

4 Besprechung der Ergebnisse

In dieser vorliegenden Querschnittsstudie wurden erstmals Daten über die Ausscheidung von *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*, Salmonellen, *Kryptosporidium parvum* und bovinem Rotavirus einzeln oder in Kombinationen bei Kälbern in Milchviehbetrieben im nördlichen Baden-Württemberg gewonnen.

Im Vordergrund der epidemiologischen Untersuchung stand dabei die Analyse von Zusammenhängen zwischen der Ausscheidung der Erreger und dem klinischen Bild des Durchfalls in Abhängigkeit vom Lebensalter der Kälber. Die Bedeutung der Erreger *Campylobacter* (*C.*) spp., *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*), Salmonellen und *Kryptosporidium parvum* (*C. parvum*) als wichtigste Zoonoseerreger mit z. T. schweren Erkrankungen beim Menschen bis hin zum Guillain-Barré-Syndrom oder dem Reiterschen Syndrom im Anschluss an eine *Campylobacter*- oder Yersinien-Infektion ist hinlänglich bekannt. Die Rolle der vier Zoonoseerreger und des bovinen Rotavirus im Rahmen der auch wirtschaftlich bedeutenden Durchfallerkrankungen beim Kalb wird bislang jedoch nur teilweise verstanden. Ein wesentlicher Grund hierfür ist, dass keine epidemiologischen Studien zur Feststellung der Prävalenzen von *Campylobacter* spp., *Y. enterocolitica*, Salmonellen, bovinem Rotavirus sowie von *C. parvum* und möglichen Einflussfaktoren auf die Prävalenzen in Milchviehherden und deren Kälber im Probeneinzugsgebiet des Chemischen- und Veterinäruntersuchungsamtes Stuttgart existieren. Durchfallerreger wie *E. coli* und Coronaviren wurden in den hier vorliegenden Untersuchungen nicht berücksichtigt. Sobjinski (1998) berichtet bereits von Prävalenzen darmpathogener *E. coli*-Keime bei Kälbern aus Milchviehbeständen und im Hinblick auf Coronaviren ist es bis dato noch nicht gelungen, eine Kreuzreaktion zwischen dem bovinen und dem humanen Stamm zu belegen, so dass man nicht davon ausgehen kann, dass Coronaviren über ein deutliches zoonotisches Potential verfügen, das eine Gefahr für den Menschen darstellt.

Im Folgenden werden die Ergebnisse im Hinblick auf die in der Einleitung aufgestellten Hypothesen diskutiert.

Wie ist die aktuelle epidemiologische Situation der einzelnen Durchfallerreger beim Kalb?

Um eine Datenbasis zur Beantwortung dieser Frage zu erhalten, wurden zunächst die Prävalenzen der untersuchten Erreger bei unterschiedlich alten Kälbern bestimmt. Im Gegensatz zu den meisten epidemiologischen Untersuchungen, die lediglich 1 - 4 Wochen alte Kälber berücksichtigen, wurden in die vorliegende Studie Kälber mit einem Lebensalter von 1 bis 21 Wochen einbezogen. Zwar tritt Kälberdurchfall vorwiegend in den ersten vier Lebenswochen auf, aber auch Absatzkälber weisen hohe Erreger-Ausscheidungsraten auf, selbst wenn sie keine Durchfallerkrankungen zeigen. So wurden in dieser Studie auch bei Absatzkälbern hohe Ausscheidungsraten ermittelt, die für *Campylobacter* spp. 29,6 % betrug (Gesamtprävalenz). Dies deckt sich in etwa mit Ergebnissen von anderen Untersuchern (Weber et al., 1984, 1985; Giacoboni et al., 1993; Busato et al., 1999). Bei den Muttertieren wurde eine Prävalenz von 14,0 % ermittelt. Im Vergleich zu Untersuchungen von Wesley et al. (2000) liegt dieser Wert weit unter dem von diesen Autoren ermittelten Wert. Eine mögliche Erklärung hierfür liegt in der unterschiedlichen Untersuchungsmethode. Während Wesley et al. (2000) die Kotproben mittels PCR untersuchten, wurde in der vorliegenden Arbeit eine kulturelle Untersuchungsmethode gewählt, die sich auch in der Routineuntersuchung von Tierkotproben ohne größeren Aufwand anwenden lässt. Die vorliegenden Ergebnisse belegen, dass der Erreger *Campylobacter* spp. in der untersuchten Population weit verbreitet ist. Nur in 8 von 30 Betrieben konnten keine *Campylobacter* spp. isoliert werden. Auffällig ist hierbei, dass sich die Bestandsprävalenzen zwischen 0 % und 80 % bewegen. Auch Atabay und Corry (1998) berichten Prävalenzen von 38 % bis 79 %.

Die Prävalenz von *Campylobacter coli* ist mit 0,9 % im Vergleich zu Literaturangaben von 4 %, bzw. 1,8 % (Busato et al., 1998; Wesley et al., 2000) niedriger. Im Gegensatz zu anderen Autoren (Munroe, 1983; Busato et al., 1998) gelang es im Falle von *Campylobacter coli* nicht, einen Zusammenhang mit der Haltung von Schweinen aufzudecken, während *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* signifikant häufiger bei Tieren isoliert werden konnte, die in einem Betrieb lebten, in dem neben Rindern auch Hühner gehalten wurden.

