

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

**Epidemiologische Fallstudie  
zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie**

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

vorgelegt von  
**Katharina Witt**  
Tierärztin aus Berlin

Berlin 2019  
Journal-Nr.: 4058







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

**Epidemiologische Fallstudie zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie**

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

**vorgelegt von**

**Katharina Witt**

Tierärztin aus Berlin

**Berlin 2019**

**Journal-Nr. 4058**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Kerstin E. Müller  
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Franz J. Conraths  
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Klaus Doll

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

calves, pancytopenia, animal breeding, animal husbandry, cohort studies,  
Brandenburg

Tag der Promotion: 06.02.2019

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

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

ISBN: 978-3-86387-961-7

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2019**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D188**

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 2019 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin  
verlag@menschundbuch.de – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

# Inhaltsverzeichnis

## Inhaltsverzeichnis

### Verzeichnis der Abkürzungen

1.	Einleitung.....	1
2.	Literaturübersicht.....	3
2.1	Bovine Neonatale Panzytopenie - Erstbeschreibung .....	3
2.2	Bovine Neonatale Panzytopenie - Epidemiologie.....	4
2.2.1	Vorkommen in Europa .....	4
2.2.2	Vorkommen in Übersee .....	5
2.2.3	Betroffene Rassen .....	5
2.2.4	Anzahl der Kalbungen .....	6
2.2.5	Kolostrumeinsatz .....	6
2.2.6	Jahreszeitliche Verteilung.....	6
2.2.7	Impfstrategien.....	6
2.3	Bovine Neonatale Panzytopenie – Klinisches Bild .....	8
2.3.1	Subklinische Fälle.....	10
2.3.2	Experimentelle Induktion der BNP .....	11
2.3.3	Sekundärerkrankungen .....	12
2.3.4	Labordiagnostik .....	12
2.4	Bovine Neonatale Panzytopenie – Sektionsbefunde.....	15
2.4.1	Histopathologische Befunde .....	15
2.5	Bovine Neonatale Panzytopenie – Therapie und Prognose .....	16
2.6	Differentialdiagnosen .....	17

## Inhaltsverzeichnis

---

2.6.1	Erblich bedingte Krankheiten .....	18
2.6.2	Intoxikationen .....	19
2.6.3	Infektionskrankheiten mit Folgen für die Blutgerinnung.....	22
2.6.4	Disseminierte intravasale Koagulopathie .....	24
2.6.5	Immunvermittelte Phänomene .....	25
2.7	Zusammenfassende Betrachtung von Ätiologie und Pathogenese der BNP .....	27
2.7.1	Immunpathogenese .....	29
2.7.2	Induktion von Alloantikörpern nach Impfung .....	30
2.7.3	Bedeutung von Kolostrum.....	33
2.7.4	Vorbeuge.....	33
2.8	Zielsetzung .....	34
2.9	Hypothesen .....	35
2.9.1	Bedeutung des Kolostrums.....	35
2.9.2	Bedeutung der Anzahl Kalbungen .....	36
2.9.3	Bedeutung von Impfungen.....	36
2.9.4	Bedeutung der Jahreszeit.....	37
2.9.5	Bedeutung von Totgeburten .....	37
2.9.6	Bedeutung der Abstammung der Kälber .....	37
3.	Material und Methoden .....	38
3.1	Darstellung des Betriebes.....	38
3.2	Vorkommen von BNP .....	38
3.2.1	Falldefinition der BNP .....	38
3.2.2	Anzahl der an BNP erkrankten Kälber .....	40

## Inhaltsverzeichnis

---

3.3	Studiendesign.....	40
3.3.1	Epidemiologische Studien.....	40
3.3.2	Retrospektive Kohortenstudie.....	42
3.3.3	Beobachtungszeitraum.....	42
3.3.4	Studienpopulation.....	42
3.4	Durchführung der Studie.....	44
3.4.1	Datenquellen und verwendete Software.....	44
3.4.2	Risiko- und Expositionsfaktoren.....	46
3.4.2.1	Kolostrummanagement (Mischkolostrum/ Einzelkolostrum).....	46
3.4.2.2	Anzahl Kalbungen.....	48
3.4.2.3	Impfstrategien.....	48
3.4.2.4	Jahreszeitliche Verteilung der BNP-Fälle.....	49
3.4.2.5	Totgeburten.....	50
3.4.2.6	Abstammung.....	50
3.5	Statistik.....	52
4.	Ergebnisse.....	56
4.1	Darstellung des Betriebes.....	56
4.2	Vorkommen von BNP.....	56
4.2.1	BNP-Fälle gemäß Faldefinition.....	56
4.2.1.1	Anzahl der an BNP erkrankten Kälber.....	56
4.3	Ergebnisse der retrospektiven Kohortenstudie.....	57
4.3.1	Einfluss des Kolostrummanagements (Mischkolostrum/ Einzelkolostrum).....	57
4.3.2	Einfluss der Anzahl Kalbungen.....	59

## Inhaltsverzeichnis

---

4.3.3	Einfluss von Impfstrategien.....	60
4.3.3.1	Einfluss der Anzahl Impfungen gegen BVDV .....	60
4.3.3.2	Einfluss des Trächtigkeitsstadiums zum Zeitpunkt der Impfung gegen BVDV.....	61
4.3.3.3	Einfluss der Immunisierung gegen das Blauzungenvirus (BTV).....	62
4.3.4	Einfluss der Jahreszeit.....	63
4.3.5	Einfluss durch Totgeburten.....	65
4.3.6	Einfluss der Abstammung.....	66
5.	Diskussion .....	71
5.1	Kolostrummanagement (Mischkolostrum/ Einzelkolostrum).....	74
5.2	Anzahl der Kalbungen .....	76
5.3	Impfstrategien.....	77
5.4	Jahreszeitliche Verteilung der BNP-Fälle.....	81
5.5	Totgeburten .....	82
5.6	Abstammung .....	83
6.	Zusammenfassung .....	86
7.	Summary.....	88
8.	Literaturverzeichnis.....	90
9.	Anhang.....	110
9.1	Betriebsdaten .....	110
9.2	Vorkommen von BNP .....	123
9.3	Berechnung zur Prävalenz und Inzidenz zum Auftreten von BNP.....	126
9.4	Klinik und Labordiagnostik .....	126
9.5	Muttertiere von Kälbern mit BNP.....	135

## Inhaltsverzeichnis

---

9.6	Betriebsanamnesebogen .....	139
	Veröffentlichungen .....	145
	Danksagung .....	146



## Abkürzungsverzeichnis

AE	Abrechnungseinheit
<i>ap</i>	<i>ante partem</i>
BHV-1	Bovines Herpesvirus Typ 1
BNP	Bovine Neonatale Panzytopenie
BoLa	Bovines Leukozytenantigen
BTV-8	<i>Bluetongue Virus</i> / Blauzungenvirus Serotyp 8
BVDV	Bovine Virus Diarrhoe-Virus
DCVC	Dichlorovinylcystein
DIC	<i>Disseminated Intravascular Coagulation</i> (Disseminierte intravasale Koagulopathie)
DNA/ DNS	<i>Deoxyribonucleic acid</i> / Desoxyribonukleinsäure
EHD(V)	<i>Epizootic Haemorrhagic Disease (Virus)</i>
EKA	Erstkalbealter
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
Fa.	Firma
GI	Grundimmunisierung
GT	Glanzmann-Thrombasthenie
HI-Tier	Herkunftssicherungs- und Informationssystem für Tiere
IBR	Infektiöse Bovine Rhinotracheitis
IgG	Immunglobulin der Klasse G

## Abkürzungsverzeichnis

---

IMT	Immunmediierte Intravasale Thrombozytopenie
ITP	Idiopathische thrombozytopenische Purpura
LVLf	Landesamt für Verbraucherschutz, Landwirtschaft und Flurneuordnung
MDBK -Zellen	<i>Madin-Darby Bovine Kidney</i> -Zellen
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i> (Haupthisto- kompatibilitätskomplex)
MLP	Milchleistungsprüfung
NAIT/ FAIT	Neonatale/ Fetale Alloimmun-vermittelte Thrombozytopenie
NSAID	<i>non steroidal anti-inflammatory drugs</i> (nicht- steroidale Antiphlogistika)
nzpBVDV-2	nicht zytopathogenes Bovines Virus Diarrhoe- Virus Typ 2
OR	Odds Ratio
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Polymerase Ketten- reaktion)
PCV-2	Porcines Circovirus Typ 2
T-Zell-Typen/ Th1	T-Helfer-Zellen
ZKZ	Zwischenkalbezeit

## 1. Einleitung

Die Bovine Neonatale Panzytopenie (BNP) ist laut einer internationalen Vereinbarung definiert als eine Erkrankung von Kälbern im Alter von bis zu vier Wochen, die sich klinisch vor allem durch eine erhöhte Blutungsneigung äußert. Die Erkrankung, die im Volksmund unter dem Begriff "Blutschwitzen" geführt wird, geht mit ausgeprägter Thrombozytopenie und Leukopenie einher und verläuft in der Regel tödlich. Die Untersuchung auf das Bovine Virus Diarrhoe Virus (BVDV) hat bei den betroffenen Tieren ein negatives Ergebnis (Anonym 2009). Bei der Sektion sind Petechien, ausgedehnte subkutane und subseröse Blutungen, Blutansammlungen im Magen-Darmkanal sowie ein "leer" erscheinendes Knochenmark besonders markant. Pathologisch-histologisch liegt dem zuletzt genannten Befund eine komplette Depletion der Zellen des Knochenmarks zugrunde, die Panmyelophthise (Bell et al. 2009b, Bell et al. 2010b, Bell et al. 2014, Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Laming et al. 2012, Pardon et al. 2009b, Pardon et al. 2010, Penny et al. 2009, Theron et al. 2010). Frühesten Berichten zufolge wurde diese Erkrankung erstmalig in Süddeutschland im Jahr 2006 beobachtet (Friedrich et al. 2008). Nach der Erstbeschreibung von BNP folgten aus einigen europäischen Ländern und später aus Neuseeland Berichte über ähnliche Fälle, während andere Länder Europas anscheinend verschont blieben (Anonym 2009, Anonym 2012). In der Regel wurde die Erkrankung innerhalb ein- und desselben Betriebes nur sporadisch beobachtet. Jedoch liegen vereinzelt Berichte über ein gehäuftes Vorkommen von BNP-Fällen innerhalb eines Betriebs vor (Holsteg et al. 2010, Klemm 2010, Pardon et al. 2010). Mit dem Auftreten der ersten Fälle wurde die Vermutung geäußert, dass die Erkrankung mit der Kolostrumverabreichung sowie der Impfung des Muttertieres mit einer BVDV-Totvakzine in Zusammenhang steht (Bastian et al. 2011, Bridger et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Friedrich et al. 2009b, Friedrich et al. 2009d, Friedrich et al. 2011, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2009a, Pardon et al. 2010). In zwei landwirtschaftlichen Betrieben Brandenburgs, die einer Agrargenossenschaft angehörten, häuften sich die Fälle von BNP. Da die Betriebe über Jahre hinaus besonders sorgfältig Tierdaten und Managementmaßnahmen einschließlich Vakzinationen erfasst hatten, bot sich eine retrospektive Analyse dieser Daten an. Auf Grundlage der zu Beginn der Studie vorliegenden Forschungsergebnisse besteht die Grundannahme dieser Studie darin, dass der BNP keine einzelne Ursache zugrunde liegt, sondern mehrere Faktoren zur Entstehung der BNP beitragen. Deshalb sollte im Rahmen einer Kohortenstudie geprüft werden, ob ausgewählte Faktoren (Anzahl der Kalbungen, Impfungen des Muttertieres, Kolostrummanagement, Totgeburten, Jahreszeit und Abstammung) das Risiko für das Kalb erhöhen, an der BNP zu erkranken. Zu diesem Zweck wurde ein Beobachtungszeitraum von drei Jahren (Juli 2007 bis Juli 2010) gewählt. Alle in diesem Zeitraum geborenen Kälber wurden in die Studie eingeschlossen. Die Bildung von Kohorten aus den Tieren der

Studienpopulation beruhte auf der Tatsache, dass die Tiere ein bestimmtes Merkmal teilten (exponierte Gruppe) oder eben nicht teilten (nicht exponiert). Die Daten zu den Tieren der Studienpopulation entstammten dem betrieblichen Herdenmanagementprogramm "Herde" (dsp-Agrosoft, 14669 Ketzin OT Paretz) sowie der Herkunftssicherungs- und Informationssystem für Tiere (HI-Tier)-Datenbank (Bayerisches Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (StMELF), 80539 München).

## 2. Literaturübersicht

### 2.1 Bovine Neonatale Panzytopenie - Erstbeschreibung

#### *Terminologie und Verbreitung*

Bis zur Festlegung einer endgültigen und international anerkannten Terminologie wurde im deutschen Sprachraum die bei Kälbern ab November 2007 gehäuft beobachtete, mit einer erhöhten Blutungsneigung einhergehende Erkrankung unter dem Begriff des „Blutschwitzens“ (Hämhidrosis) geführt. Beim Blutschwitzen handelt es sich um ein sehr eindrucksvolles Phänomen, bei dem es infolge einer Blutgerinnungsstörung oder vermehrten Kapillardurchlässigkeit zum Austritt von Blut aus den Hautdrüsen kommt. Des Weiteren gehen die Vergiftungen durch Steinklee, Cumarin, Adlerfarn und Furazolidon sowie Trichloräthylen extrahiertes Sojaschrot mit einer solchen krankhaften Blutungsneigung einher (Stöber 2006). Vor allem im Verlauf einer Adlerfarnvergiftung, die mit einem starken Abfall der Thrombozytenzahl einhergeht, wird das "Blutschwitzen" in Zusammenhang gebracht (Stöber 2006). Fälle, die mit "Blutschwitzen" verbunden waren, wurden bei Kälbern bereits in der Vergangenheit beschrieben (Ammann et al. 1996, Lunn und Butler 1991, Raczynski 2011, Shimada et al. 2007).

Erstmals öffentlich berichtet wurde über das gehäufte Auftreten einer Blutgerinnungsstörung bei neonatalen Kälbern im süddeutschen Raum anlässlich des 7. Berlin-Brandenburgischen Rindertages im Oktober 2008 (Friedrich et al. 2008). Friedrich et al. (2009a) beschrieben anhand von Befunden, die bei Klinikpatienten der Klinik für Wiederkäuer der Ludwig-Maximilian-Universität München erhoben wurden, die klinischen Erscheinungen der Erkrankung. Unter Berücksichtigung von Sektionsbefunden wurde die Krankheit zu diesem Zeitpunkt als „Panmyelophthase mit konsekutiver hämorrhagischer Diathese mit raschem Verlauf“ bezeichnet. In Großbritannien, wo die Krankheit erstmals bei einer Herde Fleischrinder beobachtet wurde, als auch in den Niederlanden und in Frankreich, setzten sich zunächst die Bezeichnungen „Haemorrhagic Disease Syndrome (HDS)“ und „Idiopathic haemorrhagic diathesis“ durch (Corbière et al. 2009, Smolenaars und Mars 2009, VLA 2009). Nachdem die Erkrankung in weiteren Ländern Europas beobachtet worden war, widmete man ihr im Rahmen des "Mediterranean Buiatrics Congress 2009" eigens ein Satellitensymposium (Anonym 2009), welches dem internationalen Erfahrungsaustausch dienen sollte. Die teilnehmenden Wissenschaftler/innen einigten sich anlässlich der Veranstaltung auf eine einheitliche Terminologie. Seitdem wird die Erkrankung unter der Bezeichnung „Bovine Neonatale Panzytopenie (BNP)“ geführt und ist wie folgt definiert: die Bovine Neonatale Panzytopenie ist eine seltene, akut und meist tödlich verlaufende, durch eine erhöhte Blutungsneigung gekennzeichnete Krankheit. Sie betrifft junge Kälber bis zu einem Alter von

vier Wochen und ist durch Panmyelophthase und die damit verbundene Panzytopenie gekennzeichnet. Erkrankte Tiere sind nachweislich nicht mit dem BVDV infiziert (Anonym 2009, Defra 2011, Friedrich et al. 2009b).

## **2.2 Bovine neonatale Panzytopenie - Epidemiologie**

### **2.2.1 Vorkommen in Europa**

Bei internationalen Symposien zur BNP in Marseille (2009) und in Chile (2010) wurde von weiteren Experten von dem Auftreten der Krankheit in Deutschland als auch in anderen europäischen Ländern berichtet (Anonym 2009; Anonym 2010). Im Jahr 2007 wurden in Süddeutschland erstmals Fälle der BNP vermehrt beobachtet (Friedrich et al. 2008). Bis zum 28. Februar 2011 wurden in Deutschland 3000 Fälle beschrieben (Anonym 2011c). Seit 2008 wurde BNP in 14 Ländern nachgewiesen. Darunter befinden sich die Niederlande, Frankreich, Großbritannien, Irland und Italien (Bell et al. 2009a, Corbière et al. 2009, Defra 2011, Gentile et al. 2009, Holliman et al. 2010, Pardon et al. 2009a, Penny et al. 2009, Sanchez-Miguel et al. 2010, Smolenaars und Mars 2009, Willoughby et al. 2010). Weiterhin wurde die BNP auch in Ungarn, Luxemburg und Spanien beobachtet (Anonym 2011). Die regionale Verbreitung der Krankheit innerhalb der Länder ist zumeist äußerst heterogen (für die regionale Verbreitung der Fälle in Baden-Württemberg 2009 siehe: Anonym 2012a, ansonsten Anonym 2011, Friedrich et al. 2011, Pardon et al. 2010).

Laut einer Pressemitteilung des Paul-Ehrlich-Instituts erkrankten bis zu 15 Prozent der Kälber an BNP in den betroffenen Betrieben. Bis zum 28. Februar 2011 wurden in Europa 4500 Fälle der BNP erfasst (Anonym 2011c). Theron et al. (2010) gehen von einer Prävalenz der Fälle (Anzahl der deklarierten Fälle/ Anzahl der zahlenmäßig erfassten Rinder unter einem Jahr) von durchschnittlich 1/10000 aus, wobei Theron et al. (2010) konkret für Großbritannien 1,5/10000, für Frankreich 1,2/10000 und für Deutschland 1,4/10000 errechneten. Für den Zeitraum von 2004 bis 2009 wurde die Gesamtinzidenz für das Auftreten der BNP europaweit auf 0,016 % geschätzt (Anonym 2012b).

Im Jahr 2009 wurde ein Zusammenhang zwischen der BNP und der Verabreichung des Impfstoffs PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) erstmalig vermutet. Friedrich et al. (2009b) konnte bei 96 Prozent der in Süddeutschland beobachteten Fälle feststellen, dass zuvor eine Impfung der Muttertiere der betroffenen Kälber gegen die Bovine Virus Diarrhoe stattgefunden hatte. Mittlerweile wurde dieser Impfstoff freiwillig durch die Herstellerfirma Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH vom deutschen und europäischen Markt genommen (7. April 2010 bzw. 8. Juni 2010, Anonym 2012c). Die Europäische Kommission ordnete im Oktober 2010 das Ruhen der Zulassung für Europa an. Ab dem 30. August 2011 verzichtete das Unternehmen Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH freiwillig auf die Zulassung, da es

nicht möglich war, die von der Europäischen Kommission geforderten wissenschaftlichen Nachweise zur Entlastung der Beteiligung von PregSure® BVD an BNP zu erbringen.

Nicht auf jedem Betrieb, in dem BNP auftrat, wurden die Tiere mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) gegen das BVDV immunisiert. Es wurde jedoch beobachtet, dass auf solchen Betrieben Kolostrumersatzpräparate eingesetzt worden waren oder Tiere zugekauft wurden, die zuvor im Herkunftsbestand vakziniert worden waren oder deren Impfhistorie nicht nachvollzogen werden konnte (Pardon et al. 2009a).

### **2.2.2 Vorkommen in Übersee**

Eingesetzt wurde der Impfstoff in Neuseeland seit 2008 (Anonym 2012c). Seit August 2011 wurde BNP auch in Neuseeland beobachtet (Anonym 2012). Als Reaktion auf das Auftreten eines Falles in Neuseeland wurde die Vakzine PregSure® BVD durch die Firma Pfizer Ltd, Mt Eden, Neuseeland, am 24. August 2011 freiwillig zurückgerufen und durch das neuseeländische Ministerium für Landwirtschaft und Forstwirtschaft erfolgte eine Sperrung der Zulassung des Produktes (Anonym 2012c). In Kanada wurde von zwei Kälbern berichtet, die BNP-ähnliche Symptome aufwiesen. Die Diagnose BNP konnte jedoch in beiden Fällen nicht abgesichert werden (Ammann et al. 1996, Bernier Gosselin et al. 2011, Cooper 2012). Die Vakzine PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) war in Kanada nicht verfügbar (Cooper 2012). Des Weiteren wurde im Jahr 2010 in Japan ein Japanese Black Kalb mit der Symptomatik einer idiopathischen BNP auffällig (Fukunaka et al. 2010).

BNP wurde weder in Österreich, der Schweiz oder Dänemark beobachtet. In diesen Ländern gilt aufgrund von Bekämpfungsprogrammen ein Impfverbot gegen das BVDV, weshalb der BVD-Impfstoffs PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) in diesen Ländern nicht eingesetzt wurde.

### **2.2.3 Betroffene Rassen**

Verschiedene Rassen sind von BNP betroffen, wobei jeweils die regional vorherrschende Rasse meist am stärksten vertreten war. In Deutschland wurden Fälle bei den Rassen Deutsche Holstein, Fleckvieh, Deutsches Braunvieh, Deutsche Rotbunte, Charolais und bei deren Kreuzungen beobachtet. In den Niederlanden waren des Weiteren Fälle bei den Rassen Brown Swiss und Blaue Belgier vertreten, in Frankreich zudem auch bei Blonde d'Aquitaine, Montbéliarde und Limousin (Corbière et al. 2009, Pardon et al. 2009a, Smolenaars und Mars 2009). In Schottland traten BNP-Fälle bei Kreuzungen von Fleischrindern (Aberdeen Angus, Charolais und Simmentaler Rind), in Irland bei Rindern der Rassen Holstein-Friesian, Charolais, Hereford und Blaue Belgier auf (Defra 2011, Holliman et al. 2010, Sanchez-Miguel et al. 2010, Willoughby et al. 2010). Es wurden keine Unterschiede in der Verteilung auf die

Geschlechter hinsichtlich des Vorkommens der BNP festgestellt (Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010).

### **2.2.4 Anzahl der Kalbungen**

Es liegen Berichte vor, wonach Muttertiere bevorzugt in aufeinanderfolgenden Jahren Kälber geboren hatten, die später an BNP erkrankten (Anonym 2011, Bell et al. 2010, Pardon et al. 2009a, Witt et al. 2011). Pardon et al. (2009a) beobachteten BNP bei Kälbern von Färsen (40 %), Zweitlaktierenden (30 %), sowie Dritt- und Höherlaktierenden (30 %). Es wurde die Vermutung geäußert, dass die Anzahl der Laktationen der Muttertiere nicht mit einer Häufung von BNP-Fällen in Zusammenhang gebracht werden kann.

### **2.2.5 Kolostrumeinsatz**

In Betrieben mit Fleischrinderhaltung, in denen die Kälber bei den Müttern bleiben, ist davon auszugehen, dass letztere ausschließlich das Kolostrum des Muttertieres aufnehmen. In solchen Betrieben wurde ebenso BNP bei den Kälbern beobachtet wie bei Milchkälbern nach Einsatz von frischem Kolostrum des Muttertieres (47 % bzw. 72 % der Kälber mit BNP), von Mischkolostrum (30 % bzw. 19 %) und von Fremdkolostrum (10 % bzw. 19 %) (Pardon et al. 2009a; Corbière et al. 2009). Schröter et al. (2011) konnte feststellen, dass in einem Betrieb, in dem Mischkolostrum verfüttert wurde, welches u.a. von einem Muttertier stammte, dessen Kalb später an BNP erkrankte, die höchste Morbidität und Mortalität vorhanden war.

### **2.2.6 Jahreszeitliche Verteilung**

Friedrich et al. (2009a), Klemt (2010) und Witt et al. (2011) zufolge treten deutlich mehr BNP-Fälle in den Sommermonaten als in den Wintermonaten auf. Friedrich et al. (2009a) erklärt das jahreszeitlich unterschiedliche Auftreten der BNP mit einer besseren Erkennung erkrankter Tiere durch den Tierhalter, da stechende Insekten als Auslöser von kutanen Blutungen fungieren können und diese in den Wintermonaten fehlen. Allerdings wurden von mehreren Autoren ebenfalls Erkrankungen in den Wintermonaten beobachtet, jedoch nicht in so großer Anzahl (Defra 2011, Pardon et al. 2009a, Sanchez-Miguel et al. 2010). Aufgrund der in extensiven Fleischrinderherden üblichen Kalbungen im Frühjahr konnten für diese Betriebsrichtung keine entsprechenden Vergleiche durchgeführt werden. Aufgrund des Auftretens von BNP innerhalb der ersten vier Lebenswochen wurden in solchen Betrieben fast ausschließlich Fälle im Frühjahr beobachtet (Bell et al. 2009a, Penny et al. 2009).

