonellen aus. Alter, Haltung, Geschlecht, „Rinder insgesamt“ und „Kälberzahl insgesamt“ ergaben, wie bei der univariaten Untersuchung, keinen signifikanten Einfluss auf den Salmonellen-Nachweis.

Analog zu den Ergebnissen der univariaten Analyse wurde eine signifikante Abhängigkeit des *Kryptosporidium parvum*-Nachweises vom Alter auch im multivariaten Regressionsmodell dargestellt ($p < 0,05$). Tränkemethode und die Haltung der Tiere zeigten dagegen keinen Einfluss auf die *Kryptosporidium parvum*-Nachweishäufigkeit im Gegensatz zu den Ergebnissen der univariaten Analyse. Ansonsten deckten sich die Ergebnisse der multivariaten Analyse mit denen der einzelnen univariaten Analysen.

Für den Nachweis von bovinen Rotaviren ist der Einfluss der Haltung und der Tränkemethode im multivariaten Modell nicht mehr nachweisbar. Auch die restlichen getesteten Einflussfaktoren zeigten in der multivariaten Analyse keine Signifikanz. „Kälber insgesamt“ und das Alter lagen mit p -Werten von 0,067 knapp unter der Signifikanzgrenze.

Bei der Überprüfung der genannten Einflussfaktoren und allen Erregern, außer *Yersinia enterocolitica*, deren Miteinbeziehung aufgrund deren geringen Nachweisraten keinen Sinn mach-

te, auf die Zielvariable „Durchfall“, zeigte sich ein signifikanter Einfluss der Variable „Anzahl der momentanen Durchfallkälber“ ($p < 0,05$).

Die Wahrscheinlichkeit von Durchfall liegt bei „schwarzbunten“ Kälbern 2,4-mal höher als bei den Kälbern anderer Rassen ($p = 0,01$). Die Wahrscheinlichkeit von Durchfall ist bei Kälbern unter 4 Wochen zudem 3,7-mal höher als bei älteren Kälbern ($p = 0,001$).

Bovine Rotaviren wiesen einen sehr gering-signifikanten Einfluss aus, ob ein Kalb an Durchfall erkrankte oder nicht ($p = 0,067$), analog zu den Beobachtungen der univariaten Analyse.

Ein Einfluss der Tränkeform, der Haltung, der Zahl der Rinder insgesamt, der Anzahl der Kälber oder der Erreger *Campylobacter*, *Salmonellen* und auch *Kryptosporidium parvum* ließ sich in der multivariaten Analyse nicht nachweisen. Hingegen konnten bivariate Zusammenhänge zwischen Durchfall und dem Nachweis von bovinen Rotaviren aufgezeigt werden ($\chi^2 = 7,76$, $df = 1$, $p = 0,005$). Demzufolge wurden bei Kälbern, bei denen Durchfall diagnostiziert wurde, signifikant häufiger bovine Rotaviren nachgewiesen; bei Kälbern, bei denen ein positiver *Salmonellen*-Nachweis vorlag, wurden signifikant häufiger bovine Rotaviren nachgewiesen ($\chi^2 = 4,69$, $df = 1$, $p = 0,030$).