Y. enterocolitica wurde 3-mal aus 425 Kälberkotproben isoliert, was einer Prävalenz von 0,7 % entspricht. Dieser relativ niedrige Wert bei Kälbern untermauert das Ergebnis von Busato et al. (1999), denen es bei nur 1,7 % von 400 untersuchten Kälbern gelang, *Yersinia* spp. in Kotproben nachzuweisen. Auch andere Autoren kommen im Ausland (Schweiz) zu vergleichbaren Ergebnissen (Slee et al., 1988; Steiner et al., 1997), während Untersuchungen in

Italien (Fantasia et al., 1993) mit 57,8 % eine hohe Prävalenz von *Y. enterocolitica* in Rinderbeständen ergaben. Dieses Resultat spricht für eine vorhandene, allerdings niedrige Prävalenz von *Y. enterocolitica* bei Kälbern in Milchviehbetrieben im nördlichen Baden-Württemberg. Es ist zudem auffällig, dass in der vorliegenden Untersuchung *Y. enterocolitica* bei Kälbern nur in 2 Betrieben isoliert werden konnte. Diese Tatsache, dass dieser Erreger ausschließlich in 2 Betrieben isoliert werden konnte unterstützt die These, die Aleksic und Bockemühl schon 1990 aufstellten, wonach durch den engen Kontakt in der heutigen Nutztierhaltung in einzelnen Betrieben die Übertragung auf andere, noch nicht infizierte Kälber durch erregerhaltigen Kot und das damit meist verschmutzte Umfeld der Kälber gefördert wird. Auch die Isolierungen von *Y. enterocolitica* aus Kotproben von Kühen zeigen eine deutliche Häufung in 3 Betrieben mit Bestandsprävalenzen von 18,2 % bis zu 50 %. Die Gesamtprävalenz von *Y. enterocolitica* aus 401 Kotproben von Kühen beträgt 4 % und veranschaulicht somit die Rolle der Kühe als Träger und Verbreiter dieses Erregers in Milchviehbeständen. Trotz der geringen Prävalenz machen diese Resultate nochmals deutlich, dass auch Milchviehbestände im nördlichen Baden-Württemberg diesen Erreger beherbergen und somit die von diesen Tieren stammenden Nahrungsmittel kontaminiert werden können (Busato et al., 1999).

Salmonellen konnten im Rahmen der hier vorliegenden Untersuchung mit einer Prävalenz von 4,7 % von insgesamt 425 untersuchten Kälbern isoliert werden. Der Nachweis von Salmonellen bei Kälbern ist streng betriebsabhängig. Es gibt also nicht einzelne salmonelleninfizierte Kälber in unterschiedlichen Betrieben, sondern es sind stets mehrere Tiere in einem Bestand infiziert. Der Erreger ist in einem solchen Bestand also endemisch. Ebenso verhält es sich mit den von Kühen stammenden Salmonellen-Isolaten, die von 5 der insgesamt 401 untersuchten Kühe stammten, was einer Prävalenz von 1,2 % entspricht. Es ist zu beachten, dass dieser Erreger nur in einem Betrieb aus Kotproben von Kühen isoliert werden konnte, während der Erregernachweis, begründet durch die räumliche Trennung von Kälbern und Kühen, in zwei weiteren Betrieben ausschließlich nur bei den Kälbern gelang. Beachtenswert ist des Weiteren, dass der Betrieb 17, in welchem sowohl aus Kälberkotproben als auch aus Kuhkot Salmonellen isoliert werden konnten, einen eigenen Brunnen besitzt. Dieser Brunnen wurde im Jahre 2000 durch massive Regenfälle überflutet. Zum Zeitpunkt der Probennahme im Betrieb 17 waren in dem Brunnenwasser keine Salmonellen nachweisbar, allerdings berichteten weitere Autoren (Sinell und Kleer, 1995) von der Verbreitung von Salmonellen durch Oberflächenwasser. Die ubiquitär vorkommenden Salmonellen können so in das Trinkwasser gelangen. Die Ergebnisse der hier vorliegenden Untersuchung zeigen, dass innerhalb eines Be-

standes Tiere nicht mit einer Vielzahl unterschiedlicher Salmonellen-Serovare infiziert sind. In der hier vorliegenden Untersuchung wurden in zwei Betrieben *S. Thyphimurium* und in einem weiteren Bestand *S. Coeln* isoliert. Es wurden allerdings keine klonalen Untersuchungen zur weiteren Differenzierung der einzelnen Klone durchgeführt. Dank der strikten gesetzlichen Bekämpfung der Rindersalmonellose in Deutschland, mit strengen Auflagen der Sperrung betroffener Betriebe und Betriebssanierungen, wird eine weitere Verbreitung in andere Rinderherden unterbunden.