### **2.2.7 Impfstrategien**

Von 396 beobachteten Fällen in Süddeutschland wurden nur drei Muttertiere nicht gegen BVDV geimpft, und bis auf zwei Tiere wurde in den übrigen Fällen der Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) verwendet (Anonym 2011). Klemt (2010) beschrieb

ebenfalls Fälle in einem Betrieb in Sachsen, in dem von Februar bis Juni 2009 zum Zeitpunkt des Trockenstellens mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) geimpft worden war. Nachfolgend wurde der Impfstoff Mucobovin® von Merial GmbH (Hallbergmoos, Deutschland) verwendet. Nachdem der Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) nicht mehr angewendet wurde, verebbte das Krankheitsgeschehen im selben Jahr. Auch in Norddeutschland wurde BNP ausschließlich bei Kälbern von mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) geimpften Muttertieren beobachtet (Witt et al. 2011). Die Zahl der Erkrankungen an BNP in den Betrieben variierte laut Bastian et al. (2011) von Einzelfällen bis zu 5 – 10 % im gesamten Bestand. Aus den Niederlanden stammen Berichte, dass in 88 % der Fälle in denen Kälber mit BNP geboren wurden, die Muttertiere nachweisbar gegen BVDV geimpft worden waren. Von diesen 88 % betraf es ein- und denselben Impfstoff, der jedoch von den Autoren namentlich nicht genannt wurde (Smolenaars und Mars 2009). Auch die Beobachtungen von Pardon et al. (2009a) in Belgien zeigen, dass mit Ausnahme einer Herde in allen anderen betroffenen Herden gegen das BVDV vakziniert wurde. In der Herde, in der nicht gegen BVDV geimpft wurde, setzte man Kolostrumersatzpräparate zur Erstversorgung der Kälber ein (Pardon et al. 2009a). Geimpft wurde mit Vakzinen verschiedener Hersteller, wobei auch innerhalb eines Betriebes verschiedene Vakzinen zum Einsatz kamen. In Befragungen wurden genannt: Bovilis® BVD (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland), Mucobovin® von Merial GmbH (Hallbergmoos Deutschland), sowie PregSure® BVD und Rispoval® Trivalent, beides Produkte der Firma Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland. Mit Ausnahme eines Betriebes wurde die Vakzine PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) aktuell oder in der Vergangenheit auf allen Betrieben, in denen Kälber an BNP litten, eingesetzt. Auch in einer betroffenen Herde in Schottland mit 210 Mutterkühen und zehn Kälbern mit BNP wurden alle Tiere gegen BVDV mit dem Impfstoff PregSure® BVD geimpft (Bell et al. 2009a). Corbière et al. (2009) berichteten von dem Auftreten von BNP in Frankreich bei 38 Kälbern. 37 Mütter waren mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Trächtigkeit geimpft worden. Ein einzelnes Tier, dessen Mutter nicht mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) geimpft worden war, konnte nicht sicher als BNP-Fall identifiziert werden. Des Weiteren wurde in Norddeutschland ein Fall auf einem Betrieb mit acht Kühen der Rasse Fleckvieh beschrieben, in dem seit Jahren keine Impfungen gegen das Bovine Herpesvirus Typ 1 (BHV-1), das BVDV und das BTV stattgefunden hatten. Das erkrankte Kalb zeigte eindeutige Symptome der BNP und verendete nach einigen Tagen. Sowohl seine Mutter als auch das Kalb erwiesen sich als BVDV-Antigen und –Antikörper negativ (Kaske et al. 2009). Es handelte sich wohl um einen Fall idiopathischer Panzytopenie.

Neben der Impfung gegen das BVDV fanden in Betrieben, in denen Kälber mit BNP auftraten, auch andere Impfungen statt. Auf nahezu allen Betrieben wurde ab dem Jahr 2008 gegen die

Blauzungenkrankheit Serotyp 8 (BTV-2) im Rahmen einer deutschlandweit verpflichteten Immunisierung geimpft (Corbière et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2009a, Smolenaars und Mars 2009, Witt et al. 2011). Dabei kamen die folgenden Impfstoffe zum Einsatz gegen BTV-8: Bovilis® BTV 8 von Intervet Deutschland GmbH, (Unterschleißheim, Deutschland), AISap® 8 der Firma Merial GmbH (Hallbergmoos, Deutschland), sowie Zulvac® 8 Bovis, Forte Dodge Veterinär GmbH (Hehlrath, Deutschland), gegen BTV-1 Zulvac® 1. Je nach Betrieb wurden die Tiere noch zusätzlich gegen Leptospirose (*Leptospira borgpetersenii* serovar *hardjo*, *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* (Leptavoid-H, Schering–Plough Animal Health, Kenilworth, New Jersey, USA), Rotavirus, Coronavirus, *Escherichia coli* (Trivacton 6; Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland), und Erreger des „Bovine Respiratory Disease Complex“ (BRDC) geimpft.

### **2.3 Bovine Neonatale Panzytopenie – Klinisches Bild**

Symptome der BNP traten bei einem Großteil der Kälber innerhalb der ersten bis dritten Lebenswoche auf (Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Pardon et al. 2009a, Pardon et al. 2010, Penny et al. 2009). Bei einem Teil der Kälber, denen Kolostrum von Müttern verabreicht wurde, die bereits Kälber mit BNP geboren hatten, und Kälbern von Müttern, deren vorangegangene Kälber erkrankt waren, wurden als erste Anzeichen ein gestörtes Allgemeinbefinden, therapieresistentes Fieber ohne erkennbare Ursache, das Auftreten der neonatalen Diarrhoe oder Symptome einer Lungenentzündung beschrieben (Corbière et al. 2009, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Pardon et al. 2010). Andere Kälber fielen durch Hautblutungen nach der Verabreichung von Injektionen oder nach dem Einziehen von Ohrmarken auf (Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010, Penny et al. 2009, Sanchez-Miguel et al. 2010). Manche Tiere wiesen jedoch ohne vorhergehende Auffälligkeiten scheinbar plötzlich multiple petechiale Blutungen oder Suffusionen an den sichtbaren Schleimhäuten auf. Dabei waren als erstes meist die Maulschleimhaut, die Nasenöffnungen und der Flotzmaulrand betroffen, später auch die Skleren und die rektalen und vaginalen Schleimhäute (Corbière et al. 2009, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010, Penny et al. 2009). Nicht selten zeigten die Tiere Blutbeimengungen im normal geformten Kot, später zum Teil auch hämorrhagische Diarrhoe (Corbière et al. 2009, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Pardon et al. 2010, Sanchez-Miguel et al. 2010). Im Laufe der Erkrankung traten spontane Blutungen aus scheinbar unversehrter Haut der Augenlider, Ohren, des Rückens und der Gliedmaßen auf, welche rötliche Rinnsale im Fell bilden, was - nach Eintreten der Gerinnung - zur Bildung streifenförmiger Krusten im Haarkleid führt (Corbière et al. 2009, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Pardon et al. 2010, Theron et al. 2010). Pardon et al. (2010) ordneten den durch

die Gerinnungsstörung hervorgerufenen Veränderungen in Abhängigkeit von deren Ausdehnung verschiedene Schweregrade zu (Tabelle 1).

**Tabelle 1. Beurteilung des Schweregrades der im Zusammenhang mit BNP beobachteten Hautblutungen. In Abhängigkeit von der Anzahl der beobachteten streifigen Blutkrusten (bzw. Blutrinsale) und Ekchymosen werden verschiedene Schweregrade zugewiesen (nach Pardon et al. 2010).**

Ausprägung	nicht vorhanden	gering	mäßig	schwer
Anzahl der Blutrinsale	keine	< 10	10-20	> 20
Anzahl der Ekchymosen	keine	keine	< 2	≥ 2

Kälber, die zu einem späteren Zeitpunkt an BNP erkrankten, blieben unmittelbar nach der Geburt symptomlos. Sie nahmen das erste Kolostrum in ausreichender Menge auf und zeigten dabei einen normalen Saugreflex (Doll et al. 2009, Kappe et al. 2010). Frühestens ab einem Alter von zwei Tagen wurden Hautblutungen beobachtet, die bei genauerer Betrachtung aus winzigen, punktförmigen Zusammenhangstrennungen der Haut stammten. Die Mehrheit der betroffenen Kälber zeigte solche Blutungen jedoch erst ab dem neunten Lebenstag in der sogenannten „Blutungsphase“ (Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a). Die Meldungen über Erkrankungsfälle konzentrierten sich vor allem auf die Sommermonate. Verschiedene Autoren brachten diesen Sachverhalt mit der Tatsache in Zusammenhang, dass in dieser Jahreszeit eine höhere Dichte stechender Insekten besteht, die mikroskopisch kleine Hautläsionen verursachen, aus denen die Tiere dann profus bluten (Friedrich et al. 2009a, Pardon et al. 2010, Theron et al. 2010). Blutungen wurden jedoch auch aus Punktionsstellen der Haut nach Verabreichung von Injektionen beobachtet (Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a). In der „Terminalphase“ der BNP verschlechterte sich der Allgemeinzustand der Kälber dramatisch (Pardon et al. 2010). Dabei wurden Apathie, blasse Schleimhäute, Dekubitus und zum Teil stark ausgeprägte Sekundärerkrankungen (neonatale Sepsis, Diarrhoe, Bronchopneumonie) beobachtet (Corbière et al. 2009, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). Die klinisch manifeste BNP führte trotz aufwändiger Behandlung (Bluttransfusionen, Verabreichung von Kortikosteroiden) in der Regel etwa zwei Tage nach Auftreten der ersten Symptome zum Tode (Theron et al. 2010). Nur etwa 10 Prozent der Kälber, die äußerlich Symptome der BNP aufwiesen, überlebten (Bell et al. 2011, Friedrich et al. 2009a, Pardon et al. 2010). Friedrich et al. (2009a) und Scholes (2009) beobachteten, dass bei einigen Kälbern mit BNP eine Regeneration des Knochenmarks auftrat. Bisweilen ging die Regeneration von sekundären Zentren der Knochenmarksbildung wie etwa den Rippen

(cortex/subcortex Region) aus. Die Tiere blieben zuweilen aufgrund der vorangegangenen schweren Erkrankung im Wachstum hinter den Altersgenossen zurück (Holsteg et al. 2010, Witt et al. 2011).

### **2.3.1 Subklinische Fälle**

Zahlreiche Autoren teilen die Meinung, dass die BNP neben der mit dramatischen Symptomen einhergehenden klinischen Form auch in einer subklinischen Form auftritt, die durch Blutbildveränderungen gekennzeichnet ist. Diese Veränderungen waren durch eine vorläufige Senkung der Thrombozyten- und Leukozytenkonzentrationen im Blut gekennzeichnet, die sich jedoch nach einer gewissen Zeit wieder im Referenzbereich befanden (Bell et al. 2014, Bridger et al. 2011, Demasius et al. 2014, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2011, Holsteg et al. 2011, Pardon et al. 2009a, Pardon et al. 2009b, Pardon et al. 2010, Penny et al. 2010, Ronzoni et al. 2013, Theron et al. 2010, Witt et al. 2011). Pardon et al. (2009a) beobachteten anlässlich einer Beprobung von klinisch unauffälligen Kälbern aus von BNP betroffenen Herden in sechs der sieben Betriebe Veränderungen des Blutbildes im Sinne der BNP. Die Beobachtungen am Blutbild der Tiere bezogen sich auf eine Leukopenie mit Leukozytenzahlen unter 3 G/l und auf eine Thrombozytopenie (zwei Fälle), ohne dass jedoch Blutungen beobachtet wurden. Von ähnlichen Beobachtungen berichteten Autoren aus Großbritannien, Belgien und Deutschland (Bell et al. 2010b, Bell et al. 2014, Holsteg et al. 2010, Penny et al. 2010, Ronzoni et al. 2013). Holsteg et al. (2010) führten Langzeitbeobachtungen an Kälbern zweier Milchkuhherden im Alter von null bis 21 Tagen durch, indem sie die Tiere engmaschig klinisch untersuchten und dabei auf Anzeichen der BNP achteten. Gleichzeitig fanden entsprechende Kontrollen des Blutbildes statt. Dabei fiel ein Kalb auf, welches Blutbildveränderungen zeigte. Das mit Fremdkolostrum gefütterte Kalb wies bei der ersten Beprobung eine Panzytopenie und leichte Blutungen auf. Bei der Untersuchung einer Knochenmarksbiopsieprobe wurde ein zellreiches Knochenmark mit hämatopoetischer Aktivität in den Reihen der Vorläuferzellen, nachgewiesen. Das Kalb war in der Lage, Thrombozyten nachzubilden, blieb jedoch in seiner Entwicklung hinter den Altersgenossen zurück. In anderen Studien wurden nach der subklinischen Erkrankung von Kälbern keine erhöhte Mortalität und keine schlechteren täglichen Zunahmen beobachtet (Bell et al. 2013). Ronzoni et al. (2013) entdeckten in einer Herde mit 12 % BNP-Fällen zusätzlich fünf Prozent subklinische Fälle. Bell et al. (2014) stellten fest, dass auf einem Betrieb mit einer Gesamtvorkommen der BNP-Fälle von 18% mehr als fünf subklinische Fälle pro Kalb mit BNP auftraten. Ähnliche Ergebnisse verzeichneten auch andere Studien (Müller et al. 2009, Witt et al. 2011). In einem Milchviehbetrieb, der standardmäßig Mischkolostrum fütterte, wurden Blutbildveränderungen, die auf eine subklinische Erkrankung hinwiesen, bei symptomfreien Kälbern entdeckt, die zeitgleich mit Kälbern geboren wurden, welche später BNP entwickelten. Die Blutbildveränderungen bei

diesen Tieren bestanden jedoch nur kurzzeitig und wurden nicht von klinischen Symptomen begleitet. Andere Studien konnten das zeitgleiche Auftreten von subklinischen Fällen nicht bestätigen (Bell et al. 2014, Demasius et al. 2014). Auch Bell et al. (2014), Bridger et al. (2011) und Friedrich et al. (2011) beobachteten bei symptomlosen Kälbern, die Kolostrum von Kühen aufgenommen hatten, welche in der Vergangenheit Kälber mit BNP geboren hatten, charakteristische Blutbildveränderungen im Sinne der BNP. Als mögliche Ursache für das Auftreten der subklinischen Fälle wurde von Autoren einerseits das natürliche Vorkommen von einer unbekanntem Prozentzahl an Kälbern mit zeitweiliger oder milder Knochenmarksdepression genannt (Penny et al. 2010). Andererseits wäre eine Verbindung zwischen den subklinischen Fällen und der Menge und Art des verabreichten Kolostrums möglich.

### **2.3.2 Experimentelle Induktion der BNP**

Studien zur experimentellen Reproduktion des Krankheitsbildes beruhen auf der Gabe des Kolostrums von Muttertieren, deren Kälber an BNP nachweislich erkrankt waren, an Kälber aus nicht betroffenen Betrieben (Bauer et al. 2009, Bell et al. 2013, Bridger et al. 2011, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2008, Friedrich et al. 2009a, Henninger et al. 2014, Laming et al. 2014, Schröter et al. 2011). Betrachtet man die Ergebnisse der Studien über die experimentelle Auslösung des Krankheitsbildes durch die Verabreichung von Kolostrum betroffener Tiere gesamthaft, stellt sich der Verlauf der Ergebnisse hämatologischer Untersuchungen wie folgt dar: die Thrombozyten- und auch die Leukozytenzahlen der Versuchstiere waren ab zwei Stunden nach Kolostrumaufnahme (beide Zellreihen) bis zum achten Tag (Thrombozyten) post natum bzw. drei bis sieben Tage (Leukozyten) nach Aufnahme des Kolostrums signifikant niedriger als bei Kontrolltieren (Friedrich et al. 2011). Nach der Aufnahme des Kolostrums wurde oft ein leicht gestörtes Allgemeinbefinden bei den Kälbern beobachtet. Doll et al. (2009), Bauer et al. (2009), Bridger et al. (2011), Laming et al. (2012), Bell et al. (2013) und Henninger et al. (2014) stellten außergewöhnlich hohe Antikörpertiter gegen das BVDV fest. Bei Kälbern mit klinischer BNP wurde zusätzlich ein starker Anstieg der IgG-Lymphozytenkonzentration im peripheren Blut nach der Kolostrumaufnahme nachgewiesen. Einen Tag später zeigten diese Kälber in der Regel bereits wieder ein ungestörtes Allgemeinbefinden und ein normales Trinkverhalten. Bei der Mehrzahl der Kälber konnten jedoch im weiteren Verlauf neben dem kontinuierlichen Abfall der Thrombozyten- und Leukozytenzahlen im Blut bei der klinischen Untersuchung Blutungen und Petechien beobachtet werden (Bauer et al. 2009, Bell et al. 2013, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2011, Laming et al. 2012, Schröter et al. 2011). Diese Tiere wiesen bei der anschließenden Sektion ausnahmslos eine Depletion des Knochenmarks auf. Die primitiven Vorläuferzellen der Zelllinien sowohl der Thrombozyten, der Lymphozyten als auch der Monozyten waren destruiert. In den neutrophilen, eosinophilen und erythrozytären

Zelllinien wurden nur die noch primitiveren Vorläuferzellen angegriffen (Bell et al. 2013). Schröter et al. (2011) entschieden sich für ein Experiment, in dem Kälber gruppenweise mit dem Kolostrum eines einzigen Muttertieres eines Kalbes mit BNP, mit dem Einzelkolostrum verschiedener Kühe mit vorherigen Kälbern mit BNP sowie mit Mischkolostrum von 10 betroffenen Kühen getränkt wurden. Dabei konnte festgestellt werden, dass die klinischen Symptome der BNP und die Letalität geringer in den Gruppen mit dem Einzelkolostrum und deutlich höher in der Gruppe mit dem Mischkolostrum ausgeprägt waren, unabhängig von der Menge des Kolostrums und der Herkunft der Kälber. Ein Großteil der Kälber verstarb an experimentell induzierter BNP nach der Aufnahme der Biestmilch.

### **2.3.3 Sekundärerkrankungen**

Bei zahlreichen Kälbern mit BNP wurden über die Gerinnungsstörung hinausgehende Krankheitserscheinungen beobachtet. Hierbei handelte es sich zumeist um schwere Verlaufsformen der neonatalen Diarrhoe, Nabelentzündungen, Septikämie, Bronchopneumonien und Mykosen (Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Henninger et al. 2014). In Studien von Henninger et al. (2014) verendeten 50 % der dort beschriebenen BNP-Fälle (19 Tiere) infolge Infektionen (Pneumonie, Enteritis, Septikämien). Häufig wurde therapieresistentes Fieber beschrieben, ohne dass dafür eine Ursache angegeben werden konnte (Corbière et al. 2009, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Pardon et al. 2010).

### **2.3.4 Labordiagnostik**

#### ***Hämatologie***

Das Auftreten einer deutlichen Leukopenie und Thrombozytopenie in Verbindung mit einer Anämie unterschiedlicher Ausprägung und einer klinischen Symptomatik, die der oben beschriebenen entspricht, wies bei Kälbern im Alter unter vier Wochen auf das Vorliegen von BNP hin (Tabelle 2) (Bell et al. 2009c, Bell et al. 2013, Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Laming et al. 2013, Pardon et al. 2009b, Pardon et al. 2010, Ronzoni et al. 2013, Witt et al. 2011). Die absolute Anzahl der Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten lag bei erkrankten Tieren deutlich unterhalb des unteren Grenzwertes vom Referenzbereich (Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010, Witt et al. 2011).

Der Hämatokritwert lag im unteren Drittel des Referenzbereichs oder ebenfalls wenig unterhalb des unteren Grenzwertes (Kappe et al. 2010). Die Anämie wurde als normozytische, normochrome, nicht-regenerative Anämie beschrieben (Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). Die Untersuchung der Blutgerinnung ergab bei einigen Kälbern mit BNP im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren eine Verzögerung sowohl der Prothrombinzeit als auch der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). Die Fibrinogenspiegel

wichen bei Kälbern mit BNP nicht von denen gesunder Tiere ab. Auf Grundlage der Ergebnisse experimenteller Studien und der Beobachtungen im Feld wurden verschiedene Falldefinitionen aufgestellt, die in Tabelle 2 dargestellt sind.

**Tabelle 2. Falldefinitionen verschiedener Arbeitsgruppen für die Bovine Neonatale Panzytopenie (Anonym 2009). (PCR = Polymerase-Kettenreaktion, RNS = Ribonucleinsäure)**

Autoren Kriterien	Friedrich et al. 2009c	Pardon et al. 2010	Kappe et al. 2010	Scholes 2009
Alter	≤ 4 Wochen	< 1 Monat	1.Lebensmonat	< 4 Wochen
Klinische Symptome	Blutungsstörung (nicht immer äußerlich sichtbar) Keine Septikämie	Hautblutungen und/ oder Petechien und/ oder Melaena	massive innere und äußere Blutungen	unerklärliche Blutung z. B. aus Injektionsstellen, Ohr, usw.
Befunde der hämatologische n Untersuchung	Thrombozytopeni e < 200 G/l Leukopenie < 4 G/l	Thrombozytopeni e < 100 G/l Leukopenie < 3 G/l	aplastische Anämie mit ausgeprägter Thrombozyto- penie	Panzytopenie mit Thrombozyto- penie < 20 G/l
Sektionsbefund e	Panmyelophthise	Knochenmarks- aplasie mit Abwesenheit von Megakaryozyten	hochgradige Hypo- bis Atrophie des Knochenmarks	unerklärliche Hämorrhagien der inneren Organe an einer oder mehreren Stellen
Ergebnisse der Untersuchung auf BVDV	Negativ bei Anwendung einer Panpestivirus PCR <sup>1</sup>	Antigen PCR <sup>2</sup> negativ in Blut oder Milzgewebe	Nicht durchgeführt	keine BVDV-RNS vorhanden

<sup>1</sup> duplex real-time RT-qPCR nach Hoffmann et al. 2006

<sup>2</sup> real-time PCR nach Letellier und Kerkhofs 2003

### **Ergebnisse biochemischer Untersuchungen**

Aufgrund der Vermutung, dass zwischen der Biestmilchverabreichung und dem Auftreten der BNP ein Zusammenhang besteht, untersuchten Buck et al. (2011) die Serum- $\gamma$ -Glutamyltransferase-Aktivität in Blutproben von erkrankten Kälbern. Da Epithelzellen aus der Milchdrüse das Enzym  $\gamma$ -Glutamyltransferase enthalten und dieses nach Biestmilchverabreichung im Blut des neugeborenen Kalbes erscheint, lässt sich über die Höhe der Aktivität der  $\gamma$ -Glutamyltransferase im Blut des neonatalen Kalbes der Erfolg des Antikörpertransfers beurteilen. Der Transfer muss laut Bender und Bostedt (2009) als misslungen angesehen werden, wenn die Aktivität der Serum- $\gamma$ -Glutamyltransferase am zweiten Lebenstag unter 400 U/l oder am Ende der ersten Lebenswoche unter 50 U/l liegt. Buck et al. (2011) konnten nur in einem von 15 Kälbern mit erhöhter Blutungsneigung ein Scheitern des Antikörpertransfers von der Mutter zum Kalb nachweisen, während der Antikörpertransfer bei den anderen untersuchten Kälbern als erfolgreich beurteilt wurde. Auch Bell et al. (2013) fanden keine statistisch auffälligen Unterschiede in der Aktivität der Serum- $\gamma$ -Glutamyltransferase zwischen BNP-Fällen und gesunden Tieren.

### ***Ergebnisse virologischer Untersuchungen***

Aufgrund der Tatsache, dass die mit hämorrhagischer Diathese einhergehende Form der primären BVDV-Infektion dem Krankheitsbild der BNP sehr ähnelt und deshalb mit der BNP verwechselt werden könnte, setzt die Definition der BNP ein negatives Testergebnis auf BVDV voraus (Anonym 2009) (Tabelle 2). Untersuchungen auf BVDV mittels Real-Time-PCR, Antigen-ELISA oder mittels Zellkultur ergaben bei Kälbern mit BNP äußerst selten ein positives Ergebnis (Brugère-Picoux 2009, Henninger et al. 2014, Penny et al. 2009, Willoughby et al. 2009). In einigen betroffenen Herden wurde innerhalb der letzten drei Jahre ein Zirkulieren von BVDV nachgewiesen. Solche Herden wurden folglich nicht als Herden mit gesicherten BNP-Fällen betrachtet (Pardon et al. 2009a). An einzelnen an BNP erkrankten Tieren durchgeführte virologische Untersuchungen auf ausgewählte Viren der Familie Flaviviridae (Kyasanur-Forest-Disease-Virus und Border-Disease-Virus) und der Familie Bunyaviridae (Krim-Kongo-Hämorrhagisches Fieber-Virus, Phlebovirus), als auch auf das Torovirus, das Seoul-Virus und das Ebolavirus, sowie auf DNA-Viren hatten stets ein negatives Resultat (Bell et al. 2010b, Brugère-Picoux 2009, Corbière et al. 2009, Defra 2011, Kappe et al. 2010, Willoughby et al. 2009). Es wurden keine Viruspartikel unter dem Elektronenmikroskop beobachtet (Bell et al. 2010, Willoughby et al. 2009). Kappe et al. (2010) wiesen mithilfe der nested broad-spectrum PCR bei fünf von 25 Kälbern mit BNP circovirale DNA nach, welche dem porcinen Circovirus Typ 2 (PCV2) stark ähnelte. Jedoch verlief die Untersuchung auch bei einem von acht Kontrollkälbern mit einem positiven Ergebnis. Ein Zusammenhang zwischen BNP und der Anwesenheit von Circovirus konnte durch andere Untersucher nicht bestätigt werden (Willoughby et al. 2010). Auch Untersuchungen auf das Blauzungenvirus Serotyp 8 (BTV-8) ergaben ein negatives Ergebnis (Henninger et al. 2014).