Das Vorkommen von *C. parvum* wurde nur bei Kälbern untersucht, da grobfasriger Kuhkot anhand des verwendeten ELISA nicht untersucht werden kann. Es wurde eine Prävalenz von 19,3 % ermittelt, bei einer durchschnittlichen Betriebsprävalenz von 18,6 %. In vergleichbar angelegten Studien, allerdings mit anderen Altersverteilungen (1 - 8 Wochen) der beprobten Kälber, wurden in den USA (Ontario) bei 63 % der Kälber in 26 unterschiedlichen Herden (Sanford und Josephon, 1982) bzw. bei Bullenkälbern in 124 Herden (Manitoba) bei 18 % der Tiere Kryptosporidien nachgewiesen (Mann et al., 1986). Dieses Ergebnis deckt sich mit den hier vorliegenden Untersuchungen. Deutlich höhere Werte von 39,1 % erzielten Huetink et al. (2001) bei 1 - 3 Wochen alten Kälbern in den Niederlanden. Da Kryptosporidien intermittierend ausgeschieden werden (O'Handley et al., 1999), ist die ermittelte Prävalenz des Erregers in einer Querschnittsstudie, in der eine Population nur einmalig untersucht wird, schwer zu vergleichen mit den meist vorliegenden Longitudinalstudien, mit Hilfe derer meist eine Nachweisrate von 100 % ermittelt werden konnte (O'Handley et al., 1999; Naciri et al., 1999). Dem entgegen wurde von Adesiyun et al. (2001) in Trinidad eine Prävalenz von unter 7 % von 59 Tieren ermittelt. Natürlich muss bei einem solchen Prävalenzvergleich berücksichtigt werden, dass sich die angewandten Methoden sowohl hinsichtlich Sensitivität als auch Spezifität unterscheiden. In der hier vorliegenden Untersuchung wurden parallel zwei unterschiedliche Nachweisverfahren angewandt: 1. ELISA-Untersuchung und 2. Native Mikroskop-Untersuchung des Kälberkotes wie auch Naciri et al. (1999) sie benutzte. Des Weiteren setzten auch diese Untersucher eine zusätzliche Nachweismethode ein, die auch von O'Handley et al. (1999) angewendet wurde. Sie setzt sich zusammen aus einer Voranreicherung in einer Zuckerlösung, Waschen mit PBS-Lösung, Zentrifugation und abschließender Untersuchung unter dem Mikroskop. Während Naciri et al. (1999) mit einem Durchsichtmikroskop arbeiteten, benutzten O'Handley et al. (1999) zur abschließenden Untersuchung ein Epifluoreszenz-Mikroskop. Ähnlich wie auch Naciri et al. (1999) wurden im Rahmen der hier vorliegenden Untersuchung parallel zwei Untersuchungsmethoden angewendet. Es stellte sich

hierbei heraus, dass sich die native und die ELISA-Methode gut ergänzen, so dass eine möglichst hohe Sensitivität zu erzielen war. Zur Durchführung beider Methoden wurden jeweils nur kleine Kotmengen verwendet. Die Anwendung ist leicht erlernbar und gut anwendbar in der Routineuntersuchung von Kälberkotproben. Um die Gefahr falsch-negativer Ergebnisse aufgrund der kleinen Probenmenge zu minimieren, wurden beide Methoden parallel angewendet. So konnten auch Untersuchungsergebnisse, die durch subjektiv beeinflusste Beurteilungen mittels Mikroskopie erzielt wurden, durch Anwendung der leicht reproduzierbaren ELISA-Methode überprüft werden. Allerdings lassen sich deutliche Prävalenzunterschiede nicht ausschließlich durch unterschiedliche Nachweismethoden erklären. Die hier erzielte niedrige Ausscheidungsrate von *C. parvum* kann das Ergebnis mehrerer Gründe sein wie z.B. einer geringeren Besatzdichte (Garber et al., 1994), ganzjähriger Abkalbungen (Atwill et al., 1999) oder sehr gute Reinigung und nicht zu früher Wiederbelegung der Kälberboxen (Aurich et al., 1990).

Die Prävalenz von Rotaviren in Höhe von 7,5 % in einer Gesamtpopulation von Kälbern ist im Vergleich zu anderen Autoren (Reynolds et al., 1985; Barrandeguy et al., 1988; Adesiyun et al., 2001) als niedrig zu bewerten. Eine mögliche Erklärung stellt die in Süddeutschland inzwischen häufig praktizierte Impfprophylaxe gegen bovine Rotaviruserkrankungen dar. So ist auch die starke Variation der einzelnen Betriebsprävalenzen erklärbar. In 15 Betrieben wurden keine Rotaviren festgestellt, während in den restlichen 15 Betrieben die Betriebsprävalenzen zwischen 4,0 % und 35,7 % lagen.

Bestehen Zusammenhänge zwischen dem Lebensalter der Kälber, den ermittelten Erregern und einer Durchfallerkrankung?

Die Prävalenzen von *Campylobacter* spp. in den unterschiedlichen Altersgruppen der Kälber variieren stark. In der ersten Lebenswoche lag die Nachweisrate bei nur 12,2 %, stieg dann aber bis zu einem Maximalwert von 61,5 % in der 15. Lebenswoche an. Die Prävalenz von 100 % bei 19 Wochen alten Kälbern ist aufgrund der sehr kleinen Zahl (1 Probe) in dieser Altersgruppe nicht als repräsentativ anzusehen und wird im Folgenden nicht beachtet. Aufgrund der Ergebnisse der hier vorliegenden Untersuchungen kann man ableiten, dass Kälber mit einem Lebensalter zwischen einer und drei Wochen seltener mit *Campylobacter* spp. infiziert sind als Kälber im Lebensabschnitt der 12. - 15. Woche, in denen Nachweisraten ihren Höhepunkt erreichten. *Campylobacter*-Infektionen traten somit nicht in den Altersgruppen von 1 - 4 Wochen überwiegend auf, in denen das klinische Bild einer Diarrhoe vermehrt auf-

tratt. So gelang es auch anderen Autoren (Weber et al., 1985; Snodgrass et al., 1986; Busato et al., 1998) nicht, einen signifikanten Zusammenhang zwischen Durchfallerkrankung und dem Nachweis von *Campylobacter* spp. herzustellen. Auch Adesiyum et al. (2001) und Busato et al. (1998) sehen *Campylobacter* spp. nicht als Primärursache von Durchfallerkrankungen bei Kälbern an, weisen aber darauf hin, dass dieser Erreger eine Erkrankung komplizieren oder additiv auf eine solche einwirken kann, wenn das Tier über eine nur unzureichende Immunität aufgrund mangelhafter Kolostrumaufnahme verfügt.

Auch *Y. enterocolitica* ist wahrscheinlich nicht am Krankheitskomplex Kälberdurchfall beteiligt. Dieser Erreger wurde aus 3 Kälberkotproben nicht an Durchfall erkrankter Tiere isoliert. Die betroffenen Kälber waren älter als einen Monat und zählten somit auch nicht zu der durchfallgefährdeten Altersgruppe (Kasari, 1999; Heckert, 2002; Rademacher et al., 2002).

Auch kein signifikanter Zusammenhang besteht zwischen Salmonellen-Isolierungen und Kälberdurchfall. Allerdings ist es auffallend, dass besonders die neugeborenen Kälber (< 1 Woche) mit einer hohen Prävalenz von 14,6 % Salmonellen ausschieden. In dieser Lebensphase sind Kälber besonderem Stress ausgesetzt. Aber auch andere mit Stress verbundene Lebensabschnitte eines Kalbes wie z. B. das Absetzen der flüssigen Zufütterung und die damit verbundene Umstallung im Alter von zirka 12 Wochen sind mit einem 16,7 % deutlich erhöhten Prävalenzwert für Salmonellen verbunden.

Auch zwischen dem Nachweis von *C. parvum* und dem Auftreten von Durchfall konnte kein signifikanter Nachweis aufgezeigt werden. Ebenso gelang es Huetink et al. (2001) nicht, bei 66 Kälbern einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Ausscheiden von *C. parvum* und einer Durchfallerkrankung zu belegen. Der Erreger und das Auftreten von Durchfall wurden am häufigsten bei Kälbern in den ersten vier Lebenswochen festgestellt. Ebenfalls wurden bei 2 Wochen alten Kälbern am häufigsten (55,3 %) Kryptosporidien nachgewiesen, ebenso wie am häufigsten Durchfall (26,8 %) bei Kälbern dieser Altersstufe. Dies deckt sich mit Ergebnissen von anderen Autoren (Huetink et al., 2001; O'Handley et al., 1999; Quilez et al., 1996; Garber et al., 1994; Anderson, 1981). So gelang es Anderson (1981) und auch Faubert und Litvinsky (2000), vergleichbar der hier vorliegenden Studie, bei Tieren, die älter als 4 Wochen waren und keinen Durchfall zeigten, Kryptosporidien nachzuweisen. Aufgrund dieses Phänomens, dass Kälber, jünger als 4 Wochen und durchfallkrank vermehrt *C. parvum* ausscheiden, während Kälber, die älter als 4 Wochen sind einerseits auch den Erreger ausscheiden, aber andererseits meist keinen Durchfall zeigen und einer intermittierenden Erre-

gerausscheidung, lässt sich erklären, weshalb es nicht gelang, zwischen Durchfall und dem Nachweis von Kryptosporidien einen signifikanten Zusammenhang herzustellen.

Zwischen dem Nachweis von bovinem Rotavirus und dem gleichzeitigen Auftreten von Durchfall konnte allerdings als einzigem unter den untersuchten Erregern ein signifikanter Zusammenhang ($p = 0,005$) festgestellt werden. Das bestätigt die Ergebnisse von De Rycke et al. (1986), McNulty und Logan (1983) und Busato et al. (1998), die dem Erreger Rotavirus die Hauptrolle im Zustandekommen von Kälberdurchfällen einräumen. Allerdings beschreiben sowohl Busato et al. (1998) als auch McNulty und Logan (1983) die Ausscheidung des Erregers auch bei Tieren, die z. T. klinisch unauffällig bzw. älter als 2 Wochen waren. Dieselben Beobachtungen konnten auch im Rahmen dieser Untersuchung gemacht werden. Diese stellen eine Erklärung für das häufige und persistierende Vorhandensein von Rotaviren in Rinderpopulationen und der daraus oft resultierenden Kälberdurchfallproblematik vieler Betriebe dar.