### ***Ergebnisse bakteriologischer Untersuchungen***

Im Rahmen der weiterführenden Diagnostik wurde Material, welches von Klinikpatienten oder Patienten aus dem Feld gewonnen wurde oder Material, welches anlässlich von Sektionen entnommen wurde, bakteriologisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen ergaben kein einheitliches Bild. Häufig wurden *Escherichia coli* und *Clostridium perfringens* isoliert. In einigen Fällen konnten Pasteurellen und Pseudomonaden (*Pasteurella multocida* und *Pseudomonas aeruginosa*), Streptokokken, *Trueperella pyogenes* und *Mannheimia haemolytica* nachgewiesen werden (Brugère-Picoux 2009, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). Somit wurde zwar bei den erkrankten Kälbern eine große Anzahl von potentiell pathogenen Bakterien nachgewiesen, eine Assoziation zwischen BNP und einem spezifisch pathogenen Erreger konnte jedoch nicht aufgezeigt werden. Daher wurden die nachgewiesenen Erreger auf die mit der BNP verbundene Immunsuppression zurückgeführt,

die auf der Depletion des lymphatischen Gewebes und des Knochenmarks und der damit einhergehenden schweren Leukopenie und Granulozytopenie beruhte (Kappe et al. 2010).

## **2.4 Bovine Neonatale Panzytopenie – Sektionsbefunde**

Verendete Kälber mit BNP wiesen bei der Sektion meist einen guten Ernährungszustand mit altersgerechtem Körpergewicht auf. Die Tierkörper erschienen hochgradig anämisch und waren demzufolge sehr blass (Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). In der Haut und Unterhaut waren sehr oft multifokale Petechien und/ oder Ekchymosen zu finden, auch in der behaarten Haut konnten Blutungen angetroffen werden. Die erheblichen akuten Hämorrhagien in Organen und Geweben waren die auffälligsten pathologisch-morphologischen Veränderungen bei BNP (Bell et al. 2009b, Bell et al. 2010, Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Kaske et al. 2009, Pardon et al. 2010, Sanchez-Miguel et al. 2010, Smolenaars und Mars 2009, Theron et al. 2010). Besonders häufig wurden Blutungen der Serosa und Mukosa des Gastrointestinaltraktes beschrieben. Darüber hinaus wurden Petechien und größere ekchymotisch bis suffusive Hämorrhagien mit variabler Lymphadenopathie sowie Hämatome in der Media der großen Blutgefäße, in der Skelettmuskulatur, dem Herzen, den Nieren, der Leber, dem Thymus, der Milz und den Meningen beobachtet. Blutdurchtränkter, geleeartiger Darminhalt stellte ebenfalls einen regelmäßig erhobenen Befund dar (Bell et al. 2010, Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010, Theron et al. 2010). Die Synovialflüssigkeit der Gelenke war bisweilen serosanguinös verändert (Pardon et al. 2010).

Im Labmagen der Tiere wurden neben geronnener Milch und Heuresten keine außergewöhnlichen Bestandteile gefunden, auch nicht Bestandteile von Giftpflanzen. Bei einem Teil der Tiere wurden abomasale Erosionen und Ulzerationen beobachtet. Ein sehr markanter Befund bezog sich auf die makroskopische Beschaffenheit des Knochenmarkes, welches als blassrot und fettig beschrieben wurde (Bell et al. 2010, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). Bei etwa der Hälfte der zur Sektion gelangten Kälber wurden zusätzlich zu den bereits genannten Veränderungen folgende Diagnosen dokumentiert: ulzerative bis nekrotisierende Stomatitis, fibrinöse bzw. suppurative Pneumonie, Enteritis, Ösophagitis, Tonsillitis, Tracheitis, Arthritis und Omphalitis (Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Penny et al. 2009).

### **2.4.1 Histopathologische Befunde**

Eine ausgeprägte Hypo- bis Azellularität des hämatopoetischen Gewebes im Knochenmark gehörte zu den Hauptbefunden bei BNP, wobei sich diese in allen hämatopoetischen Zelllinien der erythroiden und myeloiden Zellen in gleichem Ausmaß manifestierte (Panmyelophthise) (Kappe et al. 2010, Witt et al. 2011). Die Vorläuferzellen der Thrombozyten, die

Megakaryozyten, waren besonders stark betroffen (Friedrich et al. 2009a, Laming et al. 2012). Fettmark oder homogenes eosinophiles Gewebe ersetzte das nun fehlende Zellgewebe. Apoptose und fokale Degeneration konnte in vereinzelt übrig gebliebenen Inseln der Vorläuferzellen beobachtet werden (Bell et al. 2013, Kappe et al. 2010). Selten trat eine extramedulläre Hämatopoese auf (Kappe et al. 2010). In Teilen der Rippen wurden vereinzelt bei Kälbern mit BNP große Ansammlungen von Megakaryozyten in den subkortikalen und gelegentlich in den intrakortikalen Lokalisationen angetroffen (Scholes 2009). Die histopathologische Untersuchung verschiedener Gewebe zeigte eine multifokale Extravasation von Erythrozyten (Hämorrhagien). Sowohl die Gewebestruktur der Organe als auch das perivaskuläre Gewebe blieben intakt. Selten wurden Einzelzellnekrosen in der Leber beobachtet (Friedrich et al. 2009a). In der Mehrzahl der Fälle kam es zu einer Depletion des lymphozytären Gewebes, wobei sowohl die Milz als auch die Lymphknoten betroffen waren. Sporadisch wurde eine lymphoide Depletion des Thymus beobachtet (Bell et al. 2013, Pardon et al. 2010). Fibrinöse Pneumonien mit reichlich Exsudat und sehr wenigen neutrophilen Granulozyten wurden als Folgeerkrankungen der BNP betrachtet (Kappe et al. 2010).

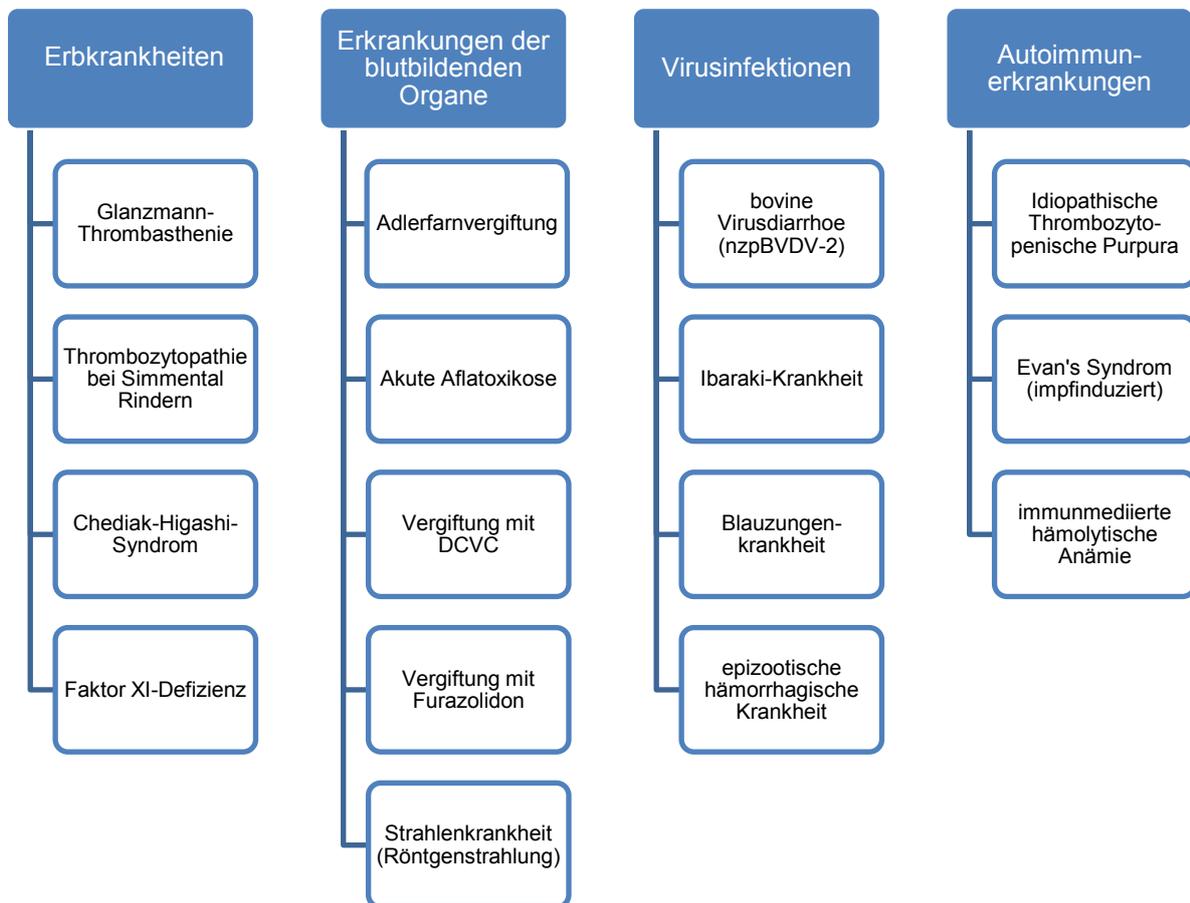
## **2.5 Bovine Neonatale Panzytopenie – Therapie und Prognose**

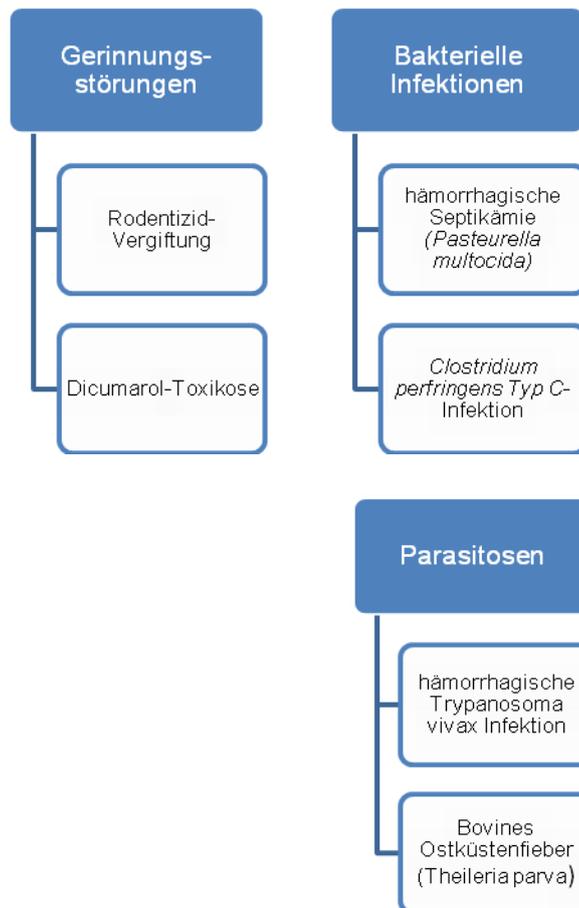
Die Behandlung der BNP gestaltete sich aufwändig und war nur in Ausnahmefällen erfolgreich. Deshalb war die Prognose nach Auftreten massiver klinischer Symptome als infaust einzustufen (Fukunaka et al. 2010, Pardon et al. 2010, Theron et al. 2010). Wurde ein Behandlungsversuch unternommen, stand nach Friedrich et al. (2009a) die Bekämpfung der Folgen der erhöhten Blutungsneigung in Form einer Bluttransfusion an erster Stelle. Auch andere Autoren teilten diese Meinung und berichteten über mindestens eine Bluttransfusion, die sie bei Kälbern mit ausgeprägter Blutungsneigung durchgeführt hatten (Bell et al. 2010a, Friedrich et al. 2009a, Kaske et al. 2009, Pardon et al. 2010, Sanchez-Miguel et al. 2010, Theron, 2010). Die Transfusionen resultierten in einer kurzfristigen Verbesserung des Allgemeinzustandes, konnten jedoch die weitere Abnahme der Thrombozyten- und Leukozytenzahl und dem damit verbundenen „körperlichen Verfall“ der Kälber nicht längerfristig verhindern (Friedrich et al. 2009a, Kaske et al. 2009, Pardon et al. 2010, Sanchez-Miguel et al. 2010). Nur in Ausnahmefällen stabilisierten sich die Erythrozyten-Thrombozyten- und Leukozytenzahlen nach einer Bluttransfusion derart, dass sich die Kälber erholten (Bell et al. 2010a). Zwecks Bekämpfung der Sekundärerkrankungen – vor allem der bakteriellen Infektionen - wurden Antibiotika eingesetzt und zur Bekämpfung des in manchen Fällen beobachteten hohen Fiebers mit nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) kombiniert. Da bereits sehr früh ein immunologisches Phänomen vermutet wurde, erfolgte eine Applikation zum Teil hoher Dosen Dexamethason mit der Absicht, eine immun-vermittelte Reaktion zu dämpfen. Darüber hinaus wurden im Rahmen einer Schockbehandlung und zwecks Förderung

der Blutgerinnung, Vitamin B12, Phytomenadion (Vitamin K), sowie weitere Arzneimittel eingesetzt (Friedrich et al. 2009b, Fukunaka et al. 2010, Kaske et al. 2009, Pardon et al. 2010, Sanchez-Miguel et al. 2010).

## 2.6 Differentialdiagnosen

Erkrankungen der blutbildenden Organe sowie Blutgerinnungsstörungen werden beim Rind sporadisch beobachtet. In der Regel sind Einzeltiere betroffen, im Falle einer Intoxikation oder Infektion können auch größere Tiergruppen erkranken (Bell et al. 2011). Solche Erkrankungen können auf einem Mangel oder einer Dysfunktion einzelner Gerinnungsfaktoren beruhen, sowie auf Abweichungen in der Anzahl oder der Funktion von Thrombozyten. Ursächlich kann ebenfalls eine Depletion des Knochenmarks eine Rolle spielen. Ätiologisch kommen Erbkrankheiten, Intoxikationen, Infektionserreger sowie allo- oder autoimmunvermittelte Phänomene in Frage (Abbildung 1).





**Abbildung 1.** Fließschema zu Differentialdiagnosen und Ursachen von Gerinnungsstörungen und Erkrankungen der blutbildenden Organe beim Rind (nach Stöber et al. 2006).

### 2.6.1 Erblich bedingte Krankheiten

Die Glanzmann-Thrombasthenie (GT) ist eine autosomal rezessiv erbliche Störung der Blutgerinnung, die bei Mensch und Tier vorkommt und die durch eine hochgradig gestörte oder gar fehlende Thrombozytenaggregation gekennzeichnet ist. Die Krankheit wird durch Mutationen der codierenden Gene für die Adhäsionsmoleküle aus dem Integrinkomplex Glykoprotein IIb oder Glykoprotein IIIa verursacht, welche in einem Defekt oder dem vollständigen Fehlen des Glykoprotein IIb/ IIIa-Rezeptors auf den Thrombozyten resultieren (Nurden 2006, Ramasamy 2004).

Eine erstmalig in den USA und Kanada beschriebene Krankheit - ähnlich der Glanzmann-Thrombasthenie - ist die vererbte Thrombozytopathie bei Simmental Rindern (Simmental hereditary thrombopathy). Tiere unterschiedlichen Alters und Geschlechts zeigen spontane Epistaxis, oberflächliche Hämatome, Anämie, sowie starke Nachblutungen nach Traumata oder invasiven Eingriffen. Das Gerinnungssystem sowie die Anzahl und Morphologie der Thrombozyten zeigen keine Abweichungen. Die Aggregation der Thrombozyten ist bei Stimulation mit physiologischen Agonisten wie Adenosindiphosphat oder Kalzium-Ionophoren

jedoch beeinträchtigt oder findet gar nicht statt. Untersuchungen lassen vermuten, dass ein Defekt des Kontrollmechanismus der Kalziumzufuhr besteht (Searcy und Petrie 1990, Steficek et al. 1993).

Eine ebenfalls durch Verminderung der Kollagenantwort und damit der Kalzium-Mobilisation in den Thrombozyten verursachte Blutungsstörung gehört zu den Symptomen einer weiteren autosomal-rezessiven Erbkrankheit – dem Chediak-Higashi-Syndrom. Dieses führt neben spontanen Blutungen zu einer hohen Infektionsanfälligkeit und einer Hypopigmentation der Haare und Haut. Betroffen sind Hereford Rinder und das Japanische Schwarze Rind, aber auch Brangus Rassen (Shiraishi et al. 2002).

Ein weiteres Beispiel für autosomal-rezessive Erbkrankheiten ist die selten vorkommende Faktor XI-Defizienz. Diese Störung des Gerinnungsfaktors XI betrifft den intrinsischen Weg in der Gerinnungskaskade und kommt vorrangig bei Rindern der Rasse Holstein Friesian vor. Sie kann bei homozygoten Tieren (kein Faktor XI-Protein vorhanden) zu verlängerten Blutungszeiten nach Traumen führen sowie zu Anämie, Blutmelken und einer erhöhten Infektanfälligkeit. Im Gerinnungstest ist bei homozygoten Tieren stets die aktivierte partielle Thromboplastinzeit verlängert. Heterozygote Träger sind jedoch von normalen Tieren kaum zu unterscheiden (Gentry und Brush 1987, Gentry und Ross 1994, Meydan et al. 2009). Der in der Humanmedizin auch Hämophilie C (oder Rosenthal-Syndrom) genannte hereditäre Faktor XI-Mangel wird durch Genmutationen des Faktor XI-Gens ausgelöst, und führt zu erheblichen Blutungen nach Traumen (Gomez und Bolton-Maggs 2008). Die Mutation auf Chromosom 27 ist eine 76 base pair (bp) Insertion im Exon 12 des Faktor XI. Diese resultiert in dem Einbau eines Stopcodons, welches den Aufbau des vollständigen Proteins verhindert (Marron et al. 2004). Generell gilt die Krankheit nicht als letal, einige Kälber verenden jedoch nach der Geburt infolge innerer Blutungen (Gentry und Brush 1987).

### **2.6.2 Intoxikationen**

Verschiedene Gifte oder auch starke Bestrahlung können zu einer Zerstörung des Knochenmarks führen, in deren Folge es zu einer Anämie, einer Immunsuppression und infolge fehlender Thrombozytenproduktion auch zu Blutgerinnungsstörungen kommt (Bell 2011, Johannsen et al. 1978).

Besonders in Südamerika, aber auch in Europa ist die Vergiftung mit Adlerfarn (*Pteridium aquilinum*) nach wochen- bis monatelanger Aufnahme anzutreffen. Diese führt zu drei verschiedenen Erkrankungsformen, wobei zwei Ausprägungen chronischer und neoplastischer Natur sind. Neben squamösen Zellkarzinomen des oberen Verdauungstraktes und verschiedenen Tumoren der Harnblase (Synonym: Bovine Enzootische Hämaturie) ist die dritte Erkrankungsform die sogenannte akute Adlerfarnvergiftung. Diese beinhaltet eine

irreversible Knochenmarksaplasie mit generalisierter Blutungsneigung. Die Tiere weisen unter anderem schwere Anämien, Thrombozyto- und Leukopenien auf (Anonym 2009a, Bell 2011, Gava et al. 2002, Perez-Alenza et al. 2006). Zu den klinischen Erscheinungen zählen Fieber, Apathie, Blutungen aus Nase und Gastrointestinaltrakt, sowie Petechien der sichtbaren Schleimhäute (Anjos et al. 2008). In der Sektion sind neben dem durch Fettmark ersetzten Knochenmark Hämorrhagien in verschiedenen Organen und Geweben anzutreffen, besonders zahlreich vor allem in Magen und Dünndarm (Anonym 2009a). Die akute Adlerfarnvergiftung konnte mit dem Toxin Ptaquilosid, welches neben anderen Toxinen in der Pflanze enthalten ist, ausgelöst werden (Hirono et al. 1984). Bei langzeitiger Aufnahme gelangt das Toxin in die Milch laktierender Kühe und wird über diese auch ausgeschieden (Alonso-Amelot 1996).

Über das Futter und die Einstreu aufgenommene Mykotoxine wie Aflatoxine aus Aspergillus-Arten und makrozyklische Trichothecene (T2-Mykotoxin), produziert von Stachybotrys- und Fusarium-Arten, haben immunsuppressive aber auch neurotoxische und hämolytische Wirkungen (Agag 2005, Corrier 1991, Kuhn und Ghannoum 2003, Loretto et al. 2003, Mirocha et al. 1976, Segal et al. 1983). Aflatoxine und T2-Toxine unterbinden vorrangig die Proteinsynthese, letztere auch sekundär die DNS- und RNS-Synthese, besonders in sich aktiv teilenden Zellen (Agag 2004, Kuhn und Ghannoum 2003). Smith et al. (1994) konnten bei Experimenten mit Mäusen feststellen, dass die Aufnahme von T2-Toxinen zu einer stark ausgeprägten Hypozellularität des Knochenmarks führt. Außerdem kann die Aggregation von bovinen Thrombozyten bei Zugabe von Adenosindiphosphat (ADP) oder Kollagen durch das T2-Toxin gehemmt werden (Chan und Gentry 1984). Adulte Rinder sind für gewöhnlich - geschützt durch den ruminalen Stoffwechsel - weniger von den toxischen Effekten der T2-Toxine und Aflatoxine betroffen; dieses gilt nicht für Kälber. McKenzie et al. (1981) beobachtete eine akute Aflatoxikose bei Kälbern. Neben Vergiftungserscheinungen wie Depression, Diarrhoe, Anorexie und Ikterus zeigten sich im Sektionsbild unter anderem Hämorrhagien in verschiedenen Geweben wie Skelettmuskulatur und Lymphknoten sowie Hepatozytenvergrößerungen.

Toxische Produkte können ebenfalls direkt mit der Gerinnungskaskade interferieren. Dazu gehört neben dem Warfarin, welches über im Stall ausgelegte Rodentizide in die Tiere gelangen kann, auch die Dicumarol-Toxikose durch die Aufnahme von vergorenem Steinklee (Gattung: *Melilotus*) oder gewöhnlichem Ruchgras (*Anthoxanthum odoratum*). Die natürlich in diesen Pflanzen vorkommenden Cumarine und Melitotine können während der Herstellung von Heu und Silage durch Schimmelpilze zu dem toxischen Cumarinderivat Dicumarol konvertieren. Dieses Toxin wirkt als Antagonist zu Vitamin K im Körper des Tieres und hemmt dadurch maßgeblich Vitamin K-abhängige Gerinnungsfaktoren (VII, IX, X und Prothrombin)

(Bartol et al. 2000, Dwyer et al. 2003, Radostits et al. 1980, Yamini et al. 1995). Kälber sind für gewöhnlich anfälliger als erwachsene Tiere und können auch als Neonat bereits Symptome zeigen, wenn die Mutter über das Futter Dicumarol aufgenommen hat. Der Übergang von Dicumarol vom adulten Rind auf das Ungeborene durch die Plazenta wird diskutiert (Dwyer et al. 2003, Radostits et al. 1980). Bei physiologischer Thrombozytenkonzentration ist die Prothrombinzeit (PT, Quick-Test) und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit deutlich verlängert (Bartol et al. 2000). Die Tiere weisen massive Hämorrhagien in subkutanem und serösem sowie Gelenk- und Muskelgewebe auf, welche in deutlichen Schmerzsymptomen wie Lahmheit und Steifheit resultieren. Charakteristisch ist auch das stark verlängerte Nachbluten nach Injektionen (Radostits et al. 1980, Yamini et al. 1995).

Oral aufgenommen werden kann auch das Toxin S- (1,2-dichlorovinyl)-L-cystein (DCVC), welches in mit heißem Trichloräthylen extrahiertem Sojaschrot, einem Futtermittel für Kälber, enthalten sein kann. Bei Kälbern, Rindern und Pferden schädigt das Toxin, im Gegensatz zu vielen anderen Tierarten, durch die Metabolisierung von DCVC durch das Enzym Cysteinkonjugat beta-Lyase und die daraus folgende Entstehung reaktiver Substanzen indirekt das Knochenmark und führt zu einer aplastischen Anämie (Lock et al. 1996, McKinney et al. 1957, Rundles 1958, Schultze et al. 1959, Terracini und Parker 1965). Die rasche Depletion der Vorläuferzellen im Knochenmark resultiert in schweren Lympho- und Leukopenien (McKinney et al. 1957). Die Thrombozytenzahlen bleiben bis zu 14 Tage lang innerhalb des Referenzbereichs, fallen dann jedoch stark ab. Petechiale und ekchymotische Einblutungen wurden besonders in der Lunge, der thorakalen Pleura sowie in der Mukosa und Serosa der Därme beobachtet (Schultze et al. 1959). Bei sehr geringen Dosen, beispielsweise durch eine inkonstante Aufnahme über das Futter, entwickeln die Tiere nur langsam Blutbildveränderungen in Form einer Panzytopenie sowie eine Hypozellularität des Knochenmarks. Wird kein Toxin mehr zugeführt, so erholen sich diese Tiere vollständig (Rundles 1958). Da das Toxin im Körper der Kälber sehr schnell verstoffwechselt wird, und nur geringste Mengen im Knochenmark nachgewiesen werden konnten, gehen Derr et al. (1963) von der Bildung eines Antagonisten unter Mitwirkung des Toxins aus.