Existieren Parameter bei der Aufzucht von Kälbern, die das Vorkommen und die Nachweishäufigkeit der fünf Erreger bestimmen?

In den hier vorliegenden Untersuchungen wurden nicht nur Aufzuchtparameter zu den fünf untersuchten Erregern in Beziehung gesetzt, sondern auch weitere betriebsspezifische Einflussgrößen wie Rinderzahl der beprobten Betriebe insgesamt oder Kälberzahl insgesamt des Betriebes, aus denen die beprobten Kälber stammen. Es stellte sich heraus, dass es nicht immer möglich war, Zusammenhänge, die sich in der univariaten Analyse als signifikant darstellten, auch in der multivariaten Regressionsuntersuchung zu bestätigen. So ist es auffallend, dass die Haltung der Kälber, einzeln oder in der Gruppe gehalten, einen signifikanten Zusammenhang zu den Nachweisraten der einzelnen Erreger in der univariaten Untersuchung aufwies, der in der multivariaten Untersuchung nicht auftrat. Leider ist es unmöglich, aufgrund der Konzeption der Studie als Querschnittsuntersuchung Aussagen über zeitliche Zusammenhänge bzw. Abhängigkeiten zu machen. Es stellt sich die Frage, ob durchfallkranke Kälber nun aufgrund ihrer Erkrankung einzeln gehalten werden, oder ob sich der Durchfall erst im Anschluss oder gar als Folge der Einzelhaltung des Kalbes einstellte. Das logistische Regressionsmodell trägt dieser Tatsache Rechnung, indem solche zeitlichen Einflussfaktoren in der Summe aller Einflussgrößen ihr signifikantes Gewicht verlieren, wie das z. B. bezüglich Haltung und Tränkemethode geschieht.

Im Hinblick auf mögliche Abhängigkeiten des Lebensalters der beprobten Kälber auf deren Ausscheidung von Erregern, insbesondere von *C. parvum* und bovinem Rotavirus, ist es in dieser Untersuchung geglückt, wie es auch bereits anderen Autoren gelungen war, signifikante Zusammenhänge darzustellen (McNulty und Logan, 1983; Atwill et al., 1999; Naciri et al., 1999). Die hier vorliegenden Untersuchungen kommen zu dem Ergebnis, dass vermehrt Kälber, die älter als 59 Tage sind, *Campylobacter* spp. ausscheiden. Folglich ist es leicht nachvollziehbar, dass die univariate Untersuchung hinsichtlich der Tränkemethode (abgesetzt) und der Gruppenhaltung bezüglich der Ausscheidungsrate von *Campylobacter* spp. zu signifikanten Ergebnissen kommt. Dies verdeutlicht, dass *Campylobacter* spp. keine herausragende Bedeutung im Komplex der Kälberdurchfallerkrankung hat, da diese Erkrankung nur in den ersten 4 Lebenswochen der Kälber von Bedeutung ist. Vergleichbare Ergebnisse die darauf hinweisen, dass dieser Erreger überwiegend zur „normalen“ Magen-Darm-Flora von Kälbern gehört, auch wenn er Kälbererkrankungen verkomplizieren kann, erzielten auch andere Autoren (Wesley et al., 2000). Folglich wird dieser Erreger auch nur selten gezielt bekämpft und es ist somit auch nicht verwunderlich, dass sich der Erreger besonders nachhaltig in großen Rinderbeständen etabliert. Allerdings gelang es in der hier vorliegenden Untersuchung zwischen *Campylobacter* spp. und der Einflussgröße „Rinderzahl insgesamt“ der untersuchten Betriebe, einen signifikanten Zusammenhang zu belegen. Dieser zeigt sich darin, dass Kälber aus großen Rinderbeständen (> 144 Tiere) vermehrt *Campylobacter* spp. ausschieden. Busato et al. (1999) berichteten von genau einer umgekehrten Abhängigkeit, die auf eine vermehrte Erregerausscheidung bei Kälbern aus kleineren Beständen hinweist, als bei Kälbern aus großen Betrieben. Eine mögliche Erklärung könnte darin liegen, dass Busato et al. (1999) ausschließlich Mutterkuhhaltungsbetriebe in ihren Untersuchungen betrachteten und keine konventionellen Milchbetriebe. Es ist auffallend, dass dieser Zusammenhang bezüglich der restlichen Erreger weder in der hier vorliegenden Untersuchung noch in der von Busato et al. (1999) erbracht werden konnte. In der hier vorliegenden Untersuchung wurde auch eine signifikante Bedeutung der Rasse der Kälber für die Ausscheidung von Rotavirus bewiesen. Kälber der Rasse Schwarzbunte schieden seltener Rotaviren aus als Kälber anderer Rassen. Allerdings konnte im Rahmen der univariaten Analyse gezeigt werden, dass gerade schwarzbunte Kälber am häufigsten an Durchfall erkrankt waren. Die multivariate Analyse hingegen macht deutlich, dass eine Durchfallerkrankung in erster Linie vom Alter der Kälber und der „momentanen Anzahl der Durchfallkälber“ des Betriebes abhängig ist, nicht von der Rasse eines Durchfallkalbes. Nur im Falle des Erregers Rotavirus war es möglich, einen signifikanten