Auch Arzneimittel können Schäden am Knochenmark verursachen. Um Durchfall und Lungenentzündungen zu vermeiden, wurde Kälbern in der Vergangenheit oral über den Milchaustauscher das Chemotherapeutikum Furazolidon verabreicht. Bei Gabe von Furazolidon in der ersten Lebenswoche resultierte die Behandlung bei Kälbern ab einem Alter von drei Wochen in einer Panmyelopathie bzw. Panmyelophthise und einer daraus resultierenden Panzytopenie (Hayashi et al. 1976). Die Kälber wiesen typische Anzeichen wie Anämie, multiple Petechien am ganzen Körper und großflächige Hämorrhagien, Ulzerationen der Darmwand sowie ein blasses Knochenmark auf. Histologisch auffällig waren neben

Veränderungen an der Leber und den Nieren vor allem die Hypo- oder Aplasie des Knochenmarks und dessen ödematöses Stroma (Hayashi et al. 1976, Hoffmann et al. 1974, Hoffmann et al. 1974a, Hofmann 1972). In Europa ist der Einsatz von Furazolidon bei lebensmittelliefernden Tieren seit 1995 verboten.

Röntgenstrahlung kann bei Ganzkörper-Bestrahlung von Kälbern schwere Läsionen an hämatopoetischem Gewebe auslösen. Folgen werden besonders in der Granulo-, Lympho- und Thrombozytopoese (Strahlenkrankheit) deutlich. Zytopenien im Blutbild und hämorrhagische Diathese sind die Folge. Des Weiteren leiden die Kälber häufig zusätzlich an Pneumonie, Leberdegeneration und Enteritis durch eine stark eingeschränkte zelluläre Immunabwehr (Johannsen et al. 1978). Im Zuge von Untersuchungen nach dem Reaktorunglück in Tschernobyl wurde festgestellt, dass die ionisierende Strahlung bei Kälbern der exponierten Mütter zu einem reduzierten Geburtsgewicht, stark verlangsamten Wachstum und Zwergwuchs führte (Mez et al. 2010).

### **2.6.3 Infektionskrankheiten mit Folgen für die Blutgerinnung**

#### ***Virusinfektionen***

Die postnatale Infektion mit dem nicht zytopathogenen Bovinen Virus Diarrhoe Virus Typ 2 (nzbVDV-2) kann bei geringer Virusvirulenz subklinisch, bei hoher Virulenz allerdings hoch akut mit oder ohne Hämorrhagie verlaufen (Baker 1995). Im Verlauf einer primären Infektion, verursacht durch das nzbVDV-2, treten neben anfänglichem Fieber nach etwa sieben bis acht Tagen schwere Neutro-, Lympho- und Thrombozytopenien auf (Ellis et al. 1998). Im Knochenmark fällt die Abnahme der reifen myeloiden Zellen auf, welche, einhergehend mit der verminderten Produktion von neutrophilen Granulozyten, zu einer Neutropenie führt (Keller et al. 2006). Eine starke proliferative Antwort im Fall einer Infektion spiegelt sich in einer aktiven Megakaryozytenneubildung im Knochenmark wider, ein Befund, der die Abgrenzung der Infektion mit dem nzbVDV-2 von der BNP ermöglicht. Es wird davon ausgegangen, dass im Falle der Infektion mit nzbVDV-2 die Thrombozytopenie - ähnlich wie im Falle der Europäischen Schweinepest - auf einer direkten Zerstörung, Sequestration oder einem erhöhten Verbrauch von Thrombozyten beruht (Corapi et al. 1989, Spagnuolo et al. 1997, Wood et al. 2004). Bei der Infektion mit hoch virulenten Stämmen wurde BVDV-Antigen in Knochenmarkszellen, besonders in den Megakaryozyten, aber auch gelegentlich in Thrombozyten nachgewiesen. Neben klinischen Symptomen wie Anorexie, teilweise blutigem Durchfall, Dyspnoe und Epistaxis (circa 8-14 Tage *post infectionem* (*pi*)) und der profusen Nachblutung aus der Haut nach Injektionen oder Insektenstichen fallen pathohistologisch die lymphoide Depletion und eine reduzierte folliculäre Größe im Thymus, Ileum und in der Milz

auf. Petechien und Ekchymosen der Schleimhäute wurden ebenfalls beobachtet (Rebhun et al. 1989, Walz et al. 1999, Wood et al. 2004).

Die Ibaraki-Krankheit, die Blauzungkrankheit (Bluetongue Disease, BT) und die epizootische hämorrhagische Krankheit (Epizootic Haemorrhagic Disease, EHD) gehören zu den sogenannten „Hämorrhagischen Erkrankungen“. Sie werden durch Orbiviren verursacht, wobei das Blauzungenvirus (BTV) jedoch deutliche Unterschiede zu den beiden anderen EHD-Viren (EHDV) aufweist (Yadin et al. 2008). Mittlerweile sind zehn Serotypen des EHDV bekannt, darunter unter anderem der Serotyp 2, welcher die Ibaraki-Krankheit bei Rindern in Japan auslöst (Bréard et al. 2004, Inaba 1975, Omori et al. 1969). Ursprünglich wurden Infektionen mit EHDV bei Wildwiederkäuern festgestellt, bei denen sie schwere hämorrhagische Septikämien und - damit verbunden - eine hohe Mortalität bedingen. In Nordamerika, Australien, Asien, Afrika und im Nahen Osten wurde EHDV mittlerweile auch von Rindern stammendem Material isoliert (Bréard et al. 2004, House et al. 1998, Inaba 1975, Temizel et al. 2009, Yadin et al. 2008). Bei Hausrindern sind die Symptome milder und ähneln denen der Blauzungkrankheit. Neben Ödemen im Kopfbereich, oralen Erosionen, Nasenausfluss, Lahmheit und Fieber sind eine Leukopenie und Petechien auf den Spitzen der lingualen und buccalen Papillae auffällig (House et al. 1998, Omori et al. 1969, Temizel et al. 2009). Eine Auslösung der Symptome der EHD bei Kälbern gelang im Experiment jedoch nicht (Aradaib 1994). Orbiviren werden durch blutsaugende Insekten (*Culicoides sp.*) übertragen, daher treten Infektionen saisonal auf (Sellers und Maarouf 1991, Yadin et al. 2008).

### **Bakterielle Infektionen**

Die Infektion mit den Serotypen B und E des gramnegativen Erregers *Pasteurella multocida* führt bei Rindern und Büffeln zu der sogenannten hämorrhagischen Septikämie (HS). Unter den Virulenzfaktoren befinden sich Lipopolysaccharide, welche beim Eintritt in die Blutzirkulation eine schwere Endotoxämie bei den Tieren hervorrufen (Horadagoda et al. 2001). Generelle Hyperämie, multiple petechiale Hämorrhagien und Ödeme, bei aerogener Infektion besonders des Respirationstraktes und an Kopf und Hals der Tiere, sind markante Befunde. Der Verlauf der Krankheit ist rasch und führt meist zum Tod (Harper et al. 2006, Rhoades et al. 1967).

Die akute hämorrhagische Enteritis des Kalbes wird durch eine Infektion mit dem anaeroben, gram-positiven Bakterium *Clostridium perfringens Typ C* ausgelöst. Akute Kolik, Hämorrhagien in das Lumen des Ileums und Jejunums sowie blutiger Kot sind charakteristische Symptome der Erkrankung, die auch unter der Bezeichnung „Haemorrhagic Bowel Syndrome“ geführt wird. Bei der Sektion finden sich Petechien und Ekchymosen besonders an Epikard und Thymus (Griner und Bracken 1953).

## **Parasitosen**

Die akute hämorrhagische *Trypanosoma vivax* Infektion führt bei Kälbern zu Anämie, Thrombozytopenie und Leukopenie. Die in Afrika und Südamerika vorkommenden Protozoen werden durch die Tsetse-Fliege übertragen. Im Knochenmark nimmt die Zahl der Megakaryozyten deutlich zu, im Laufe der Infektion jedoch auch die der Makrophagen, welche Normoblasten, eosinophile und neutrophile Myelozyten, Metamyelozyten, Retikulozyten, Erythrozyten und Thrombozyten stark phagozytieren. Somit können die Dyserythropoese und Dysgranulopoese als Gründe für die bestehende Anämie und die Granulozytopenie genannt werden (Anosa et al. 1992). *Theileria parva* aus der Ordnung Piroplasmida ist ein Protozoon, welches besonders in Zentral- und Ostafrika das sogenannte bovine Ostküstenfieber (East Coast Fever, ECF) verursacht (Dolan 1989, Shaw et al. 1991). Mit Zecken (*Rhipicephalus* spp.) als Vektoren, verursachen die Parasiten hämatologisch eine schwere Anämie, Panzytopenie und Parasitämie, symptomatisch Fieber, subkutane Ödeme, Durchfall, Petechien unter der Zunge, Schwäche und serösen Nasenausfluss. Schizonten können in Lymphknoten und Metamyelozyten im Knochenmark nachgewiesen werden. Das Knochenmark ist hypozellulär und weist nur wenige Vorläuferzellen auf. Die Erkrankung wurde zwischen Juni und Oktober stark gehäuft beobachtet (Mbassa et al. 1994).

### **2.6.4 Disseminierte intravasale Koagulopathie**

Die Disseminierte Intravasale Koagulopathie (Verbrauchskoagulopathie, DIC), eine durch den übermäßigen Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten im Blutgefäßsystem geprägte, Blutgerinnungsstörung kann aufgrund vieler verschiedener Ursachen, z. B. durch einen Schockzustand oder schwere Sepsis hervorgerufen werden (Irmak et al. 2006). Sowohl die Präsenz von bakteriellen Lipopolysacchariden als auch von Antigen-Antikörper-Komplexen während einer Virämie sowie von Endotoxinen kann zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems führen (Gando et al. 1998, Jain 1993, Thomsen et al. 1974). Schreitet die Entzündungsreaktion fort, so kann ein systemischer hyperkoagulatorischer Zustand in eine Hypokoagulation mit den schweren Hämorrhagien einer DIC umschlagen (Weiss und Rashid 1998). Es kann ebenso parasitärer Befall mit einer DIC einhergehen. So sind bei Kälbern beispielsweise Fälle von schweren Infektionen mit *Babesia bovis (argentina)* bekannt, bei denen die Tiere neben einer Thrombozytopenie, Leukopenie und vermindertem Fibrinogen histopathologisch weit verteilte Thromben in Kapillaren und größeren Gefäßen der Organe aufwiesen (Dalglish et al. 1976). Histologisch können drei verschiedene Typen von Mikrothromben gefunden werden: Fibrinthromben, Thrombozytenaggregationen und kugelförmige Hyalinthromben (auch Schockkörper genannt), die als morphologische Indikatoren von Störungen der Mikrozirkulation und der Hämostase gelten (Harms 1971, Oehmichen et al. 1986). Üblicherweise wird anhand des Auftretens mehrerer

Gerinnungsabnormalitäten wie etwa eine verlängerte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Prothrombinzeit (PT), Thrombinzeit (TT), eine verringerte Konzentration von Gerinnungsfaktoren (Faktoren V, VIII) und erhöhte Antithrombin III (AT III)-Konzentrationen, eine Thrombozytopenie (durch starke Gerinnung), eine Hypofibrinogenämie und des Auffindens von Fibrin/Fibrinogen-Abbauprodukten (Anzeige einer Fibrinolyse) und Schistozyten die labortechnische Diagnose der DIC gestellt (Bovill 1994, Keyes et al. 1993). Keine der Laboruntersuchungen ist jedoch einzeln pathognomonisch für die DIC (Morris 1990).

### **2.6.5 Immunvermittelte Phänomene**

Es finden sich in der Literatur verschiedene immunvermittelte Erkrankungen. Die immunmedierte Thrombozytopenie (IMT) kann in zwei Formen eingeteilt werden: die primäre Form (idiopathisch) und die sekundäre Form. Die primäre Form der IMT, auch idiopathische thrombozytopenische Purpura (ITP) genannt, ist durch eine Thrombozytopenie gekennzeichnet, deren auslösende Ursache nicht genau bekannt ist (George et al. 1994). Bei der sekundären IMT handelt es sich entweder um ein Autoimmun- oder Alloimmunphänomen, dem die Bildung von Antikörpern zugrunde liegt, die gegen Oberflächenstrukturen auf den Thrombozyten gerichtet sind. Zu solchen Strukturen gehört das Glykoprotein IIb/IIIa. Infolge der Bindung von Antikörpern an diese Strukturen werden die zirkulierenden Thrombozyten vorzeitig durch Makrophagozytose (das Retikuloendothelialsystem) zerstört (Karpatkin 1980, Lewis und Meyers 1996a). Mukokutane Petechien, Hämorrhagien, Epistaxis, Melaena und Anorexie sind einige der Symptome einer solchen immunvermittelten Reaktion (Jackson und Kruth 1985, Yeruham et al. 2003). Die Hämatopoese im Knochenmark, besonders die Megakaryozytopenie, kann, muss aber nicht verändert sein. Die Erkrankung wurde mehrmals bei Hunden, jedoch nur sehr selten beim Rind beschrieben (Chang et al. 2003, Lewis und Meyers 1996b, Lunn und Butler 1991, McMillan et al. 1978). Ein zehn Monate alter Holstein-Bulle wurde mit Petechien in der Sklera und der Haut und Hämaturie vorgestellt. Die hämatologische Untersuchung ergab bei diesem Tier eine Anämie und eine schwere Thrombozytopenie (2 G/l). Die Untersuchung der Funktion der Gerinnungsfaktoren einschließlich der Bestimmung des Fibrinogengehaltes wiesen laut den Autoren keine Abweichungen auf, mussten jedoch in Zusammenhang mit der vorherigen Bluttransfusion gesehen werden. Die Anzahl der Megakaryozyten im Knochenmark war erhöht. Wenige Wochen vor der Krise waren Totimpfstoffe verabreicht worden, jedoch konnten diese nicht in Zusammenhang mit der Erkrankung gebracht werden. Nach Vollbluttransfusionen und Glucocorticoid-Gabe erholte sich das Tier im Laufe von drei Tagen (Lunn und Butler 1991). In dem Zusammenhang mit Impfkomplikationen werden z.B. beim Hund immunmedierte hämolytische Anämien und Thrombozytopenien beschrieben (Peichl 2013). Ein Fall wurde 2003 bei einem tragenden Holstein-Rind in Israel einige Tage nach Immunisierung mit

Botulinumtoxin beobachtet. Das Tier zeigte Hämorrhagien im Kopfbereich, starke Epistaxis sowie Tachykardie und Tachypnoe. Auf der Basis der Anwesenheit von Spherozyten, Erythrophagozytose, Autoagglutination, thrombozytenbindenden Autoantikörpern, einer makrozytischen Anämie und einer Thrombozytopenie wurde die vorläufige Diagnose „Evan’s Syndrome“ gestellt, welches auf einer ITP und einer immunmedierten hämolytischen Anämie (IMHA) beruht. Nach der Behandlung mit Dexamethason verbesserte sich der Zustand des Tieres, allerdings gab es phasenweise Rückfälle. Nach der Schlachtung konnten ein perineales Hämatom und extramedulläre Hämatopoese in der Milz nachgewiesen werden (Yeruham et al. 2003). Die Diagnose ITP bzw. Evan’s Syndrome wurde in beiden Fällen aufgrund der Laborbefunde und des Ausschlusses anderer Erkrankungen gestellt. Beobachtet wurden auch Kreuzreaktionen von Adjuvantien und Antigenen nach der Impfung (Dobrev et al. 1980). Bei Schweinen wurde in experimentellen Studien nach Anwendung einer gegen die Aujeszky’sche Krankheit gerichteten Vakzine mit einer hohen Dosis Impfantigen sowohl eine immunvermittelte hämolytische Anämie als auch eine Leukozytopenie beobachtet (Dobrev et al. 1980). Ein weiteres immunvermitteltes Phänomen stellt die Neonatale (oder auch Fetale Alloimmun-vermittelte Thrombozytopenie (NAIT; FAIT), einer selten auftretenden Blutungsneigung des Ungeborenen bzw. Neugeborenen dar, die vor allem beim Menschen vorkommt. NAIT bzw. FAIT ist eine Störung, welche auf einer maternalen Alloimmunisierung gegen fetale Thrombozytenantigene beruht. Diaplazentar übertragene fetale Thrombozyten mit spezifisch paternalen Antigenen, die nicht auf den maternalen Blutplättchen vorhanden sind, werden dabei von maternalen IgG-Antikörpern erkannt und zerstört (Dale und Coleman 2002, Kaplan 2003). Aufgrund der hohen Durchlässigkeit der menschlichen Plazentarschranke treten die Folgen einer NAIT bereits beim ungeborenen Fötus auf. Bereits in der 14. Schwangerschaftswoche der Frau überwinden maternale IgG-Alloantikörper die plazentare Barriere, ab der 18. Schwangerschaftswoche sind die fetalen Alloantigene voll exprimiert (Gruel et al. 1986, Kaplan et al. 1985). Während des Geburtsvorgangs können aufgrund der bestehenden Thrombozytopenie bei den Neonaten lebensbedrohliche intrakraniale Blutungen entstehen (Cota et al. 2008, Kaplan 2003). Bei dem Rind wurde diese Erkrankung jedoch nicht beobachtet, bei welchem, im Gegensatz zum Menschen, durch die Plazenta epitheliochorialis die Blutkreisläufe von Muttertier und Fötus streng voneinander getrennt sind. Zudem wurde ein Übertritt von maternalen Antikörpern in den fetalen Kreislauf beim Rind frühestens zwei Wochen vor dem Partus festgestellt (Newman und Hines 1980). Um eine Impfkomplication handelt es sich, wenn es infolge einer Impfung zu einem vorübergehenden therapiebedürftigen gesundheitlichen Ereignis bzw. zu bleibenden Schäden kommt. In diesem Zusammenhang werden z.B. beim Hund immun-medierte hämolytische Anämien und Thrombozytopenien beschrieben (Peichl 2013).

Beobachtet wurden auch Kreuzreaktionen von Adjuvantien und Antigenen nach der Impfung (Dobrev et al. 1980). Bei Schweinen wurde in experimentellen Studien nach Anwendung einer gegen die Aujeszky'sche Krankheit gerichteten Vakzine mit einer hohen Dosis Impfantigen sowohl eine immunvermittelte hämolytische Anämie als auch eine Leukozytopenie beobachtet (Dobrev et al. 1980).

## **2.7 Zusammenfassende Betrachtung von Ätiologie und Pathogenese der BNP**

Die Erbkrankheit, die beim Simmentaler Rind bekannt ist – die Glanzmann Thrombasthenie – konnte für die Kälber, die BNP aufwiesen, ausgeschlossen werden, da Kälber verschiedener Rassen und Nutzungsrichtungen betroffen waren (Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). Krappmann et al. (2011) führten zudem eine Sequenzanalyse des Exon 12 und der anderen 14 Exons für das den bovinen Gerinnungsfaktors XI (F11) kodierenden Gens durch. Dabei wurden Variationen einzelner Basenpaare in der DNA-Sequenz, sogenannte Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNP; single nucleotide polymorphisms), in den Exons 7, 12 und 14 nachgewiesen, nicht jedoch die 76 base pair (bp) Insertion im Exon 12. In der Sequenzierung war letztendlich kein Genotyp spezifisch für Kälber mit BNP. Für einen hereditären Hintergrund sprach eine Stammbaumanalyse (von vier Generationen), in welcher eine signifikante Häufung von BNP-Fällen in der Nachkommenschaft einer F<sub>1</sub> Bullenlinie in einer spezifischen F<sub>2</sub> Studienpopulation aus Charolais- und Deutsch Holstein-Blutlinien nachgewiesen werden konnte (Demasius et al. 2014, Krappmann et al. 2011). Auch Ballingall et al. (2011a) analysierte die Genetik britischer Holstein-Friesian Kälber mit BNP im Hinblick auf eine Prädisposition der Tiere. Hierbei wurde der Fokus auf den Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) Klasse II gerichtet. MHC Klasse II-Komplex Moleküle besitzen eine immunregulatorische Funktion und sind für die Immunerkennung bedeutsam. Polymorphismen in den MHC Genen bewirken Variationen (Spezifitäten) in der Immunantwort und korrelieren mit der Entwicklung von Autoimmunerkrankungen (Handunnetthi et al. 2010, Sinha et al. 1990). Die Aufrechterhaltung der Selbsttoleranz und Antikörperproduktion, sowie die Bestände von eigenen, impf- oder pathogen-abstammenden Peptidantigenen, die CD4<sup>+</sup>-T-Zellen präsentiert werden, werden direkt von der Vielfalt der Allele an MHC Klasse II *Loci* beeinflusst (Garcia et al. 1999). Der MHC Klasse II *DRB3 Locus* weist beim Rind besonders viele Allel-Diversitäten auf. Folglich wurde die DNS von 43 BNP-Fällen sowie von 68 gesunden Kontrolltieren in Hinsicht auf den MHC Klasse II *DRB3 Locus* mithilfe einer Sequenz-basierten Typisierung des polymorphen zweiten Exons untersucht. Zusätzlich wurde der Zusammenhang zwischen der MHC Diversität und der Inzidenz für BNP in der Holstein Population begutachtet. Dies geschah unter anderem hinsichtlich der An- oder Abwesenheit von *DRB3*-Allelen in den Individuen sowie hinsichtlich der Unterschiede in MHC Allelfrequenzen bei erkrankten und gesunden Tieren. Sowohl die Anzahl der bezüglich der

Allelfrequenz homozygoten Tiere in der BNP- und Kontrollgruppe als auch die Proportionen für Individuen aus beiden Gruppen für verschiedene Bovines Leukozytenantigen (*BoLa*)-*DRB3* Allele waren nicht signifikant unterschiedlich. Somit wurde kein Hinweis auf den Zusammenhang zwischen der Diversität auf dem *BoLa-DRB3 Locus* und der Entwicklung von BNP im Holstein Rind gefunden (Ballingall et al. 2011a).

Die Fütterung der Tiere, die an BNP erkrankten, bzw. deren Mütter wurde hinsichtlich der Kontamination mit Adlerfarn und Schimmelpilzen überprüft. Adlerfarn war auf keinem der Betriebe ein Bestandteil im Raufutter, da es selten auf deutschem Weideland vorkommt. Nur ein Landwirt berichtete von Gesundheitsproblemen aufgrund von schimmeligem Futter oder Einstreu. Eine Kontrolle des Stroh auf dem Betrieb erbrachte jedoch keine positiven Mykotoxin-Nachweise (hinsichtlich Aflatoxin B1 und Toxinen von *Stachybotrys chartarum*). Rodentizide wurden zwar auf den Betrieben, in denen Fälle von BNP vorkamen, eingesetzt, eine Vergiftung wurde jedoch von den Tierbesitzern ausgeschlossen. Nieren- und Lebergewebe, Urin und Blut wurden zum Ausschluss der Aufnahme von toxischen Substanzen wie Trichloräthylen, Dichlorovinylcystein (DCVC) und seinem Metabolit N-actyl-DCVC, Furazolidon oder Antikoagulantien verwendet. Alle Tests ergaben negative Resultate (Schneller, persönliche Kommunikation 10.09.2010). Die Medikamente Metamizol und Sulfamethazin/ Trimethoprim wurden in einigen Kälbern gefunden, wurden jedoch als Rückstände der Therapeutika kurz vor dem Tod der Kälber interpretiert. Keines der Kälber mit BNP wurde Ganzkörper-Röntgenbestrahlung ausgesetzt.

Eine Untersuchung auf BVD (BVDV Typ 2) und auf das Blauzungenvirus erfolgte bei allen Kälbern mit BNP, wobei bis auf wenige Ausnahmen weder virale Antigene noch die Anwesenheit von viralen Genomen nachgewiesen werden konnten (Bell et al. 2009, Bell et al. 2010b, Brugère-Picoux et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Henninger et al. 2014, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010, Sanchez-Miguel et al. 2010, Theron et al. 2010, Willoughby et al. 2009, Witt et al. 2011). Des Weiteren wurde auf eine Infektion mit Circoviren untersucht, wobei lediglich letzteres vereinzelt positive Ergebnisse erbrachte (Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). Fünf von 25 erkrankten Kälbern und eines von acht Kontrollkälbern wiesen in einer Circovirus-PCR DNA, die zu 99 Prozent mit Nucleotid-Sequenzen von PCV2 übereinstimmte, auf (Kappe et al. 2010). In Versuchen anderer Studiengruppen konnte die Anwesenheit und der Einfluss von Circoviren bei BNP-Erkrankungen nicht bestätigt werden (Holliman et al. 2010, Müller et al. 2009, Willoughby et al. 2010). Wie schon unter 2.1.5 erwähnt, konnten keine Bakterien oder Parasiten durchgehend bei Kälbern mit BNP gefunden werden, so dass diese als monokausale Ursache für BNP ausgeschlossen werden können.

Nachdem sowohl Infektionserreger und Toxine als auch Erbkrankheiten der blutbildenden Organe oder des Gerinnungssystems ausgeschlossen werden konnten, wird auf Grundlage von Beobachtungen im Feld, von Ergebnissen von Laboruntersuchungen und sowie Beobachtungen im Zusammenhang mit der experimentellen Induktion der BNP durch Verabreichung von Kolostrum, das von Müttern von Kälbern mit BNP stammte, ein multifaktorielles Geschehen angenommen (Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010). Im Fokus dieser Betrachtungen liegen die besonderen genetischen und immunologischen Eigenschaften des Muttertieres und des Kalbes, die Impfung gegen BVDV mit dem Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) und die Verabreichung der Biestmilch (Bastian et al. 2011, Bridger et al. 2011, Demasius et al. 2014, Deutskens et al. 2011, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2008, Friedrich et al. 2011, Pardon et al. 2011, Schröter et al. 2014).

### **2.7.1 Immunpathogenese**

Aufgrund der epitheliochorialen Plazenta des Rindes kann der Übergang von maternalen Antikörpern auf das Ungeborene *in utero* nahezu ausgeschlossen werden. In Studien von Newman and Hines (1980) wurde ein Übertreten fetaler Lymphozyten mit Antikörperbildung beim Muttertier erst ab etwa zwei Wochen vor der Geburt nachgewiesen. Dennoch geht man von einer Immunisierung des Muttertieres aus, das auf eine Stimulation mit Alloantigenen mit der Bildung von Alloantikörpern reagiert. Solche Alloantikörper, die mit dem Kolostrum des Muttertieres nach der Geburt übertragen werden, können gleichfalls gegen Eigenschaften der Körperzellen des Kalbes gerichtet sein. Untersuchungen mittels Fluorescence-Aided-Cell Analysis (FACS) zeigten bei Kälbern, die Kolostrum aufgenommen hatten, welches von Müttern von Kälbern mit BNP stammte, dass deren Lymphozyten und Monozyten mit Alloantikörpern besetzt waren (Bridger et al. 2011). Bridger et al. (2011) und Pardon et al. (2011) versetzten Leukozyten von Spenderkälbern (ohne BNP-Vorgeschichte) mit Serum von Müttern, deren Kälber BNP entwickelten. Obgleich grundsätzlich eine gewisse Bindung von Antikörpern des Donortieres an die Immunzellen des Kalbes unterstellt werden muss, beobachteten Pardon et al. (2011) eine signifikant höhere mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) auf Leukozyten von Kälbern, die zuvor mit Serum von Müttern inkubiert worden waren, die ein Kalb, das später an BNP erkrankte, zur Welt gebracht hatten. Die Titer an Alloantikörpern waren bei den Müttern von Kälbern mit BNP ebenfalls signifikant höher als im Falle von Kontrollseren. Auffällig waren dabei die stark variierenden individuellen Alloantikörpertiter der Mütter von Kälbern mit BNP. Hohe und zum Teil moderate Titer führten bei den zugehörigen Kälbern zu schweren Symptomen und einem tödlichen Krankheitsverlauf, niedrigere Titer bedingten lediglich einen kurzzeitigen Abfall der Leuko- und Thrombozytenzahlen (Bridger et al. 2011).

## 2.7.2 Induktion von Alloantikörpern nach Impfung

### *Impfungen gegen das Bovine Virus Diarrhoe Virus (BVDV)*

Die mit der Anwendung einer bestimmten Vakzine (PregSure® BVD, Fa. Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) bei den Muttertieren von betroffenen Kälbern verbundene Pathogenese der Krankheit gilt mittlerweile als erwiesen (Anonym 2012, Bastian et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Kasonta et al. 2012, Pardon et al. 2011). Dies hat dazu beigetragen, dass der Hersteller den Impfstoff freiwillig vom Markt genommen hat (Anonym 2010a). Mit der Entstehung von Alloantikörpern im Muttertier beschäftigten sich zahlreiche Arbeitsgruppen (Bastian et al. 2011, Bridger et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Pardon et al. 2011). Deren Hypothese bestand darin, dass die Bildung von Alloantikörpern durch eine vorangegangene Impfung der Muttertiere mit dem BVD-Impfstoff PregSure® BVD der Firma Pfizer GmbH (Berlin, Deutschland) induziert wurde. Diese Annahme beruhte auf der Beobachtung, dass Kühe, die mit diesem Impfstoff vakziniert worden waren und BNP-Kälber geboren hatten, im Serum wesentlich höhere Titer an alloreaktiven Antikörpern aufwiesen als mit anderen gegen das BVDV gerichteten Impfstoffen immunisierte Tiere oder ungeimpfte Rinder (Bastian et al. 2011, Bridger et al. 2011, Pardon et al. 2011).

In Untersuchungen gelang Benedictus et al. (2015) eine nähere Charakterisierung der induzierten Alloantikörper sowie eine weitgehende Aufklärung der Pathogenese der BNP. Demnach richten sich die Alloantikörper gegen das Haupthistokompatibilitätsantigen I (MHC I) und ein Molekül aus der Integrinfamilie ( $\beta 1/\alpha 3$ ). Die Alloantigen-abhängige, Komplement-vermittelte Zellyse korrelierte in hohem Maße mit der Expression von MHC-Klasse I-Molekülen. Darüber hinaus ergab die Untersuchung von Geweben, die von Feten im dritten Trimester der Trächtigkeit gewonnen wurden, dass gerade diejenigen Zellen eine hohe Expression des MHC Klasse I aufweisen, die bei Kälbern mit BNP zerstört werden. Die Forschergruppe schlussfolgerte, dass gegen das MHC-Klasse I Molekül gerichtete Antikörper die „treibende Kraft“ für die Pathogenese der BNP darstellen, obwohl die maternalen Antikörper im Kolostrum eine gewisse Heterogenität aufwiesen (Benedictus et al. 2015). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch andere Forschergruppen (Bastian et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Foucras et al. 2011).

Die Pathogenese der BNP stellt sich also nach heutigem Kenntnisstand wie folgt dar: das BVDV wird im Fall der verwendeten Vakzine PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) auf einer vom Rind stammenden Nierenzellkultur vermehrt. Da es sich um eine Totvakzine handelt, ist eine hohe Impfdosis nötig um bei einem Muttertier eine Immunantwort auszulösen, die das ungeborene Kalb vor einer vertikalen Infektion mit BVDV schützt. Im Falle

von PregSure® BVD, (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) wird dieser Effekt über eine hohe im Impfstoff enthaltene Dosis Antigen und über ein ebenfalls enthaltenes hoch effizientes Adjuvans namens Procision A™ erzielt. Bei dem Impfstoff mit fetalem Schutz verhindert das stark immunogene Adjuvans und dessen Wirkungsverstärkung des Impfantigens über zwölf Monate bei dem Muttertier die transplazentare BVDV-Infektion. Die Inhaltsstoffe des Adjuvans Procision™ A sind Quil A, Cholesterol, sogenannte Amphigen®-Minitröpfchen und Drakeol 5 (flüssiges Paraffin), sind in dieser Kombination momentan nur in wenigen weiteren Tierimpfstoffen anzutreffen (CattleMaster®GOLD™, Fa. Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland, mit Adjuvans PreZent™) (Technical Bulletin, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland Animal Health, Juli 2004; Piontowski, BpT (Anonym 2011a, Anonym 2011b). Quil A entstammt dem aufgereinigten Extrakt von Quillaja-Saponinen (Seifenrindenbaum), kann mit Zellmembranen interagieren und dadurch zytotoxisch wirken. Daher wird Quil A in Impfpräparaten für den Menschen nicht eingesetzt, ist jedoch neben PregSure® BVD schon in zahlreichen tiermedizinischen Impfstoffen vorhanden (Torvac® (Virbac Tierarzneimittel GmbH, Bad Oldesloe, Deutschland), Bovidec® (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland), Equip® F (Essex Animal Health, A Division of Essex Pharma GmbH, Burgwedel, Deutschland). Es bildet im Zusammenhang mit einem Phospholipid (den Amphigen®-Minitröpfchen) und Cholesterol sogenannte ISCOMS (immunostimulating complexes), welche käfigartige Helixstrukturen darstellen (Harms et al. 2008, Technical Bulletin, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland Animal Health, Juli 2004). Die Befürchtung hinsichtlich pathogener Eigenschaften der Impfung bestand darin, dass das Quil A in dem neuartig zusammengesetzten Adjuvans Procision™ A eine disproportionale Immunantwort nicht nur gegen virale, sondern auch zelluläre Alloantigene bewirkt. Zudem erreicht der Antikörpertiter in den Tieren im Gegensatz zu anderen, ebenfalls fetoprotektiven, BVD-Impfstoffen wie Bovilis® BVD (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) bis zu zehnfach höhere Werte nach der Anwendung von PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH) (Harmeyer et al. 2004). Mit dem Impfstoff gelangte aus der Nierenzellkultur, die der Virusvermehrung diene, Alloantigen in den Impfling (Harms et al. 2008, Deutkens et al. 2011, Euler et al. 2013, Benedictus et al. 2015). Das BVDV-Impfantigen wurde durch Vermehrung des Virus in fetalen bovinen Nierenzellkulturen (Madin-Darby Bovine Kidney Cells, MDBK) gewonnen und wurde lediglich auf bakterielle und virale Kontamination untersucht (Piontowski 2010). Im PregSure® BVD - Impfstoff (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) wurden Proteine der MDBK-Zellen, genauer ein MHC-Klasse I-Molekül und das Beta-2-Mikroglobulin entdeckt. Nach Impfung der Muttertiere werden die von den MDBK-Zellen stammenden Proteine phagozytiert und mit Hilfe des MHC-Klasse II-Komplexes den T-Lymphozyten präsentiert, die wiederum eine spezifische, gegen das Fremdartigen gerichtete Immunstimulation hervorrufen. Daraufhin erfolgt die Bildung von Alloantikörpern, die folglich im Kolostrum erscheinen. Diese alloreaktiven Antikörper gelangen

in die Biestmilch und nach deren Verabreichung in das Kalb, wo sie nach Passieren der noch nicht geschlossenen Darmschranke zu einer Zerstörung der sich stark reproduzierenden Vorläuferzellen von Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten im Knochenmark beitragen. Aufgrund des seltenen Vorkommens von BNP ist davon auszugehen, dass Muttertiere von Kälbern mit BNP über einen seltenen, in der Deutsch Holstein Population vorkommenden BoLA (Haupthistokompatibilitätskomplex des Rindes)-Genotyp verfügen, der die Alloreaktivität nach Kontakt mit dem Fremdantigen aus der Zellkultur beim Muttertier hervorruft (Bastian et al. 2011, Benedictus et al. 2015, Deutskens et al. 2011, Foucras et al. 2011, Kasonta et al. 2014a).

### ***Impfungen gegen das Blauzungenvirus (BTV)***

Sowohl im Jahre 2008 als auch 2009 war die Impfung gegen das BTV-8 für empfängliche Tiere wie Rinder, Ziegen und Schafe in Deutschland, aber auch in einigen Nachbarstaaten wie etwa den Niederlanden, nach dem Auftreten der ersten Fälle verpflichtend. Dabei wurden drei nicht zugelassene inaktivierte Impfstoffe eingesetzt, deren Anwendung angesichts der bestehenden Bedrohung mittels einer Dringlichkeitsverordnung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) erlaubt worden waren (Cußler et al. 2009). Die drei BTV-8-Impfstoffe enthielten neben dem inaktivierten BTV-8-Virusmaterial Aluminiumhydroxid und eine Saponinkomponente als Adjuvanssystem, welches des Öfteren in inaktivierten Virusimpfstoffen, beispielsweise der Mutterschutzimpfung, erfolgreich eingesetzt wird. Verglichen mit der Anzahl der Impfdosen der BTV-Impfstoffe gab es nur wenige Meldungen von Nebenwirkungen. Die auffällig hohe Anzahl der Meldungen von Aborten und Fehlgeburten konnte nur selten mit dem Einsatz der Impfstoffe in Verbindung gebracht werden (Cußler et al. 2009). Nachdem im Jahr 2007 20.000 Fälle allein in Deutschland aufgetreten waren, die zum Teil schwere volkswirtschaftliche Schäden verursachten, konnte nach den Impfkampagnen in den folgenden Jahren ein starker Rückgang von Krankheitsausbrüchen verzeichnet werden (Anonym 2012a, Hoffmann et al. 2008).

### ***Impfungen gegen Rota- und Coronaviren sowie gegen *E. coli* (Mutterschutzvakzine)***

Die Impfungen gegen das Rota- und Coronavirus, als auch gegen *E. coli* sollen bei trächtigen Tieren zu einer Erhöhung des Antikörperspiegels gegen die genannten viralen und bakteriellen Antigene führen, sodass die Kälber bei der Aufnahme von Kolostrum durch die aktive Immunität der Mütter eine passive Immunität erlangen (Beipackzettel, Rotavec). Dafür muss eine ausreichende und zeitige Kolostrumaufnahme der Kälber gewährleistet sein. Der inaktivierte Impfstoff enthält Rotavirus der Gruppe A, Coronavirus und *Escherichia coli* F5 Fimbrienantigen, sowie Mineralöl und Aluminiumhydroxid als Adjuvans. Neben gelegentlichen Schwellungen der Injektionsstelle und Überempfindlichkeitsreaktionen des geimpften Tieres

sind keine unerwünschten Wirkungen bekannt. Über Wechselwirkungen mit anderen gleichzeitig applizierten Impfstoffen liegen keine Informationen vor.

### **2.7.3 Bedeutung von Kolostrum**

Die Tatsache, dass die Aufnahme von Kolostrum einen bedeutenden Faktor in der Pathogenese von BNP darstellt, wurde bereits früh in der Literatur erwähnt (Bauer et al. 2009, Bridger et al. 2011, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2008, Friedrich et al. 2009a, Friedrich et al. 2009d, Friedrich et al. 2011, Pardon et al. 2011). Schröter et al. (2012) benannten Kolostrum als Hauptrisikofaktor für das Auftreten von BNP in dem von ihnen untersuchten Betrieb. Das weibliche Rind weist eine epitheliochoriale Plazenta auf, die im Gegensatz zu der menschlichen Plazenta haemochorialis, weder den Übergang von fetalen Antigenen in die maternale Zirkulation, noch den Transfer von maternalen Antikörpern erlaubt (Kruse 1983). Die von dem Muttertier produzierten lebenswichtigen Immunglobuline, aber auch die vermuteten BNP-induzierenden Alloantikörper, werden somit ausschließlich mit dem Kolostrum an das Kalb weitergegeben (Bridger et al. 2011, Deuskens et al. 2011, Friedrich et al. 2011). Innerhalb der ersten 24 bis 36 Stunden nach der Geburt gelangen die Antikörper durch die Darmschranke des Kalbes (Moog 1979). Bei der Kolostrumaufnahme hängt die Absorptionsrate der Immunglobuline und anderer Antikörper maßgeblich von dem Alter des Kalbes bei der ersten Kolostrumfütterung ab. Das Kolostrum selbst weist eine starke Variation im Immunglobulingehalt auf. Diese ist abhängig von der Menge des produzierten Kolostrums, dem Alter der Kühe, der Rasse, der Jahreszeit, von Impfungen und Fütterung in der Trockenstehzeit (Butler 1983). Des Weiteren wurde nachgewiesen, dass (1) die Quantität des aufgenommenen Kolostrums in den ersten Lebenstagen, (2) die individuellen Titer der Alloantikörper des Kolostrums der Muttertiere von Kälbern mit BNP und (3) die Affinität der Alloantikörper zu den Antigenen des Kalbes und somit dessen Empfänglichkeit für die Alloantikörper das Auftreten und die Ausprägung klinischer Erscheinungen beeinflussen können (Bell et al. 2014, Deuskens et al. 2011, Witt et al. 2011).

### **2.7.4 Vorbeuge**

Da bereits kurz nach Beobachtung der ersten Fälle aufgrund des Zusammenhangs zwischen der Kolostrumverabreichung und dem Auftreten von Krankheitsfällen von einem immunvermittelten Phänomen ausgegangen wurde und sich die Impfung der Muttertiere mit einer bestimmten BVDV-Vakzine (PregSure® BVD, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) als Risikofaktor herausstellte, richteten Bell et al. (2010a) ihr Augenmerk hinsichtlich Präventivmaßnahmen in einer Herde von Mutterkühen auf Kühe, die bereits im Jahr zuvor Kälber zur Welt gebracht hatten, die an BNP erkrankt waren. Den Kälbern solcher Mütter wurde direkt nach der Geburt ein Maulkorb aufgesetzt um sie an der Kolostrumaufnahme zu

hindern. Dann wurde ihnen Kolostrum eines anderen Muttertieres verabreicht. Da man laut Stott et al. (1979) davon ausgehen konnte, dass nach 32 Stunden kein nennenswerter Immunglobulintransfer über die Darmschranke erfolgt, entfernte man nach Ablauf des genannten Zeitintervalls die Maulkörbe, so dass die Kälber wieder Milch von ihren Müttern aufnehmen konnten. Kein Kalb, mit dem auf diese Art und Weise verfahren wurde, erkrankte an der BNP, jedoch traten in derselben Herde wiederum Fälle von BNP auf. Diese betrafen Kälber der Mütter, die in den Vorjahren kein Kalb zur Welt gebracht hatten, das an BNP litt. Aufgrund der vermuteten Alloimmunpathogenese der BNP entschied Klemt (2010), gefährdete Tiere vorbeugend einmalig mit Dexamethason zu behandeln und über einen Zeitraum von drei Tagen Enrofloxacin (Ursofloxacin® 5 %, Serumwerk Bernburg AG, 06406 Bernburg) zu verabreichen. Im Zusammenhang mit diesen Maßnahmen sank die Inzidenz der BNP in dem beschriebenen Betrieb.

## **2.8 Zielsetzung**

Seit dem Jahr 2006 wurden in Europa Fälle von BNP beobachtet. Im Jahr 2009 beschloss das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), das Verbundprojekt „Ursachenermittlung der Bovinen Neonatalen Panzytopenie“ (Förderkennzeichen: 2809HS025) zu initiieren. Projektträger des Projektes mit der Laufzeit vom 01.09.2010 bis zum 28.02.2013 war die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLV). Im Rahmen dieses Forschungsvorhabens zur Bereitstellung wissenschaftlicher Entscheidungshilfe über die neue Kälberkrankheit bestand eine Kooperation zwischen den folgenden Institutionen: Ludwig-Maximilians-Universität München (Veterinärwissenschaftliches Department, 80539 München, Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, 85764 Oberschleißheim), Justus-Liebig-Universität Gießen (Klinik für Kleintiere, Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere, Klinik für Wiederkäuer und Schweine, Institut für Veterinär-Pathologie, Institut für Virologie, 35392 Gießen), Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung, Klinik für Rinder, Klinik für kleine Klauentiere, Zentrum für Infektionsmedizin, Institut für Virologie, Institut für Pathologie, 30559 Hannover), Freie Universität Berlin (Klinik für Klauentiere, 14163 Berlin) und Leibniz-Institut für Nutztierbiologie Dummerstorf (FBN, FB Molekularbiologie, Dummerstorf). Die Projektleitung übernahm Herr Prof. Dr. Klaus Doll der Klinik für Wiederkäuer und Schweine der Justus-Liebig-Universität Gießen. Das Ziel bestand darin, die Ursachen für die BNP anhand der Schwerpunkte Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese zu ermitteln. Um dieses Ziel zu erreichen, wurde eine Kohortenstudie durchgeführt.

Die vorliegende Arbeit gehörte dem Forschungsschwerpunkt Epidemiologie des Entscheidungshilfeprojektes an. Untersucht werden sollte der Einfluss von

Managementfaktoren auf die Inzidenz von BNP in zwei Milchviehbetrieben einer Agrargenossenschaft. Des Weiteren sollten neben der bekannten Impfung mit dem Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) weitere Risikofaktoren identifiziert werden, die das Auftreten der Krankheit begünstigen. Zu diesem Zweck wurden die Betriebsdaten der oben genannten Agrargenossenschaft, in der seit 2007 gehäuft Fälle von BNP auftraten, gesichtet und in Hinblick auf mögliche Risiken mithilfe epidemiologischer Methoden ausgewertet. Tierbezogene Datensätze aus den Jahren 2007 bis 2010 der besagten Agrargenossenschaft wurden hierbei einer statistischen Auswertung unterzogen. Unterstützt wurde die vorliegende Studie mit der Expertise des Instituts für Epidemiologie, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) (17493 Greifswald- Insel Riems).

## 2.9 Hypothesen

Für die vorliegende Arbeit wurden folgende Hypothesen erarbeitet:

### 2.9.1 Bedeutung des Kolostrums

Das BVDV wird im Fall der verwendeten Vakzine PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) auf einer vom Rind stammenden Nierenzellkultur vermehrt. Da es sich bei PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) einen Totimpfstoff handelt, ist eine hohe Impfdosis nötig um bei einem Muttertier eine Immunantwort auszulösen, die das ungeborene Kalb vor einer vertikalen Infektion mit BVDV schützt. Deshalb enthält die genannte Vakzine eine hohe Dosis Antigen, ergänzt durch ein sehr potentes Adjuvans (Procision™ A). Wird mit dem Impfstoff aus der Nierenzellkultur stammendes Alloantigen in den Impfling gebracht und weicht dessen Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex, MHC) von demjenigen der verwendeten Nierenzellkultur ab, werden seitens des Impflings (das Muttertier) alloreaktive Antikörper gebildet. Die Alloantikörper gelangen nach Fütterung der Biestmilch über die noch nicht geschlossene Darmschranke in das Kalb und bewirken dort eine Antikörper vermittelte Zerstörung der hämatopoetischen Zelllinien der erythroiden und myeloiden Zellen (Agrawal und Kishore 2000, Bastian et al. 2011, Benedictus et al. 2015, Bridger et al. 2011, Deuskens et al. 2011, Euler et al. 2013, Friedrich et al. 2011, Kasonta et al. 2012, Kruse 1983). Aufgrund des seltenen Vorkommens von BNP ist davon auszugehen, dass der MHC, der die Alloreaktivität beim Muttertier bedingt, nur selten in der Population vorkommt.

- a) Bei ausschließlicher Fütterung von Biestmilch der eigenen Mutter wird dementsprechend die BNP selten ausgelöst.
- b) Bei Fütterung von Mischkolostrum, d.h. Kolostrum verschiedener Mütter, ist die Wahrscheinlichkeit, dass bei Vorhandensein alloreaktiver Antikörper in einer

Biestmilch im gleichen Zeitraum mehrere Kälber an BNP erkranken, größer als bei a). Demzufolge ist bei Fütterung von Mischkolostrum das Risiko, dass ein Kalb geboren wird, welches später an BNP leidet, größer.

- c) Bei der Fütterung von Mischkolostrum treten abhängig vom Gehalt an Alloantikörpern, dem Mischungsverhältnis, einer möglichen Prädisposition des Kalbes sowie vom aufgenommenen Volumen subklinische und/ oder klinische Erscheinungsformen der BNP auf.

### **2.9.2 Bedeutung der Anzahl Kalbungen**

- d) Das Risiko des Auftretens eines Kalbes mit BNP steigt mit der Anzahl Kalbungen einer Kuh, die nach der Impfung Alloreaktivität entwickelt hat. Hierbei spielen Faktoren wie Lebensdauer, feto-maternaler Kontakt bei der ersten Geburt und eine nachfolgende Sensibilisierung der Mutter mittels einer Ausbildung von Antikörpern eine Rolle.

### **2.9.3 Bedeutung von Impfungen**

Bestimmte Impfstrategien erhöhen das Risiko für das Auftreten von Kälbern mit BNP.

#### BVD-Impfung

- e) Eine höhere Anzahl von BVD-Wiederholungsimpfungen mit dem Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) führt aufgrund einer möglichen Potenzierung des Wirkstoffs im Muttertier mit anschließend vermehrter Alloantikörperbildung zu einem signifikant höheren Vorkommen von Kälbern mit BNP. Kälber von nicht oder nur einmalig nachgeimpften Müttern hätten demnach ein geringeres Risiko, an BNP zu erkranken als Kälber von mehrfach nachgeimpften Müttern.

Bridger et al. (2011) konnten nachweisen, dass die Menge der Alloantikörper eine entscheidende Rolle in der Ausprägung von BNP spielt. Demnach sind die Höhe des Alloantikörpertiters und der Schweregrad der Erkrankung deutlich miteinander korreliert. Tiere mit hohem medianen Alloantikörpertiter zeigen eine schwerere Verlaufsform der BNP als Tiere mit geringeren Alloantikörpertitern. Auf Grundlage dieser Beobachtung wurde zusätzlich die folgende Hypothese aufgestellt.

- f) Angenommen wird, dass es nach der Impfung mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) zu einem Anstieg des Alloantikörpertiters im Serum kommt, der anschließend langsam abfällt. Deshalb kann vermutet werden, dass der Alloantikörpertiter im Kolostrum umso höher ist, je näher die Wiederholungsimpfung am Kalbedatum ist. Aus diesem Grund wurde das Verhältnis Impfzeitpunkt zu

Trächtigkeitstadium bzw. der zeitliche Abstand zwischen Wiederholungsimpfung zur Kalbung als Risikofaktor für die Entstehung von BNP angesehen.