ten Zusammenhang mit Durchfall abzuleiten. Dieser Zusammenhang ist auch schon von weiteren Autoren beschrieben worden (Kodituwakku und Harbour, 1990; Liebermann, 1992). Bemerkenswert ist, dass es im Rahmen der hier vorliegenden Untersuchung, wie auch De Rycke et al. (1986) nicht gelang, zwischen den anderen vier Erregern und Durchfall einen Zusammenhang herstellen zu können. Diese Tatsache untermauert jedoch auch die Ergebnisse von anderen Autoren (Weber et al., 1984; Kaske, 1993), die darauf hinweisen, dass gerade Kälberdurchfall eine sehr komplexe, multikausale Erkrankung darstellt, die nur in den seltensten Fällen durch nur ein nachgewiesenes infektiöses Agens zu Stande kommt.

Besteht eine hohe Wahrscheinlichkeit einer horizontalen Übertragung von *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica* und Salmonellen?

Aufgrund der geringen Fallzahlen war es nicht möglich einen Chi-Quadrat-Test bezüglich des Nachweises des Erregers *Y. enterocolitica* bei Kälbern und deren Muttertieren zu machen, d.h. es konnte keine statistisch relevante Aussage dazu gemacht werden. Bisherige Untersuchungen, die entweder nur bei Kälbern oder Kühen durchgeführt worden sind, konnten *Y. enterocolitica* in noch geringerer Anzahl oder gar nicht nachweisen (Myers et al., 1984; De Rycke et al., 1986; Fantasia et al., 1993; Busato et al., 1998, 1999; Adesiyun et al., 2001). Allerdings sind für eine abschließende Klärung dieser Frage weitere Untersuchungen notwendig, die eine weitere Charakterisierung der isolierten *Y. enterocolitica*-Stämme, wie auch weiterführende Untersuchungen an größeren Rinderpopulationen und deren Umgebung mit einbeziehen. Anhand solcher Untersuchungen wäre es möglich zu klären, ob es einen weiteren denkbaren Eintrag von *Y. enterocolitica* wie auch *Campylobacter* spp. in die Kälberpopulation gibt, wie z.B. durch Wasser (Keet, 1974; Tauxe, 1992; Stanley et al., 1998) oder kleine Säugetiere, wie Mäuse oder Ratten (Hayashidani et al., 1995). Ähnlich verhält es sich in Bezug auf *Campylobacter* spp.. Obwohl es in den hier vorliegenden Untersuchungen nicht gelang, einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem gleichzeitigen Nachweis des Erregers *Campylobacter* spp. bei Kälbern und deren Muttertieren darzustellen.

In Bezug auf Salmonellen als Erreger gestaltet sich die Beantwortung der oben gestellten Frage als noch komplexer. Horizontal übertragene Salmonelleninfektionen erfolgen während der Geburt (Dedié et al., 1993) oder, wie am Beispiel von *S. Dublin*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* und *S. Muenster* beschrieben (Smith et al., 1989; Smith und Dilling, 1993), über kontaminierte Milch. In den hier vorliegenden Untersuchungen gelang in einem Bestand der Nachweis von Salmonellen sowohl bei vier Muttertieren als auch deren Kälber, was sich als hoch-

signifikanter Zusammenhang erwies. In den anderen zwei Betrieben, in denen der Erreger nachgewiesen werden konnte, gelang dies ausschließlich aus Kälberkot, während der Salmonellen-Nachweis bei sämtlichen untersuchten Kühen dieser Betriebe negativ ausfiel. Da es sich nur um vier positive Paare, vier Kälber und deren Muttertiere handelte, sind weitere epidemiologische Studien nötig, um dieses Untersuchungsergebnis anhand einer größeren Population Salmonellen-positiver Tiere repräsentativ bestätigen und eine horizontale Übertragung von Salmonellen von Kühen auf deren Kälber beweisen zu können.

Im Falle von *C. parvum* und Rotaviren wurde die horizontale Übertragung von Mutterkühen auf deren Kälber nicht eingehend betrachtet, da der Sachverhalt hier bereits hinlänglich dargestellt worden ist (Kodituwakku und Harbour, 1990; Flaubert und Litvinsky, 2000; Huetink et al., 2001) mit dem Ergebnis, dass der Erreger bei der Geburt von der Kuh auf das neugeborene Kalb übertragen wird.

Lassen sich aus der Umgebung der Aufzucht-kälber *Campylobacter*-, *Yersinia*- und *Salmonella*-Erreger nachweisen?