#### BTV-Impfung

- g) Es wird die Hypothese überprüft, ob häufiger BNP-Fälle bei Muttertieren auftreten, die gegen BTV geimpft wurden, als bei Muttertieren, die nicht geimpft wurden.

#### **2.9.4 Bedeutung der Jahreszeit**

Beobachtungen einiger Autoren besagen, dass BNP häufiger in den Sommermonaten als in den Wintermonaten auftritt (Friedrich et al. 2009a, Klemm 2010, Witt et al. 2011). Es wird unterstellt, dass Kälber mit BNP in den Sommermonaten leichter identifiziert werden, weil sie aus Insektenstichen profus bluten.

- h) Aus diesem Grunde wird die Hypothese aufgestellt, dass in den beiden Betrieben in den Vektor-reichen (d.h. stechinsektenreichen) Monaten häufiger BNP-Kälber dokumentiert worden sind als in den Vektor-armen bzw. -freien Monaten.

#### **2.9.5 Bedeutung von Totgeburten**

Da die BNP mit der Kolostrumaufnahme zusammenhängt und die Erkrankung erst mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung nach Aufnahme von Kolostrum auftritt, kann kein Zusammenhang mit dem Auftreten von Totgeburten bestehen.

- i) Bei Muttertieren von Kälbern mit BNP treten daher nicht häufiger Totgeburten auf als bei Müttern gesunder Kälber.

#### **2.9.6 Bedeutung der Abstammung der Kälber**

Über die Impfung mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) gelangt – sofern sich der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) der Mutter und der Nierenzellkultur gänzlich voneinander unterscheiden - Fremdantigen aus der Zellkultur in das Muttertier, welches mit der Bildung von Alloantikörpern reagiert (Bastian et al. 2011, Benedictus et al. 2015, Bridger et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Euler et al. 2013, Friedrich et al. 2011, Kasonta et al. 2012). Laut Deutskens et al. (2011) beruht das Auftreten von BNP im Kalb nach der Aufnahme der maternalen Alloantikörper darauf, dass sich der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) der für die Impfstoffherstellung verwendeten Gewebekultur und der MHC der Vatertiere von BNP-Kälbern gleicht. Darauf aufbauend wurde folgende Hypothese entwickelt:

- j) Die Vererbung der Vatertiere spielt eine Rolle in der Anfälligkeit des Kalbes für BNP.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Darstellung des Betriebes

Die Datensätze stammen aus einer im Bundesland Brandenburg ansässigen Agrargenossenschaft. Die Genossenschaft betreibt zwei unweit voneinander gelegene Milchviehanlagen - hier Abrechnungseinheit AE1 und AE2 genannt. Jedem Standort war ein eigener Herdenmanager zugeordnet, der die täglichen Betriebsabläufe organisierte. Die beiden Herdenmanager unterstanden einem Betriebsleiter, dem die Rationsgestaltung und die Geschäftsführung oblag. Die Tiere gehörten der Rasse Deutsch Holstein an. Im Anhang (9.1) der Arbeit befinden sich Details zu den Haltungsbedingungen, der Fütterung und Leistungsgruppen, den Milchleistungsdaten und Fruchtbarkeitskennzahlen, den Abgängen und Schweregeburten, der Kälberhaltung sowie zu den zotechnischen Maßnahmen der Milchkühe und Kälber.

#### 3.2 Vorkommen von BNP

##### 3.2.1 Falldefinition der BNP

Auf Grundlage des im Jahre 2011 verfügbaren Wissens über die BNP (Friedrich et al. 2009a, Scholes et al. 2009, Pardon et al. 2010) wurde eine **Falldefinition** festgelegt. Demnach wurde ein Fall als BNP-Fall eingestuft, wenn **mindestens zwei** der unter a) bis d) genannten Kriterien zutrafen.

- a) Das Kalb war bis zu seinem 35. Lebenstag entweder erkrankt oder gestorben.
- b) Das Kalb zeigt eindeutige Symptome der Krankheit. Hierzu werden gezählt:
  - nicht erklärbare Blutungen der äußeren Haut
  - ein deutlich verlängertes Nachbluten nach Injektion oder dem Einziehen von Ohrmarken (> 2 Minuten)
  - profuse Blutungen aus mehr als einer Körperöffnung (z. B. Nase, After, Auge).
- c) Die Ergebnisse hämatologischer Untersuchungen ergeben eine Zytopenie in mindestens zwei der drei hämatologischen Zellreihen. Das Blutbild wird von einer Leukopenie (Anzahl Leukozyten < 5 x G/l) und einer Thrombozytopenie (Anzahl Thrombozyten < 200 x G/l) bestimmt. Bei dem Auftreten einer Anämie/ Erythropenie liegen die Werte des Hämatokrits unter 0,25 l/l oder die Anzahl der Erythrozyten unter 6 T/l.

- d) Bei der Sektion oder der sich daran anschließenden histologischen Untersuchung werden Hämorrhagien der äußeren Haut und/oder der inneren Organe festgestellt. Des Weiteren wird eine Panmyelophthise, d.h. eine ausgeprägte Hypo- bis Azellularität in allen hämatopoetischen Zelllinien der erythroiden und myeloiden Zellen des hämatopoetischen Gewebes im Knochenmark diagnostiziert.

Traf die obige Falldefinition auf ein Kalb zu, wurde es als BNP-Kalb eingestuft. Die einzelnen Fälle wurden nach Maßgabe der zu jedem Tier verfügbaren Information verschiedenen Evidenzstufen zugeordnet.

### **BNP-Fälle gemäß Evidenzstufen**

Aufgrund des retrospektiven Charakters der Studie konnten keine Studienbedingungen vorab definiert und festgelegt werden. Da verschiedene Personen Beobachtungen auf unterschiedliche Art und Weise gemacht hatten, wurden für die Diagnose BNP im Nachhinein Evidenzstufen festgelegt:

0. Die Kälber waren gesund und zeigten zu keinem Zeitpunkt Symptome der Krankheit.
1. Der Landwirt respektive die Kälberbetreuerinnen beobachteten Krankheitssymptome, die für das Vorliegen von BNP sprechen (Blutungen aus der Haut und dem After). Die Kälber überlebten die Krankheit. Es folgte keine weiterführende Diagnostik.
2. Die Zuordnung zu den BNP-Fällen beruhte auf Beobachtung der charakteristischen Symptome der BNP durch den Tierhalter. Die Kälber verendeten. Eine Sektion erfolgte nicht.
3. Die Erkrankung wurde durch den Landwirt und einen Tierarzt auf Grundlage der klinischen Erscheinungen diagnostiziert. Blutproben ergaben eindeutige Veränderungen im Blutbild im Sinne von BNP (Anzahl Thrombozyten  $< 200$  G/l, Anzahl Leukozyten  $< 5$  G/l, Hämatokrit  $< 0,25$  l/l und/ oder Anzahl Erythrozyten  $< 6$  T/l). Die Kälber überlebten die Krankheit.
4. Die Erkrankung wurde durch den Landwirt und einen Tierarzt auf Grundlage der klinischen Erscheinungen diagnostiziert. Es wurden Veränderungen im Blutbild im Sinne der BNP ermittelt und/ oder die Diagnose wurde anlässlich einer Sektion bestätigt.

Kälber aller Evidenzstufen wurden in die Überprüfung der aufgestellten Hypothesen einbezogen. Die Verteilung der Kälber in den Evidenzstufen kann dem Anhang (9.2) der Arbeit entnommen werden.

### **3.2.2 Anzahl der an BNP erkrankten Kälber**

Die Anzahl der Kälber, die an BNP erkrankt waren, wurde für beide AE evaluiert und graphisch dargestellt.

#### **Informationen zu Kälbern mit BNP**

Für die vorliegende Arbeit wurden Informationen zu den Kälbern mit BNP detailliert erfasst und sind dem Anhang (9.2) der Arbeit beigefügt. Zu den Angaben gehören das Geschlecht der erkrankten Kälber, der klinische Verlauf der Erkrankung sowie die Ergebnisse der Laboruntersuchungen und die Sektionsbefunde verendeter Kälber. Ebenso wurden Untersuchungen zu Kälberverlusten durchgeführt (siehe Anhang 9.2).

#### **Prävalenz und Inzidenz zum Auftreten von BNP**

Die Prävalenz gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass ein zufällig ausgewähltes Tier zu einem bestimmten Zeitpunkt an der untersuchten Krankheit erkrankt ist. Bezogen auf eine Population definierter Größe ist die Prävalenz der Anteil Erkrankter in dieser Population und somit eine Kennzahl für die Krankheitshäufigkeit (Kreienbrock und Schach 2000). Wird nicht an einem bestimmten Stichtag, sondern über einen definierten Zeitraum die Krankheitshäufigkeit bestimmt, so nennt man dies Periodenprävalenz.

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein zufällig ausgewähltes Tier der Population innerhalb eines begrenzten Zeitraums an einer Krankheit neu erkrankt, wird Inzidenz genannt. Somit beschreibt die Inzidenz die Häufigkeit von Neuerkrankungen an einer Krankheit, bzw. in dieser Arbeit neu aufgetretene Fälle in dem jeweiligen Jahr zu den jeweiligen Geburten (Kreienbrock und Schach 2000). Die Formel zur Berechnung der Inzidenz und Periodenprävalenz nach Kohlmann (2014) befindet sich im Anhang (9.3) der Arbeit.

#### **Informationen zu den Muttertieren**

Bezüglich der Muttertiere der Kälber mit BNP wurden das Alter, die Laktationszahl, der Impfstatus und die Abstammung dokumentiert (siehe Anhang 9.5).

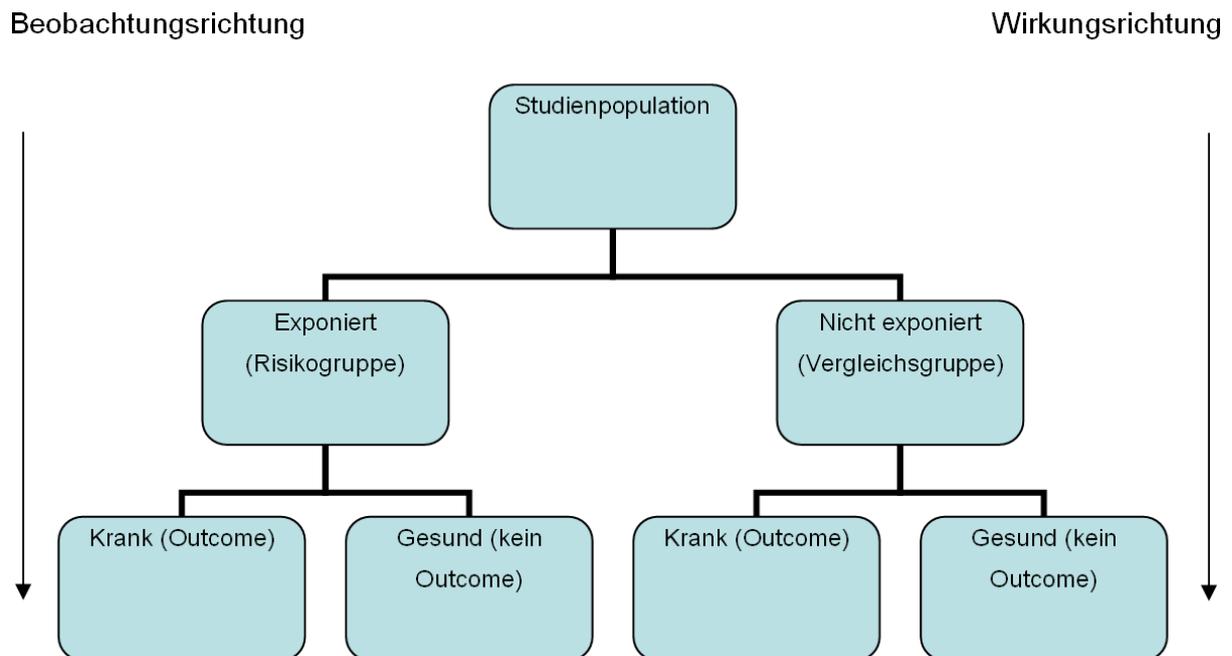
## **3.3 Studiendesign**

### **3.3.1 Epidemiologische Studien**

#### **Kohortenstudie**

Der Studientyp der Kohortenstudie, welche in dieser Arbeit ihre Anwendung findet, wird vorrangig dadurch charakterisiert, dass man eine Population über eine vorgegebene Beobachtungsperiode von einem Zeitpunkt  $t_0$  bis zu einem Zeitpunkt  $t_8$  hinsichtlich

interessierender Ereignisse, wie Erkrankungen und Todesfälle, beobachtet. Prinzipiell wird von der Kohortenstudie als prospektive Studie gesprochen, wobei jedoch auch mit zurückverlegtem Beginn oder einem Zeitraum in der Vergangenheit gearbeitet werden kann (retrospektive Follow-Up-Studien). Die Studienpopulation  $n$  einer Kohortenstudie wird bezüglich verschiedener Expositionen in Risikogruppen und Vergleichsgruppen eingeteilt (Abbildung 2). Beide Gruppen werden am Ende der Beobachtungsperiode in Hinsicht auf das Auftreten der Krankheit (Outcome oder kein Outcome) im Beobachtungszeitraum verglichen (Kreienbrock und Schach 2000).



**Abbildung 2. Struktur einer Kohortenstudie nach Abbildung von Kreienbrock und Schach (2000)**

Im Rahmen einer Kohortenstudie wird das Risiko, während der Beobachtungsperiode zu erkranken, geschätzt, so dass bei der Überprüfung einer ätiologischen Hypothese die kausalen Zusammenhänge hierdurch verifiziert werden können. So werden sowohl in der exponierten Gruppe als auch in der nicht-exponierten Gruppe die Erkrankungsraten beobachtet um eine Chanceneinschätzung für beide Gruppen zu ermöglichen. Dies lässt eine Schätzung der kumulativen Inzidenz (= Neuerkrankungsrate) sowie die Bestimmung des Odds Ratios (OR) für Exponierte und Nicht-Exponierte in der Zielpopulation zu (Kreienbrock und Schach 2000).

### Fall-Kontroll-Studie

Im Gegensatz zu der Kohortenstudie steht die Fall-Kontroll-Studie. Dabei wird eine Gruppe von Erkrankten (Fälle) mit einer Gruppe von Nicht-Erkrankten (Kontrollen) in Hinsicht auf eine vorherige Exposition durch einen Risikofaktor miteinander verglichen. Von einer Korrelation

zwischen Risikofaktor und Erkrankung wird dann ausgegangen, wenn sich in den Gruppen unterschiedliche Expositionen mit dem Faktor nachweisen lassen. Von einem festen Zeitpunkt aus wird bei der Fall-Kontroll-Studie rückwirkend beobachtet, während bei der Kohortenstudie Fälle über einen Beobachtungszeitraum betrachtet werden.

### **3.3.2 Retrospektive Kohortenstudie**

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine epidemiologische Studie, welche methodisch in Anlehnung an den Studientyp der Kohortenstudie konzipiert wurde. Erkrankungen als auch Todesfälle in einer Population wurden in dieser Studie über einen vorgegebenen Beobachtungszeitraum dokumentiert. In der analytischen, nicht-experimentellen Studie wurde sich im Vorfeld für eine retrospektiv basierte Datenerhebung entschieden. In Abhängigkeit vom untersuchten Expositionsfaktor wurden definierte Studiengruppen betrachtet, innerhalb derer wiederum Tiere in exponierte bzw. nicht exponierte Untergruppen eingeteilt wurden. Für die retrospektiven Kohortenstudien wurden, bis auf die Kohortenstudie zu der Verwendung von Mischkolostrum, die AE als ein Betrieb angesehen.

### **3.3.3 Beobachtungszeitraum**

Die Beobachtungsperiode umfasste den Zeitraum vom 01.07.2007 bis zum 31.07.2010.

### **3.3.4 Studienpopulation**

Innerhalb der Studienpopulation wurden die Tiere in Abhängigkeit vom Vorhandensein bzw. von der Abwesenheit verschiedener Expositionen entsprechenden Risiko- bzw. Vergleichsgruppen zugeordnet.

Alle Kälber, die in dem oben genannten Milchviehbetrieb (AE1 und AE2) zwischen dem 01.07.2007 und dem 31.07.2010 geboren wurden, gehörten der Studienpopulation an. Insgesamt wurden in diesem Zeitraum 2214 Kälber geboren, davon 954 Kälber (43,1 %, 954/2214) in der AE1 und 1260 Kälber (56,9 %, 1260/2214) in der AE2. Tabelle 3 ist die Anzahl der in den zwei Betriebsteilen AE1 und AE2 innerhalb des Beobachtungszeitraums geborenen Kälbern zu entnehmen.

**Tabelle 3.** Übersicht über die Anzahl in der AE1 und in der AE2 während des Beobachtungszeitraums (01.07.2007 und dem 31.07.2010) geborener Kälber

Jahr	Anzahl Kälber AE1	Anzahl Kälber AE2	Anzahl Kälber gesamt
2007	179	245	424
2008	281	367	648
2009	318	405	723
2010	179	243	419
Gesamt	954	1260	2214

Der Risikogruppe wurden alle Kälber zugeordnet, die im Beobachtungszeitraum (01.07.2007 bis 31.07.2010) anhand der vorgegebenen Falldefinitionen als BNP-Kälber eingestuft werden konnten ( $n_{\text{gesamt}} = 40$ ) (Tabelle 4), während Kälber, auf die die Falldefinitionen nicht zutrafen, als nicht an BNP erkrankt eingestuft und der Vergleichsgruppe zugeordnet wurden. Dieses traf auf insgesamt 2174 Kälber zu.

**Tabelle 4.** Übersicht über die Anzahl und den Anteil Kälber, die auf Grundlage der Falldefinitionen als „an BNP erkrankt“ eingestuft wurden.

	Anzahl der Kälber mit BNP	Anteil BNP [%]	Anteil an Studienpopulation [%]
AE1	26	65,0	2,73
AE2	14	35,0	1,11
Gesamt	40	100	1,81

Des Weiteren wurden die Muttertiere der im Studienzeitraum (01.07.2007 bis 31.07.2010) geborenen Kälber betrachtet. Es handelte sich dabei um 1339 Mütter (AE1: 558 Tiere, AE2: 781 Tiere). Zur Risikogruppe gehörten die Mütter mit Kälbern mit BNP, 23 Muttertiere in der AE1, 14 Mütter in der AE2 (Tabelle 5).

**Tabelle 5. Anzahl Mütter von Kälbern mit BNP und Anzahl aller Milchkühe, die vom 01.07.2007 bis zum 31.07.2010 in AE1 und AE2 gekalbt haben.**

Abrechnungseinheiten	Anzahl der Mütter der Kälber mit BNP	Anzahl Kühe gesamt	Anzahl der geborenen Kälber
AE1	23	558	954
AE2	14	781	1260
Gesamt	37	1339	2214

### 3.4 Durchführung der Studie

#### 3.4.1 Datenquellen und verwendete Software

Verschiedene Datenquellen standen als Grundlage für die Datenerhebung im Rahmen der vorliegenden Arbeit zur Verfügung (Tabelle 6).

##### Herdenmanagementprogramm

Daten aus dem Programm „Herde Version 5.4“ (dsp-Agrosoft, 14669 Ketzin, Deutschland) bildeten die Hauptdatengrundlage für die vorliegende Arbeit. Eingespeist wurden die Primärdaten des Betriebes durch die Betriebsleiter oder die Sachbearbeiter des Betriebes. „Herde“ ist ein Softwaresystem für das Management von Rinderbeständen. Es liefert Informationen zu jedem einzelnen Tier oder zum gesamten Bestand. Im Programm kann der Anwender die Menüs, Arbeits- und Übersichtslisten individuell einstellen und die Daten können tabellarisch erfasst werden. Das Programm bietet den Betrieben die Möglichkeit, Daten zu Fruchtbarkeit, Milchleistung, Kalbungen, Abstammungen, Diagnosen, Behandlungen, Besamung sowie Inzidenzanalysen abzurufen. Mithilfe des Zusatzes „Univers“ (dsp Agrosoft, Ketzin, Version 5.4) zum Programm „Herde“ konnten alle Daten im Programm beliebig in Listen zusammengestellt werden.

##### Milchleistungsprüfung (MLP)

Ergebnisse der Milchleistungsprüfung (Landeskontrollverband Brandenburg e.V., 15377 Waldsiedersdorf) dienten der Erfassung der Milchmenge und der Milchinhaltsstoffe Fett und Eiweiß. Ebenso erfolgte die Zellzahlermittlung über die MLP. Diese Daten wurden vorrangig für den Vergleich der beiden Bestandseinheiten AE1 und AE2 genutzt.

##### Herkunftssicherungs- und Informationssystem für Tiere (HI-Tier)

Dem staatlichen Programm HI-Tier (Bayrisches Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten; [www.hi-tier.de](http://www.hi-tier.de)) wurden Daten zu Impfungen im Rahmen staatlich

angeordneter Impfprogramme (Impfung gegen BTV-8) entnommen. Auch Abgänge, Verkäufe bzw. Umstellungen der Tiere ließen sich über diese Datenquelle nachvollziehen.

### Befragungen der Betriebsleiter und der Betriebstierärztin

Angaben zu dem Kälbermanagement und den an BNP erkrankten Kälbern als auch die vor und während des Beobachtungszeitraums auf der AE1 und der AE2 umgesetzte Impfstrategie wurden über Befragungen erhoben. Die Mitarbeiterbefragungen wurden anhand von Fragebögen durchgeführt (siehe Anhang 9.6).

### Tierarztrechnungen und Bestandsbücher

Als weitere Datenquellen dienten die Tierarztrechnungen ab dem 05.06.2001 bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes sowie die Eintragungen in die Bestandsbücher, mit deren Hilfe freiwillige Impfungen gegen das BVDV und BHV-1 Virus, Mutterschutzimpfungen sowie andere tierärztliche Ereignisse nachvollzogen werden konnten.

### Krankenakten und Sektionsberichte

Um die Kälber entsprechend der Falldefinition entweder der Risikogruppe „an BNP erkrankt“ oder der Vergleichsgruppe zuordnen zu können, wurden Befunde zu einzelnen Kälbern entweder der betriebsinternen Dokumentation entnommen oder auf die Krankenakten der Klinik für Klautiere, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin und Sektionsberichte des Landeslabors Berlin-Brandenburg, Standort Frankfurt (Oder), und des Institutes für Tierpathologie, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin, zurückgegriffen.

Aus den verschiedenen oben genannten Datenquellen wurden die benötigten Datensätze in die Softwareanwendung Excel<sup>®</sup> tabellarisch überführt (Microsoft Excel<sup>®</sup>, Version 2003, Microsoft Corporation, Redmond, WA) statt. Die einzeltierbezogene Exceltabelle wurde getrennt nach den Abrechnungseinheiten des Betriebes um Impfdaten, Daten zu Kälbern mit BNP und Lebensdaten der Studientiere ergänzt. Um die statistische Auswertung zu ermöglichen, wurden Zahlencodierungen für die Variablen festgelegt. Kalenderdaten, Ohrmarkennummern, Namen der Väter sowie Anzahl von bestimmten Ereignissen wurden direkt in die Tabelle übernommen.

**Tabelle 6. Übersicht über die für die statistische Bearbeitung herangezogenen Datenquellen und die zugeordneten Managementbereiche.**

Verwendete Quellen	Haltung und Reproduktion	Milchleistungsdaten	Fütterung	Abgänge, Schwergeburten	Laktation/ Altersstruktur	Impfsituation	Kälberaufzucht	Abstammung
„Herde“	X			X	X	X		X
Milchleistungsprüfung (MLP)		X						
Herkunftssicherungs- und Informationssystem für Tiere (HI-Tier)				X		X		
Tierarzt-Rechnungen/ Bestandsbücher						X		
Befragungen der Mitarbeiter/ innen/ Datenerhebungsbogen	X		X			X	X	

### 3.4.2 Risiko- und Expositionsfaktoren

Im zweiten Abschnitt der Arbeit wurden auf Basis der in Phase 1 generierten Betriebsdaten (siehe Anhang 9.1) und unter Berücksichtigung der Literatur (siehe 2.2) zum Thema BNP Hypothesen zu Risiko- bzw. Expositionsfaktoren formuliert (siehe Literaturübersicht 2.9). Die folgenden Expositionsfaktoren wurden ausgewählt:

#### 3.4.2.1 Kolostrummanagement (Mischkolostrum/ Einzelkolostrum)

Das Management der Kälber- und Färsenaufzucht war in den Betriebsteilen (AE1, AE2) grundsätzlich vergleichbar, da die Verfahrensabläufe über die Qualitätssicherung (QS)-Zertifizierung standardisiert waren. Unterschiede und Gemeinsamkeiten in Haltung und zootecnischen Maßnahmen der Kälber in den beiden AE des Betriebes werden im Anhang (9.1) aufgezeigt. Die Art der Kolostrumversorgung der Kälber in der AE1 und AE2 geht aus Tabelle 7 hervor. Demnach erhielten Kälber der AE 2 bis zum Alter von einer Woche ausschließlich Kolostrum, welches von der eigenen Mutter stammte. In der AE 1 wurde nach zweimaliger Verabreichung von Kolostrum der Mutter auf die Tränkung von Mischkolostrum übergegangen, wobei das Kolostrum von drei bis fünf Kühen gemischt wurde. Unmittelbar nach der Geburt erfolgte die Tränkung der Kälber bis zu einem Alter von etwa sieben Tagen in Einzelboxen mittels Nuckeleimer. Anschließend wurde in den Gruppenbuchten gefüttert. 2008 wurde in der AE1 die Kalttränke durch die Warmtränke ersetzt. Dafür wurden 5,5 Liter Vollmilch mit einem Liter heißem Wasser versetzt.

**Tabelle 7. Unterschiede und Gemeinsamkeiten in der Fütterung der Kälber vom ersten Lebenstag bis zum Absetzen in den beiden AE**

Fütterung der Kälber bis zum 7. Lebenstag	AE1	AE2
Am 1. Lebenstag	Einzelkolostrum 4 und 8 h nach der Geburt	Einzelkolostrum
Bis zum 5.-7. Lebenstag	Mischkolostrum von drei bis fünf Kühen	Einzelkolostrum
Bis 20. Lebenstag	Ad libitum Tränke mit Vollmilch	
Bis zum Absetzen	Tränkung mittels automatischen Kälbertränksystems „Kälbermama“ der Firma Urban GmbH & Co.KG (27798 Wüstring) mit Milchaustauscher	

Da das Kolostrummanagement an den beiden Standorten (AE1, AE2) des Betriebs unterschiedlich gehandhabt wurde, bot sich der Betrieb für eine Prüfung der in der Literaturübersicht unter Kapitel 2.9.1 a), b) und c) aufgeführten Hypothesen an. Während in der AE1 Mischkolostrum verwendet wurde, wurde den Kälbern in der AE2 ausschließlich Kolostrum des eigenen Muttertieres verabreicht. Wenn das Tränken von Mischkolostrum ein erhöhtes Risiko mit sich bringt, müssten in der AE1 im gleichen Zeitraum mehr Kälber geboren werden, die später an BNP erkranken. Für die Prüfung der Hypothesen wurden daher die Kälber der AE1 (exponierte Gruppe) und der AE2 (nicht exponierte Gruppe), die zwischen dem 01.07.2007 und 31.07.2010 geboren wurden, hinsichtlich des Auftretens von BNP miteinander verglichen und die Unterschiede auf statistische Signifikanz mithilfe des zweiseitigen Fisher-Exakt-Test geprüft. Zusätzlich wurden die Geburtsdaten der Kälber betrachtet. Kälber in den einzelnen AE, deren Geburtsdaten sich bis auf  $\pm 2$  Tage glichen, wurden mit Kälbern, deren Geburtsdaten nicht zusammenfielen, verglichen und ebenfalls auf statistische Signifikanz überprüft.

Aufgrund des Unterschieds bezüglich der Fütterung von Kolostrum in den beiden Betriebsteilen und des Wissens um die Bedeutung des Kolostrums bei der Übertragung der Alloantikörper konnte in der AE1 die sichere Zuordnung von Müttern und Kälbern mit BNP nicht erfolgen. Um Verzerrungen, die durch die Gabe von Mischkolostrum entstehen, zu vermeiden, wurden daher die Hypothesen, in denen die Mütter der Kälber mit BNP eine Rolle spielten, ausschließlich in der AE2 geprüft (Tabelle 8). Hypothesen, bei denen davon ausgegangen werden konnte, dass die Muttertiere gleich behandelt wurden, oder aber keinen Einfluss ausübten, wurden in beiden AE überprüft.

**Tabelle 8. Kurzbeschreibung der Hypothesen mit Angaben, in welchem Betriebsteil (AE1, AE2) die jeweilige Hypothese untersucht wurde.**

Hypothese		Durchführung in Betriebsteil
1	Vertränken von Mischkolostrum	AE 1 + AE2
2	Anzahl Kalbungen	AE2
3	Anzahl der Wiederholungsimpfungen	AE2
	Trächtigkeit zum Zeitpunkt der BVD-Impfung	AE1 + AE2
	Impfung gegen BTV	AE2
4	Jahreszeitliche Verteilung der BNP-Fälle	AE1 + AE2
5	Totgeburten	AE2
6	Abstammung	AE2

### 3.4.2.2 Anzahl Kalbungen

In dieser Arbeit wurde die Hypothese aufgestellt, dass das Risiko des Auftretens eines Kalbes mit BNP mit der Anzahl Kalbungen einer Kuh steigt (siehe Literaturübersicht 2.9.2 d).

Die exponierte Gruppe stellten in diesem Zusammenhang die Kälber mit BNP in der AE2 dar, in der nicht exponierten Gruppe befanden sich die Kälber der AE2, bei denen kein BNP auftrat. Statistische Berechnungen (zweiseitiger Fisher-Exakt-Test und Odds Ratios mit Konfidenzintervallen) fanden für die Anzahl Kalbungen und das Auftreten von BNP in den jeweiligen Laktationen statt.

### 3.4.2.3 Impfstrategien

Eine weitere Arbeitshypothese war, dass nach bestimmten Impfschemata ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von BNP besteht. Dahingehend wurden die Mütter von Kälbern mit BNP bezüglich des Bovinen Virus Diarrhoe Virus (BVDV) und des Blauzungenvirus (BTV) untersucht (siehe Literaturübersicht 2.9.3 e,f,g). Daten zu den Impfungen und Impfstoffen befinden sich detailliert im Anhang (9.1) der Arbeit.

#### a) BVD-Impfungen

Es wurde angenommen, dass eine höhere Anzahl von BVD-Wiederholungsimpfungen mit dem Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) ein signifikant erhöhtes Auftreten von Kälbern mit BNP bedingt. Verglichen wurden dazu die verschiedenen Anzahlen der Wiederholungsimpfungen zu den Geburten der Kälber. Ausgeschlossen wurden die Kälber,

bei deren Muttertieren die Daten bezüglich der Grundimmunisierungen oder Wiederholungsimpfungen nicht komplett waren. Es wurden die verschiedenen Anzahlen der Wiederholungsimpfungen (= Boosterimpfung) miteinander mithilfe des zweiseitigen Fisher-Exakt-Test auf Signifikanzen überprüft. Durchgeführt wurde die Berechnung für die Kälber der AE2.

Eine weitere Annahme bestand darin, dass der Alloantikörpertiter im Kolostrum umso höher ist, je näher die Wiederholungsimpfung am Geburtstermin ist. Daher wäre der Gehalt an Alloantikörpern demnach in der Biestmilch geringer, wenn vor der Trächtigkeit des Tieres geimpft wurde bzw. während der Frühträchtigkeit. Aus diesem Grund wurde die Trächtigkeit in die erste Trächtigkeitshälfte (Monat 1 bis 4) und zweite Trächtigkeitshälfte (Monat 5 bis 9) geteilt. Das Verhältnis Impfzeitpunkt zu Trächtigkeitsstadium wurde als Risikofaktor für die Entstehung von BNP angesehen. Daher wurden zusätzlich Impfzeitpunkte der BVD-Impfungen aufgeführt. Trächtigkeiten bzw. der Trächtigkeitsfortschritt zum Zeitpunkt der Nachimpfung wurden anhand des Besamungszeitpunktes und des Zeitpunktes der Impfung ermittelt und verglichen. Als Referenzmenge wurden die Tiere gewählt, die zum Zeitpunkt der Impfung nicht tragend waren. Für die Anzahl der Wiederholungsimpfungen als auch für die Impfzeitpunkte in der jeweiligen Trächtigkeitshälfte erfolgte eine Berechnung der Odds Ratios und der Konfidenzintervalle. Zusätzlich sind die Odds Ratios und Konfidenzintervalle zu den einzelnen Trächtigkeitsmonaten aufgeführt (siehe Anhang 9.5). Die Hypothese zur Trächtigkeit zum Zeitpunkt der Impfung gegen BVD wurde für beide AE gemeinsam geprüft. Dies lag darin begründet, dass das Mischkolostrum, das in der AE1 verfüttert wurde, sich aus dem Kolostrum von Tieren zusammensetzte, die sich zeitgleich in den gleichen Trächtigkeitsstadien befanden. Deshalb wurde der Verfütterung an Mischkolostrum in diesem Zusammenhang kein Einfluss zugeschrieben.

### ***b) BTV-Impfungen***

Es wird die Hypothese überprüft, dass die Anwendung der Impfung einen signifikanten Einfluss auf die Entstehung von Kälbern mit BNP hat. Demnach müssten häufiger BNP-Fälle bei Muttertieren auftreten, die gegen BTV geimpft wurden als bei Muttertieren, die nicht geimpft wurden. Die Muttertiere der Kälber mit BNP der AE2 wurden in dem Beobachtungszeitraum als exponierte Gruppe, die restlichen Muttertiere der AE2 als nicht exponierte Gruppe angesehen. Die Berechnungen zur Signifikanz wurden mit dem zweiseitigen Fisher-Exakt-Test durchgeführt, zudem wurden die Odds Ratios und die Konfidenzintervalle kalkuliert.

### **3.4.2.4 Jahreszeitliche Verteilung der BNP-Fälle**

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass Kälber mit BNP signifikant häufiger in den Sommermonaten als in den Wintermonaten auftreten (siehe Literaturübersicht 2.9.4 h). Diese

Hypothese wird anhand der Daten über den Zeitpunkt und die Umstände (Witterungsverhältnisse) des Auftretens von BNP-Fällen in der AE1 und der AE2 überprüft. In Abhängigkeit vom Geburtsdatum werden sowohl die Kälber mit BNP, als auch die nicht an BNP erkrankten Kälber (siehe Falldefinition) der Studienpopulation der AE1 und der AE2 entweder den Vektor-freien Monaten November bis April zugeordnet, oder den Vektor-reichen Monaten Mai bis Oktober. Der Fischer-Exakt-Test wird für die statistische Auswertung herangezogen.

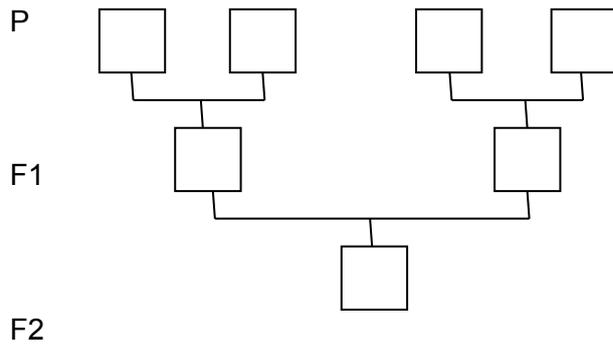
Der Todeszeitpunkt von Kälbern mit BNP (laut Falldefinition) wird dem jeweiligen Monat zugeordnet, in dem das Kalb gestorben ist. Die prozentuale Verteilung des Auftretens von BNP-Kälbern im Laufe des Jahres im Zeitraum von 2007 bis 2010 wird tabellarisch dokumentiert. Darüber hinaus werden die Wetterdaten zum Zeitpunkt des Auftretens der BNP-Erkrankung bzw. des Eintritts des Todes abgerufen und dokumentiert. Dazu werden die Daten der Wetterstation Jänickendorf (Anonym 2010b) und Aufzeichnungen des Betriebes genutzt. Ein zweiseitiger Fisher-Exakt-Test wird zur Ermittlung von Unterschieden zwischen dem Auftreten von Kälbern mit BNP (exponierte Gruppe) und Kälbern ohne Anzeichen von BNP (nicht exponierte Gruppe) in den verschiedenen Monaten durchgeführt.

### **3.4.2.5 Totgeburten**

Angenommen wurde, dass das Auftreten von BNP nicht mit dem Vorkommen von Totgeburten in Verbindung steht (siehe Literaturübersicht 2.9.5 i). Als Totgeburten gelten Kälber, die entweder tot geboren werden bzw. im Laufe der ersten 48 Stunden nach der Geburt verenden. So werden in der AE2 die Mütter von Kälbern mit BNP hinsichtlich der Anzahl Totgeburten mit denjenigen Muttertieren verglichen, deren Kälber nicht an BNP erkrankt sind. Der Fisher-Exakt-Test wird angewendet bei dem Vergleich der Mütter der AE2 mit und ohne erkrankte Kälber, die in ihrem Leben keine oder mindestens eine Totgeburt aufwiesen.

### **3.4.2.6 Abstammung**

Hypothetisiert wird eine genetische Prädisposition für BNP. Die Vererbung der Vätertiere würde demnach eine Rolle in der Anfälligkeit des Kalbes für BNP spielen (siehe Literaturübersicht 2.9.6 j). Zwecks Überprüfung dieser Hypothese erfolgt eine Stammbaumanalyse bis in die dritte Generation (Abbildung 3).



**Abbildung 3. Schematischer Aufbau der Abstammung eines Kalbes mit BNP (F2-Generation)**

Die Vätertiere der an BNP erkrankten Kälber werden mithilfe des Herdenmanagementprogramms „Herde“ (dsp Agrosoft, Ketzin, Version 5.4) ermittelt. Für die statistische Bearbeitung wird der zweiseitige Fisher-Exakt-Test angewandt und werden die Odds Ratios in der nachfolgenden Vierfeldertafel berechnet (Tabelle 9).

Durchgeführt werden die Berechnungen für die AE1 und AE2 gemeinsam aufgrund dessen, dass die Verwendung von Mischkolostrum keinen Einfluss auf die Abstammung väterlicherseits der betroffenen Kälber hat. Die wahren Bullennamen wurden aufgrund des Datenschutzes verändert. Daher erhielten die Väter der Kälber, die an BNP erkrankten, die Ziffern 1 bis 19.

**Tabelle 9. Vierfeldertafel für die Abstammung der Kälber väterlicherseits, erstellt zur Berechnung des Odds Ratios und des Fisher-Exact-Tests**

		Kälber von Bulle x (E)	Kälber von allen anderen Bullen (nE)
BNP (D)	Krank	a	b
Nicht BNP (nD)	Gesund	c	d

*Anmerkungen.* D = Anzahl der Tiere, die erkrankt sind (disease); nD= Anzahl der Tiere, die nicht erkrankt sind (no disease); E = Anzahl der Tiere, die exponiert sind (exposed); nE= Anzahl der Tiere, die nicht exponiert sind (not exposed)

### Abstammung der Muttertiere

Hier wurde eine Übersicht der Väter der Muttertiere von an BNP erkrankten Kälbern erstellt. Mithilfe des Herdenmanagementprogramms „Herde“ (dsp Agrosoft, 14669 Ketzin, Version 5.4) konnte die Abstammung aller Kühe über drei Generationen zurückverfolgt werden. Zudem wurden die Väter der Muttertiere im Einzelnen betrachtet. Dabei wurden in den Abbildungen die Bullen mit Buchstaben (A-Z, AB, AC, AD) codiert.

### **3.5 Statistik**

In dieser Arbeit wurden Daten zu Variablen erhoben, von denen angenommen wurde, dass sie aus epidemiologischer Sicht Einfluss auf die Entstehung von Boviner Neonataler Panzytopenie haben könnten. Die Planung der Auswertung und Tests erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung (Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin) und des Instituts für Epidemiologie (IfE) des Friedrich-Loeffler-Institutes (Greifswald/ Insel Riems). Unter Verwendung der Herdenmanagementsoftware „Herde“ (dsp Agrosoft, 14669 Ketzin, Deutschland) und HI-Tier wurden tierbezogene Daten einer epidemiologischen Stichprobe von Kühen ( $n = 1339$ ) und deren Kälber ( $n = 2214$ ) des Milchviehbetriebes am 31.07.2010 extrahiert und in Tabellenform (Microsoft Office Excel 2003 und PASW Statistics für Windows® (Version 18, SPSS Inc., Chicago, USA) überführt. So konnten Übersichten erstellt und Analysen des Milchviehbetriebes durchgeführt werden. Diese wurden für eine allgemeine Darstellung des Betriebes mit seinen Betriebsteilen genutzt.

Vorrangig fanden die deskriptive und die univariate Datenanalyse Anwendung, um einen Überblick über die Häufigkeitsverteilungen der ordinal- bzw. nominalskalierten Variablen zu ermöglichen. Da bei solchen explorativen Studien nicht von einer stetigen Verteilung und Normalverteilungen ausgegangen werden kann, kamen hauptsächlich nicht-parametrische Methoden ohne komplexe Testverfahren und Fehleradjustierung zum Einsatz. Unter Anwendung statistischer Tests wurde geprüft, ob sich die Ausprägung der Variablen bei den beiden Abrechnungseinheiten sowie bei den Muttertieren von Kälbern mit BNP statistisch signifikant unterscheiden. Dabei fand der zweiseitige Fisher-Exakt-Test Anwendung. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit ( $p$ ) von  $p \leq 0,05$  galt als signifikant,  $p > 0,05$  als nicht signifikant. Des Weiteren wurden für die Kohortenstudie die Odds Ratios, sowie die dazugehörigen Konfidenzintervalle und Standardfehler berechnet. Dadurch konnte für die retrospektive Studie eine Chanceneinschätzung für die exponierte und die nicht exponierte Gruppe ermöglicht werden. Die Berechnungen mittels zweiseitigen exakten Tests nach Fisher und des Odds Ratios finden sich in Abschnitt 2.2.6 „Epidemiologische Studien“. Berechnungen mittels Fisher-Exact-Tests erfolgten mithilfe der Statistiksoftware RStudio (RStudio®, Version 3.2.2. 2009-2015, Boston, MA, USA). Die Berechnung des Odds Ratios und der Konfidenzintervalle erfolgten nach Morris und Gardner (1988).

#### **Exakter Test nach Fisher**

Der Fisher-Exakt-Test (Fisher-Yates-Test) ist ein Signifikanztest auf Unabhängigkeit, welcher durch Anwendung der Vierfeldertafel durchgeführt wird (Tabelle 10, Formel 1).

**Tabelle 10. Die Vierfeldertafel (Kontingenztafel) gibt Einblick in die Verteilung von Exposition und Erkrankung (nach Koch 1995).**

	Anzahl der exponierten Tiere (mit Risikofaktor)	Anzahl der nicht exponierten Tiere (ohne Risikofaktor)	Randverteilung
Anzahl der erkrankten Tiere	a	b	a + b
Anzahl der nicht erkrankten Tiere	c	d	c + d
Randverteilung	a + c	b + d	n = a + b + c + d

Für die vorliegende Arbeit wird der zweiseitige Fisher-Exakt-Test als Basis für die Signifikanz genutzt.

Bei dem Test werden Kombinationen von Zellhäufigkeiten entworfen und für diese bedingte Wahrscheinlichkeiten berechnet.

$$(1) \quad p = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)}{a!b!c!d!n!}$$

**Formel 1. Berechnung der Signifikanz in einer Kontingenztafel mit dem exakten Test nach Fisher (p = Irrtumswahrscheinlichkeit, n = Stichprobengröße) (nach Morris und Gardner 1988).**

*Berechnung des Odds Ratios und der Konfidenzintervalle*

Das Odds Ratio (OR), auch Chancenverhältnis genannt, basiert auf sogenannten Odds. Diese Odds geben die Chance an, mit der ein Ereignis eintritt. Das Odds Ratio wird eingesetzt, um zu erfahren, wie stark ein vermuteter Risikofaktor mit einer bestimmten Erkrankung im Zusammenhang steht. Hierbei wird die Chance betrachtet, unter Exposition zu erkranken und dividiert diese durch die Chance zu erkranken, wenn keine Exposition vorliegt (Formel 2). Bei vorliegender Exposition ist das OR der Faktor, um den die Chance zu erkranken steigt (Koch 1995, Kreienbock und Schach 2000, <https://de.wikipedia.org/wiki/Quotenverhältnis> 25.10.2014). Die Interpretation der Ergebnisse gleicht der des relativen Risikos und ist in der Tabelle 11 aufgeführt.

Das OR kann bei allen Studientypen angewendet werden.

Das Odds Ratio (OR) berechnet sich nun anhand der Vierfeldertafel wie folgt:

$$(2) \quad \text{Odds Ratio (OR)} = \frac{a/c}{b/d} = \frac{a \times d}{b \times c}$$

**Formel 2. Berechnung des OR (nach Morris und Gardner 1988)**

Das Odds Ratio kann Werte zwischen null und unendlich annehmen. Ist OR 1, so sind die Erkrankungschancen von exponierten als auch von nicht exponierten Tieren gleich. Demnach kann bei diesem Ergebnis davon ausgegangen werden, dass die Exposition keinen Einfluss auf die Erkrankung hat. Wird OR größer 1, so ist das Chancenverhältnis zu erkranken unter Exposition größer als ohne Exposition. So wird nun eine schädigende Wirkung der Exposition angenommen. Wird OR kleiner 1, wird von einem protektiven Einfluss der Exposition ausgegangen (Kreienbock und Schach 2000) (Tabelle 11).

**Tabelle 11. Interpretation der Ergebnisse bei der Berechnung des relativen Risikos oder des Odds Ratio (nach Morris und Gardner 1988)**

Größe	Wert	Interpretation
RD (AR)	0	Kein Zusammenhang
95 % KI für RD	Schließt 0 NICHT ein	Statistisch signifikant
RR oder OR	1,0	Kein Zusammenhang
RR oder OR	< 1,0	Erniedrigte/s Risiko/ Chance
RR oder OR	> 1,0	Erhöhte/s Risiko/ Chance
95 % KI für RR oder OR	Schließt 1 NICHT ein	Statistisch signifikant

Anmerkungen. RR = Relatives Risiko; OR = Odds Ratio, KI = Konfidenzintervall; RD = Risikodifferenz; AR = Attributables Risiko

Der Bereich, der sowohl den geschätzten Wert des Parameters, als auch, mit einer bereits festgelegten Wahrscheinlichkeit zudem die wahre Lage des Parameters umfasst, wird Konfidenz- oder auch Vertrauensintervall genannt. Mit diesem kann die Aussagekraft der Ergebnisse beurteilt werden. Der Schätzwert und dessen Standardfehler werden zur Berechnung des 95 %-Konfidenzintervalls benötigt (Koch 1995, Morris und Gardner 1988) (Formel 3 und Formel 4).

$$(3) \quad 95 \% \text{ KI für OR} = e^{\ln OR \pm 1,96 \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}}$$

**Formel 3. Berechnung des 95 %-Konfidenzintervalls (95 % KI) für das Odds Ratio (OR) (nach Morris und Gardner 1988)**

Der Standardfehler des Odds Ratio folgt ebenfalls einer logarithmischen Verteilung (Formel 4).

$$(4) \quad SE_{\ln OR} = \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}$$

**Formel 4.** Berechnung des Standardfehlers (SE = standard error), welcher sich aus dem natürlichen Logarithmus des Odds Ratio ergibt (nach Morris und Gardner 1988)

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 Darstellung des Betriebes**

Im Zeitraum vom 01.07.2007 bis zum 31.07.2010 wurden insgesamt 2214 Kälber in dem Betrieb geboren; davon entfielen 954 auf die AE1 und 1260 auf die AE2.

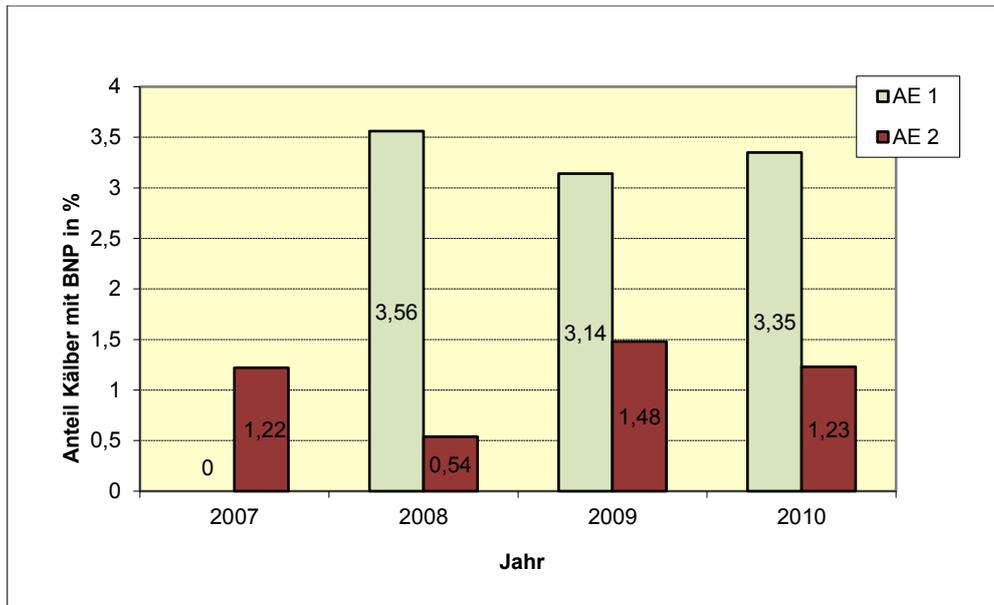
### **4.2 Vorkommen von BNP**

#### **4.2.1 BNP-Fälle gemäß Faldefinition**

Da nicht bei jedem erkrankten Kalb der AE1 und AE2 sämtliche Untersuchungsverfahren zur Abklärung des Vorliegens einer BNP angewendet werden konnten, wurden Faldefinitionen auf Basis zuvor festgelegter Kriterien formuliert und verwendet (siehe Material und Methoden 3.2.1). Auf die folgend benannten BNP-Fälle trafen mindestens zwei der unter a) bis d) genannten Kriterien der Faldefinition zu. Die Einteilung der Kälber in die in Material und Methoden (3.2.1) beschriebenen Evidenzstufen ist dem Anhang (9.2) beigefügt.