Zur Entnahme der Umgebungsproben wurden Stellen ausgewählt, mit denen die Kälber intensiv in Kontakt kommen. Hierzu gehören der Boden und die Wände der Standorte der Kälber, der Automatennuckel und dessen Umgebung, der Nuckel des Tränkegeschirres und umliegende Bodenflächen sowie Futtertroglflächen und Wassertränken. Trotz der zahlreichen Probenentnahmeorte und stets durchgeführter Anreicherung gelang es in keinem Fall die o. g. Erreger zu isolieren. Es ist allerdings unwahrscheinlich, dass in der Umgebung von Erregerausscheidenden Kälbern diese o. g. Keime nicht vorhanden sind. Obwohl Salmonellen in Rinderdung bis zu 204 Tage überleben können (Plym et al., 1993), sind Studien bekannt, die es dem Keim ermöglichen, bei ungünstigen Bedingungen in sogenannte VBCC- (viable but not culturable) Formen überzugehen, die ein im Labor nicht anzüchtbares Dauerstadium darstellen (Roszek et al., 1984; Mc Kay, 1992). Auch *Campylobacter*- und *Yersinia*-Keime wurden schon häufig in Wasser nachgewiesen, deren Kontamination durch Tierkot bzw. Kot einer Milchviehherde als gesichert anzusehen ist (Tauxe, 1992; Hayashidani et al., 1995; Othomo, 1995; Stanley et al., 1998). Es liegen allerdings keine Zahlen zur jeweils isolierten Erregermenge vor. Leider macht auch Ruckaberle (2001) dazu keine Angaben. Ihr gelang es, in Putenmastbetrieben an vergleichbaren Stellen (Wasserschalen, Bodenflächen, Trenngitter, Futterschalen, etc.) und insbesondere in trockenen Proben wie Staub sowohl *Campylobacter* spp. als auch Salmonellen unter Anwendung der gleichen Methode wie in der hier vorliegenden

Untersuchung nachzuweisen. Folglich kann man davon ausgehen, dass diese Methode grundsätzlich geeignet ist, *Campylobacter*- und Salmonellenkeime der o. g. Erreger nur in kleinen Mengen in der Umgebung der Kälber nachzuweisen. Es ist anzunehmen, dass die o. g. Erreger in nur kleinen Mengen in der Umgebung der Kälber vorhanden sind, so dass die Sensitivität der in dieser Untersuchung angewandten Methode nicht ausreicht, um sie in dieser geringen Zahl zu kultivieren und so zu isolieren. Außerdem ist bekannt, dass *Campylobacter* spp. sehr empfindlich gegen Austrocknung (Luchtefels et al., 1981; Doyle und Roman, 1982) ist, und dass sie auf unregelmäßigen Oberflächen wie Holz oder Staub nur einen Tag überleben (Glünder, 2000).

Außerdem ist zu berücksichtigen, dass die Konzentrationen der Erreger *Campylobacter* spp. und Salmonellen in der hier vorliegenden Untersuchung und in der von Ruckaberle bei Puten durchgeführten Studie (2001) stark differieren, da Mastputen selbst und somit deren Umgebung sowohl mit *Campylobacter* spp. als auch mit Salmonellen stark belastet sind (Schroth, 1990; Irwan et al., 1994). Man kann abschließend festhalten, dass die Erreger *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica* und Salmonellen anhand der in der hier vorliegenden Studie angewandten Methoden aus Umgebungsproben der Kälber nicht nachgewiesen werden konnten, was sich allerdings vermutlich auch auf die vergleichbar geringe Sensitivität der benutzten Methoden zurückführen lässt. Aus diesem Grunde sind weitere Untersuchungen mit Nachweismethoden, sowohl klassischen Anzuchtmethoden, als auch noch nachweislich sensibleren molekularen Methoden wie z.B. der PCR notwendig, um auch in den Umgebungsproben von Rinderbeständen die o. g. Erreger mit einer höheren Wahrscheinlichkeit nachweisen zu können. Eine Kombination beider diagnostischer Methoden, sowohl der klassischen als auch der molekularen Methode, mit deren Hilfe schwer oder gar nicht kultivierbare Erreger diagnostiziert werden können und sogar ganze Mikroorganismengemeinschaften ohne eine kulturelle Bevorzugung gut wachsender Keime charakterisiert werden können, beinhaltet eine sehr sensitive, qualitative Nachweismethode und ermöglicht, auch teilweise quantitative Erkenntnisse erheben zu können.

Gesamtschlussfolgerung für Tier und Mensch im Hinblick auf mögliche Gesundheitsgefährdungen durch die o. g. Erreger

Im Rahmen der hier vorliegenden Untersuchungen wurden ausschließlich Methoden zum Nachweis von gastrointestinalen Pathogenen bei Kälbern verwendet, die auch im diagnostischen Labor recht einfach und schnell angewendet werden können oder bereits werden. Außerdem ist es anhand der einmaligen Kotprobenentnahme pro Tier leider nur sehr bedingt möglich, Aussagen über kausale Zusammenhänge zwischen der Infektion mit einem der jeweiligen Erreger und einer Durchfallerkrankung zu machen.

Die hier vorliegenden Untersuchungen machen deutlich, dass infektiöse Ursachen zusammen mit nichtinfektiösen Einflussfaktoren ein bedeutendes Gewicht beim Zustandekommen von Durchfall haben. Neben dem bovinen Rotavirus stellen auch Salmonellen Erreger dar, die eine wichtige Rolle im Komplex des Kälberdurchfalles spielen. Wie es auch anderen Autoren gelungen ist, konnten diese Erreger in der hier durchgeführten Studie signifikant mit Kälberdurchfall assoziiert werden (McNulty und Logan, 1983; De Rycke et al., 1986; Busato et al., 1998; Selbitz, 1995). Obwohl es nicht gelang, einen solchen signifikanten Zusammenhang mit den Erregern *Campylobacter* spp., *Y. enterocolitica* und *C. parvum* zu erbringen, wurde doch deutlich, dass diese Erreger, insbesondere *Campylobacter* spp. und *C. parvum*, nicht nur ein Problem während der klassischen Kälberdurchfallperiode darstellen, sondern dass diese Erreger auch von älteren, teils nicht an Durchfall erkrankten Tieren ausgeschieden werden. So werden diese Erreger unweigerlich in der Kälberpopulation verbreitet. In Anbetracht der generell hohen Prävalenzen von *Campylobacter* spp, *C. parvum*, Salmonellen und auch bovinem Rotavirus scheinen Kälber insgesamt ein Reservoir für potentiell zoonotische Erreger zu sein. Bezüglich *Campylobacter* spp. ist die potentielle Gefahr, die von Kälber- bzw. Rinderhaltungen im Hinblick auf mögliche Humaninfektionen ausgehen, als gesichert anzusehen. In epidemiologischen Statistiken nehmen gerade die *Campylobacter*-Humaninfektionen zu (Robert-Koch-Institut, 2004). Wirksame Präventivstrategien wurden trotz der hinreichend bekannten Erkrankungen wie Guillain-Barré-Syndrom, reaktiver Arthritis oder Reitersches Syndrom bisher noch nicht entwickelt, bzw. stecken noch in den „Kinderschuhen“ (Wells et al., 1998), sollten aber als Ziel gesetzt werden.

Überraschenderweise wurden im Rahmen der hier vorliegenden Untersuchungen aus drei Milchbetrieben Salmonellen isoliert. Dieser hohe Prävalenzwert macht deutlich, dass Salmonellen trotz staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen im nördlichen Baden-Württemberg immer wieder eine ernst zu nehmende Gefahr für die Allgemeingesundheit darstellen. Ein möglicher

Neueintrag von Salmonellen in einen Tierbestand ist schwierig zu kontrollieren und somit einen Tierbestand frei zu halten von diesen Erregern, da sie in der Umgebung ubiquitär vorkommen. Aber im Hinblick auf eine mögliche Reduzierung der Gefahr einer Salmonelleninfektion des Menschen sollte auch dieser Erreger weiter im Blickpunkt staatlicher Bekämpfungsmaßnahmen bleiben. Leider werden durch Tiere Salmonellen in sehr engen Kontakt zu Menschen gebracht, und da heute viele Menschen leider nicht mehr beherzigen, wie man sich durch angepasstes Verhalten vor Salmonellen schützt, ist es weiter erforderlich, dass staatliche Bekämpfungsmaßnahmen angewandt werden.

Y. enterocolitica scheint bei Kälbern keine Durchfallerkrankungen zu verursachen. Dieser Erreger konnte nur bei gesunden Kälbern und bei Kühen nachgewiesen werden. Allerdings sind durch Yersinien hervorgerufene Darmerkrankungen (Yersiniosen) im Jahre 2003 in Baden-Württemberg bereits viermal häufiger nachgewiesen worden als Kryptosporidiosen, mit deutlich steigender Tendenz (Robert-Koch-Institut, 2004).

Bovine Rotaviren sind weiterhin die wichtigste Ursache von infektiösen Kälberdurchfällen, besonders bei neugeborenen Kälbern. Sie lösen ernsthafte Durchfallerkrankungen aus, die meist durch weitere, teils infektiöse (z.B. *Campylobacter* spp. oder *C. parvum*) teils nichtinfektiöse Einflussfaktoren wie nicht adäquate Fütterung von Kolostrum kompliziert und verlängert werden. Auch *C. parvum* stellt weiterhin eine gewichtige Bedrohung der Kälbergesundheit dar. Die hier vorgelegten Untersuchungen machen nochmals deutlich, dass dieser Erreger wie auch Rotaviren nicht nur von erkrankten Kälbern, sondern auch von gesunden, teils sogar bereits abgesetzten Tieren ausgeschieden werden und so der Erregerdruck in einem Betrieb nur schwer zu kontrollieren ist. Ein sehr wichtiger Aspekt der menschlichen Gesundheitsgefährdung durch *C. parvum* stellt dessen Überstehen von Wasserchlorierungen dar.

Abschließend ist zu bemerken, dass die unerwartet hohen Prävalenzwerte von *Campylobacter* spp., *Y. enterocolitica*, *C. parvum* und Salmonellen in der untersuchten Rinderpopulation des nördlichen Baden-Württembergs weitere Untersuchungen notwendig machen, um wirkungsvolle Bekämpfungsmaßnahmen dieser zoonotisch bedeutungsvollen Erreger veranlassen zu können, um so der Gefahr von Humaninfektionen besser begegnen zu können.