##### **4.2.1.1 Anzahl der an BNP erkrankten Kälber**

Auf Grundlage der zuvor festgelegten Faldefinitionen für BNP (siehe Material und Methoden 3.2.1) konnten im Zeitraum vom 01.07.2007 bis zum 31.07.2010 40 Fälle von BNP identifiziert werden; 26 BNP-Fälle betrafen die AE1 und 14 die AE2 (Abbildung 4). Informationen zu dem Geschlecht der erkrankten Kälber, den Befunden der klinischen Untersuchung, den Ergebnissen der Laboruntersuchungen und den Sektionsbefunden als auch Berechnungen zu Kälberverlusten sind dem Anhang (9.2) der Arbeit zu entnehmen.



**Abbildung 4.** BNP-Fälle in der AE1 und AE2 zwischen dem 01.07.2007 und dem 31.07.2010. Dargestellt ist der Anteil Kälber (in %), der – bezogen auf die Anzahl neugeborener Kälber (AE1: 954; AE2: 1260) - die Falldefinition für BNP erfüllte. AE1: grüne Säulen, AE2: rote Säulen.

#### Prävalenz und Inzidenz zum Auftreten der BNP

Die Periodenprävalenz zum Auftreten von BNP über diesen Beobachtungszeitraum betrug 1,8 %. Die Inzidenz (neu aufgetretene Fälle in dem jeweiligen Jahr zu den jeweiligen Geburten) betrug für den Zeitraum Juli bis einschließlich Dezember 2007 0,71 %, für das gesamte Jahr 2008 1,85 %, für das gesamte Jahr 2009 2,21 % und für die Periode von Januar 2010 bis zum 31.07.2010 2,15 %.

### 4.3 Ergebnisse der retrospektiven Kohortenstudie

Im Rahmen von retrospektiven Kohortenstudien wurden verschiedene Expositionsfaktoren hinsichtlich des Auftretens der BNP untersucht.

#### 4.3.1 Einfluss des Kolostrummanagements (Mischkolostrum/ Einzelkolostrum)

954 Kälbern aus der AE1 erhielten während der fünftägigen Biestmilchperiode Mischkolostrum, während den 1260 Kälbern aus der AE2 in derselben Periode ausschließlich Kolostrum der Mutter verabreicht wurde. In der AE1 erkrankten 26 Kälber an BNP, in der AE2 14 Kälber. Der zweiseitige Fisher-Exakt-Test ergab einen signifikanten Unterschied ( $p = 0,006$ ,  $OR = 2,49$ , Konfidenzintervall: 1,29-4,80) zwischen dem Auftreten der Krankheit in der AE1 nach Mischkolostrumgabe und der AE2 nach Einzelkolostrumgabe bezogen auf die Gesamtzahl neugeborener Kälber in der jeweiligen Abrechnungseinheit (Tabelle 12).

**Tabelle 12. Auftreten von BNP in Abhängigkeit vom Kolostrummanagement. Dargestellt wird die Anzahl Kälber, auf die die Falldefinitionen für BNP zutreffen (BNP) und die Anzahl Kälber, auf die die Falldefinitionen nicht zutreffen sowie die Art des Kolostrummanagements (Misch- versus Einzelkolostrum)**

	BNP	Kein BNP	Gesamt
Mischkolostrum	26	928	954
Einzelkolostrum	14	1246	1260
Gesamt	40	2174	2214

Den 26 Kälbern mit BNP aus der AE1 wurde nach der Geburt einmalig Einzelkolostrum, nachfolgend aber Mischkolostrum vertränkt, während die 14 Kälber aus der AE2 ausschließlich Einzelkolostrum erhielten.

Die Prüfung der Geburtsdaten der Kälber sollte klären, ob Kälber, welche Mischkolostrum erhielten und innerhalb ein- und desselben Zeitfensters geboren wurden, häufiger an BNP erkrankten als Kälber, die Einzelkolostrum erhielten. Für die AE1 kann anhand der Geburtsdaten und des Zutreffens der Falldefinitionen ein zeitlicher Zusammenhang zwischen den Geburtsdaten und dem Auftreten von BNP Kälbern nachgewiesen werden. Für 17 an BNP erkrankte Kälber ergab sich ein zeitlicher Zusammenhang ( $\pm 2$  Tage) mit BNP-Fällen bei weiteren Kälbern; in der AE2 konnte solch ein Zusammenhang für vier Kälber gefunden werden (siehe Anhang 9.2, Tabelle 32). Der zweiseitige Fisher-Exakt-Test ergab einen signifikanten Unterschied (Fisher Test  $p = 0,046$ , OR = 4,72, Konfidenzintervall: 1,15-19,41) zwischen dem Auftreten der Krankheit in der AE1 (Mischkolostrumgabe) und der AE2 (Einzelkolostrumgabe) und den zeitlich nahen Geburtsdaten der Kälber (Tabelle 13).

**Tabelle 13. Auftreten von BNP in Abhängigkeit vom Geburtstermin und Kolostrummanagement. Dargestellt werden die Anzahl Kälber, auf die die Falldefinitionen von BNP zutrafen und deren Geburtsdatum in ein vorgegebenes Zeitfenster ( $\pm 2$  Tage) passt sowie die Art des Kolostrummanagements (Mischkolostrum bzw. Einzelkolostrum).**

	Geburtsdatum innerhalb des vorgegebenen Zeitfensters ( $\pm 2$ Tage)	Geburt	Gesamt
Mischkolostrum	17	9	26
Einzelkolostrum	4	10	14
Gesamt	21	19	40

### 4.3.2 Einfluss der Anzahl Kalbungen

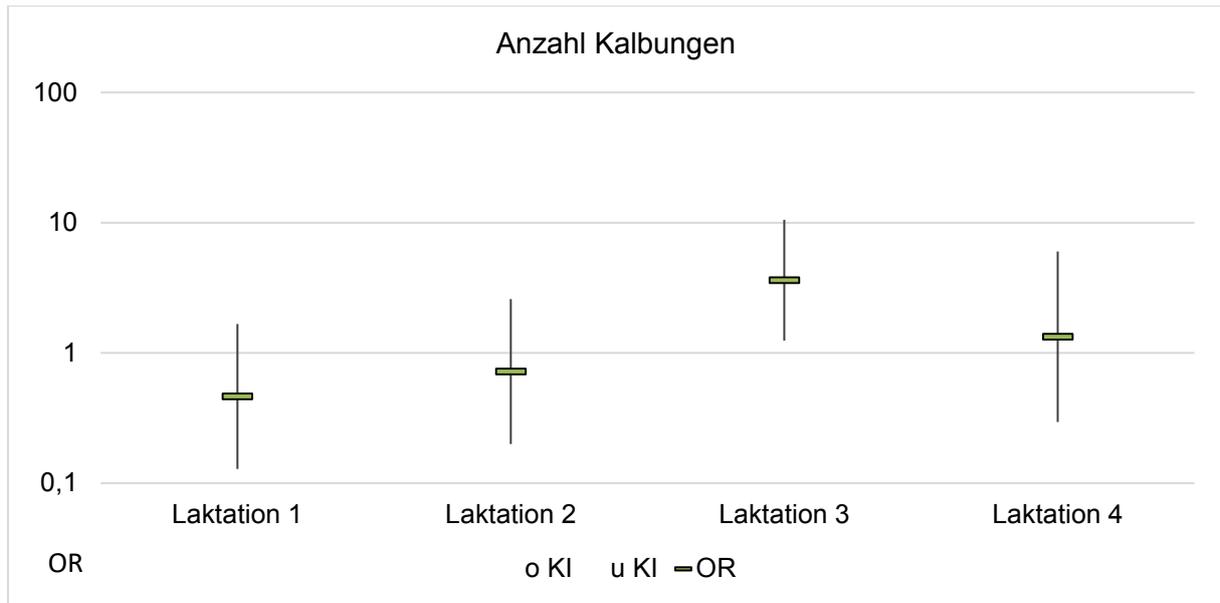
Aufgrund der Gabe von Mischkolostrum in AE1 konnte dieser Aspekt nur für die AE2 geprüft werden. Kälber mit BNP der AE2 wurden als exponierte Gruppe (n = 14) mit den nicht an BNP erkrankten Kälbern (n = 1246) hinsichtlich der Anzahl Kalbungen der Muttertiere verglichen. In der AE2 bestand eine statistisch signifikante Häufung für das Auftreten von Kälbern mit BNP laut Falldefinitionen für Kühe in der dritten Laktation gegenüber Kühen mit anderen Anzahlen an Kalbungen (Fisher Test,  $p = 0,023$ ) (Tabelle 14).

**Tabelle 14.** Einfluss der Laktationszahl der Mütter auf das Auftreten von BNP. Dargestellt wird die Laktationszahl (Anzahl Kalbungen) der Muttertiere in der AE2 und die Anzahl Kälber, auf die jeweils die Falldefinitionen für BNP zutrif. Hinzu kommen die Ergebnisse des zweiseitigen Fisher-Exact-Tests (p), des Odds Ratios (OR) und der Konfidenzintervalle

Anzahl Kalbungen AE2	BNP n(D/E)	Anzahl aller Kälber	p	OR	u. KI (OR)	o. KI (OR)
1	3	465	0,28	0,46	0,13	1,67
2	3	346	0,77	0,72	0,2	2,59
3	6	220	0,023*	3,62	1,24	10,53
4	2	141	0,66	1,33	0,29	5,99
5	0	57	1	0	0	
6	0	21	1	0	0	
7	0	10	1	0	0	
Gesamt	14	1260				

Anmerkungen. p = Irrtumswahrscheinlichkeit; \* statistisch signifikantes Ergebnis ( $p \leq 0,05$ )

Das Odds Ratio ist mit dem Wert 3,62 in der dritten Laktation am höchsten, demnach war das Chancenverhältnis für Kälber von Drittlaktierenden an BNP zu erkranken höher, als für Erstkalbinnen und für Kühe anderer Laktationszahlen (Abbildung 6). Bei mehr als vier Abkalbungen betrug das Odds Ratio 1 und das untere Konfidenzintervall null, so dass diese nicht in der Abbildung aufgeführt wurden.



**Abbildung 5.** Einfluss der Laktationszahl auf die Wahrscheinlichkeit der Geburt eines Kalbes, das später an BNP erkrankt. Darstellung der Odds Ratios und der unteren und oberen Konfidenzintervalle zur Anzahl Kalbungen (1-4) der Muttertiere und dem Vorkommen von BNP.

#### 4.3.3 Einfluss von Impfstrategien

Geprüfte Hypothese: Bestimmte Impfstrategien erhöhen das Risiko für das Auftreten von Kälbern mit BNP.

##### 4.3.3.1 Einfluss der Anzahl Impfungen gegen BVDV

Während der Beobachtungsperiode konnten keine Hinweise auf den Ausbruch einer BVDV-Infektion in den Betrieb gefunden werden. Die jährlich wiederkehrenden Untersuchungen von Jungtieren im Rahmen des sogenannten "Jungtierfensters" auf das BVDV verliefen mit negativem Ergebnis. Darüber hinaus wurden in dem Betrieb vor und während des Beobachtungszeitraums keine klinischen Fälle bekannt, die für eine Infektion mit dem BVDV sprechen.

Die Anzahl Wiederholungsimpfungen wurde dahingehend geprüft, ob mehrere Wiederholungsimpfungen des Muttertieres mit dem BVD-Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) zu einer höheren Wahrscheinlichkeit für die Geburt von Kälbern Anlass geben, die später an BNP erkranken (Tabelle 15). Für Mütter von 225 Kälbern (davon 3 Kälber mit BNP) in der AE2 ließ sich der Zeitpunkt der Grundimmunisierung und demzufolge die Anzahl Boosterimpfungen nicht nachvollziehen, daher wurden diese Tiere nicht in die Berechnungen einbezogen. Daten von 11 Kälbern mit BNP und 558 Kälbern, auf die die Falldefinitionen für BNP nicht zutrafen, standen für die Berechnungen zur Verfügung. Mit dem zweiseitigen Fisher-Exact-Test konnte nachgewiesen werden, dass bei zweimaliger Wiederholungsimpfung das Auftreten von BNP statistisch auffällig ist ( $p = 0,03$ ). Bei den

anderen Anzahlen der Wiederholungsimpfungen lagen keine signifikanten Unterschiede verbunden mit dem Auftreten von BNP vor.

**Tabelle 15.** Einfluss der Anzahl Wiederholungsimpfungen (Boosterimpfung) gegen BVDV mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland). Dargestellt werden die Anzahl BVD-Wiederholungsimpfungen von Muttertieren mit bekannter Grundimmunisierung (GI) der AE2 und das Auftreten von BNP-Kälbern gemäß der Falldefinitionen. Dazu die Signifikanzberechnung mit dem Fisher-Exact-Test (p) und des Odds Ratios inklusive Konfidenzintervallen

Anzahl Booster-Impfung	BNP n(D/E)	Anzahl aller Kälber	p	OR	u. KI (OR)	o. KI (OR)
0	3	214	0,55	0,63	0,16	2,38
1	0	41	1	0		
2	6	144	0,03*	3,82	1,15	12,71
3	2	130	1	0,76	0,16	3,56
4	0	40	1	0		
Gesamt <sub>1</sub>	11	569				
Keine GI bei Mutter bekannt	3	225	0,77	1,45	0,40	5,25
Gesamt	14	794				

Anmerkungen. \* statistisch signifikant ( $p \leq 0,05$ ), Odds Ratio (OR), o. und u. KI = oberes und unteres Konfidenzintervall, p = Irrtumswahrscheinlichkeit

#### 4.3.3.2 Einfluss des Trächtigkeitsstadiums zum Zeitpunkt der Impfung gegen BVDV

Es wurde geprüft, inwieweit der Zeitpunkt der Wiederholungsimpfung gegen BVDV während der Trächtigkeit einen Einfluss auf das Auftreten von BNP-Kälbern hat. Die exponierte Gruppe stellten die Kälber mit BNP dar, die nicht exponierte die verbliebenen Kälber beider AE. Muttertiere, die zum Zeitpunkt der Impfung nicht tragend waren, stellten die jeweilige Referenzmenge dar. In der ersten Trächtigkeitshälfte (Trächtigkeitsmonat 1 bis 4) wurde nur ein Muttertier von Kälbern mit BNP gegen das BVDV geimpft. Kälber von in der zweiten Trächtigkeitshälfte (Monat 5 bis 9) geimpften Muttertieren besaßen ein signifikant erhöhtes Odds Ratio (Fisher Test,  $p < 0,01$ , OR = 3,41, KI = 1,71-6,99) gegenüber anderen Kälbern an BNP zu erkranken (Tabelle 16).

**Tabelle 16.** Einfluss des Zeitpunktes der BVDV-Wiederholungsimpfung mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) hinsichtlich des Trächtigkeitsstadiums. Dargestellt wird die erste Trächtigkeitshälfte (Monat 1 bis 4) und die zweite Trächtigkeitshälfte (Monat 5 bis 9) zu denen die Wiederholungsimpfung gegen BVDV in beiden AE stattfand und die Anzahl nachfolgend geborener Kälber, auf die die Falldefinitionen von BNP zutrafen. Als Referenz gelten Tiere, die zum Zeitpunkt der Wiederholungsimpfung nicht tragend waren. Hinzu kommen die Ergebnisse des zweiseitigen Fisher-Exakt-Tests und des Odds Ratios mit Konfidenzintervallen.

Tragend bei BVD-Impfung	BNP gesamt n(D/E)	Anzahl geborene Kälber	p	OR	u. KI (OR)	o. KI (OR)
Monat 1-4	1	212	0,17	0,24	0,01	1,43
Monat 5-9	14	728	<0,01*	3,41	1,71	6,99
Bei x Kälbern nicht tragend <b>Referenz</b>	25	1249	0,63	1,23	0,62	2,53
Gesamt	40	2214				

Anmerkungen. \* statistisch signifikant ( $p \leq 0,05$ ), OR = Odds Ratio, o. und u. KI = oberes und unteres Konfidenzintervall, p = Irrtumswahrscheinlichkeit

#### 4.3.3.3 Einfluss der Immunisierung gegen das Blauzungenvirus (BTV)

Zur Testung der Hypothese, dass das Risiko, dass ein Kalb geboren wird, welches an BNP erkrankt, mit Impfungen gegen die Blauzungenkrankheit (BTV) steigt, wurden in der AE2 die Mütter der Kälber mit BNP und die Mütter der Kälber ohne BNP hinsichtlich der BTV-Impfung (ja/ nein) miteinander verglichen. (Tabelle 17). Die geimpften und ungeimpften Tiere unterschieden sich bezüglich des Auftretens von Kälbern mit BNP nicht statistisch signifikant voneinander (Fisher Test,  $p = 0,76$ , OR = 0,86, KI = 0,24-3,79).

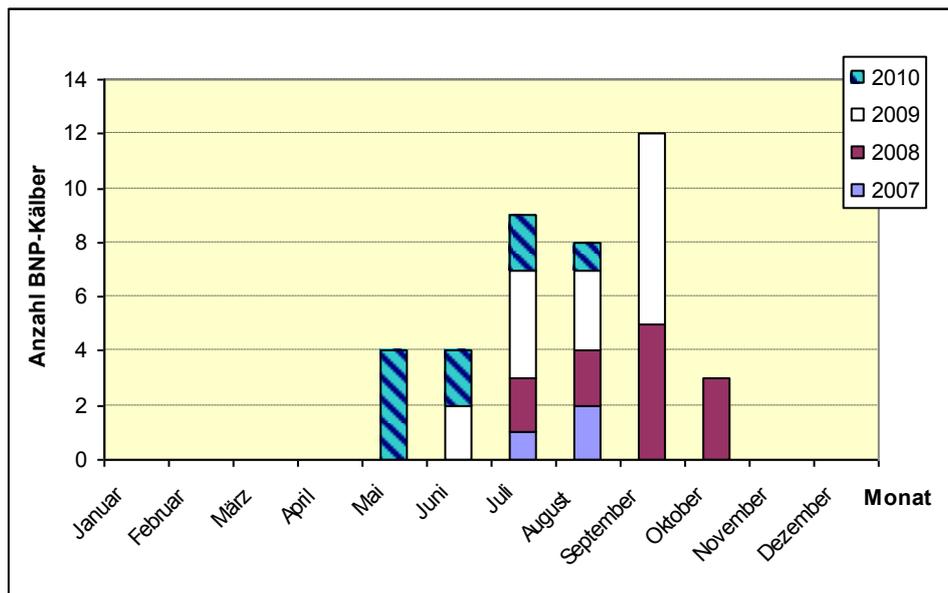
**Tabelle 17.** Einfluss der Impfung gegen BTV. Dargestellt wird die Anzahl der gegen BTV-8-geimpften bzw. ungeimpften Muttertiere der AE2 sowie die Anzahl Kälber, auf die die Falldefinitionen von BNP zutrafen bzw. nicht zutrafen.

Impfung gegen BTV-8	Mütter von Kälbern mit BNP im Beobachtungszeitraum in der AE2	Muttertiere ohne Kälber mit BNP im Beobachtungszeitraum in der AE2	Gesamt
Ja	10	571	581
Nein	4	196	200
Gesamt	14	767	781

#### 4.3.4 Einfluss der Jahreszeit

Die retrospektive Analyse der Betriebsdaten erlaubte eine Zuordnung der BNP-Fälle zu den verschiedenen Monaten des Jahres. Hierbei wurden die Vektor-reichen (d.h. Stechinsekten reichen) Monate Mai bis Oktober als Sommermonate definiert, als Wintermonate galten die Monate November bis April, in denen wenig bis keine Stechinsekten und andere Vektoren vorhanden sind. Für die Monate November bis April der Jahre 2007 bis 2010 wurden keine BNP-Fälle ermittelt. Für den Monat Mai liegen nur aus dem Jahr 2010 Berichte über BNP-Fälle vor (Abbildung 6). Gehäuft wurden BNP-Fälle für die Monate Juli, August und September in den Jahren 2007 bis zum 31. Juli 2010 ermittelt. Ein Anteil von 72,5 % (29/40) aller BNP-Fälle wurden in diesen Monaten beobachtet, davon 30 % (12/40) allein in dem Monat September.

Mithilfe von Wetterdaten, die für die Region, in der sich der landwirtschaftliche Betrieb befindet, ermittelt wurden (Anonym 2010b), lässt sich nachweisen, dass BNP-Fälle dort in den betrachteten Jahren vorrangig bei durchschnittlichen Temperaturen zwischen +9 °C und +18 °C auftraten. Zusammenhänge zwischen den Niederschlagsmengen und dem Auftreten von BNP ließen sich nicht aufzeigen.



**Abbildung 6. Monatliche Verteilung der BNP-Fälle im Zeitraum vom 01.07.2007 bis zum 31.07.2010**

Kälber mit BNP galten als exponiert, die verbleibenden Kälber der Studienpopulation als nicht exponiert. BNP-Fälle traten häufiger in den Sommermonaten auf. Tabelle 18 gibt die Anzahl der Fälle gemäß der BNP-Falldefinitionen sowie die Anzahl Kälber, auf die diese Definitionen nicht zutreffen für die verschiedenen Monate mit den dazugehörigen Odds Ratios wieder. Im Monat September kam es im Vergleich zu allen anderen Monaten des Jahres signifikant häufiger zu BNP-Fällen (Fisher Test,  $p < 0,01$ , OR = 5,39, KI = 2,69-10,81).

**Tabelle 18.** Einfluss des Monats im Jahr. Dargestellt wird die Anzahl Kälber mit BNP gemäß der Falldefinitionen, die in einem bestimmten Monat des Jahres innerhalb des Beobachtungszeitraums registriert wurden sowie die Anzahl derjenigen Kälber, auf die die Falldefinitionen nicht zutreffen. Darüber hinaus enthält die Tabelle die Ergebnisse des zweiseitigen Fisher-Exact-Tests und des Odds Ratios mit Konfidenzintervallen zu der Verteilung der BNP-Fälle über die Monate.

Monate	BNP gesamt n(D/E)	Anzahl Kälber- geburten	p	OR	u. KI (OR)	o. KI (OR)
Januar	0	177	0,07	0		
Februar	0	146	0,11	0		
März	0	157	0,11	0		
April	0	134	0,17	0		
Mai	4	191	0,77	1,18	0,42	3,35
Juni	4	196	0,78	1,15	0,40	3,26
Juli	9	304	0,11	1,85	0,87	3,92
August	8	203	0,03*	2,54	1,15	5,58
September	12	172	<0,01*	5,39	2,69	10,81
Oktober	3	172	1	0,96	0,29	3,15
November	0	176	0,07	0		
Dezember	0	186	0,05*	0		
Gesamt	40	2214				

*Anmerkungen.* \* statistisch signifikantes Ergebnis ( $p \leq 0,05$ ); OR = Odds Ratio, o. und u. KI = oberes und unteres Konfidenzintervall; p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Betrachtet man das Vorkommen von BNP in den nahezu stechinsektenfreien Monaten November bis April, so ist auffällig, dass in diesem Zeitraum kein BNP-Fall in dem Betrieb beobachtet wurde. Dahingegen wurden sämtliche BNP-Fälle in den Monaten Mai bis Oktober, in denen üblicherweise viele Insekten vorkommen, verzeichnet (Fisher Test,  $p < 0,00001$ ) (Tabelle 19).

**Tabelle 19.** Einfluss stechender Insekten. Dargestellt wird die Anzahl Kälber, auf die die Falldefinitionen für BNP zutreffen (BNP) bzw. nicht zutreffen (kein BNP), gesondert nach dem Geburtsdatum in Monaten mit Anwesenheit (Mai-Oktober) bzw. Abwesenheit (November-April) stechender Insekten. Mit dem zweiseitigen Fisher Exact Test ergibt sich hierbei eine signifikante Häufung der Fälle in den Monaten mit Anwesenheit stechender Insekten in der Umgebung der Tiere ( $p \leq 0,05$ ).

	BNP	Kein BNP	Gesamt
Geboren Mai bis Oktober	40*	1198	1238
Geboren November bis April	0	976	976
Gesamt	40	2174	2214

Anmerkungen. \*  $p < 0,001$

#### 4.3.5 Einfluss durch Totgeburten

114 Kühe (14,6 %, 114/781) erlitten innerhalb des Beobachtungszeitraums in der AE2 mindestens eine Totgeburt. Unterschieden wird in die Gruppe der Mütter von Kälbern, auf die die Falldefinitionen zutreffen (BNP) und Mütter von Kälbern, auf die die Falldefinitionen nicht zutreffen. Zwei Mütter von Kälbern mit BNP (14,26 %, 2/14) wiesen in vorhergehenden Jahren eine Totgeburt auf. In 85,71 % (12/14) der Fälle ließ sich keine Totgeburt feststellen (Tabelle 20). Es traten bis zum Ende der Beobachtungsperiode am 31.07.2010 keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Müttern von Kälbern mit BNP und Müttern ohne solche Kälber auf (Fisher Test,  $p = 1$ ).

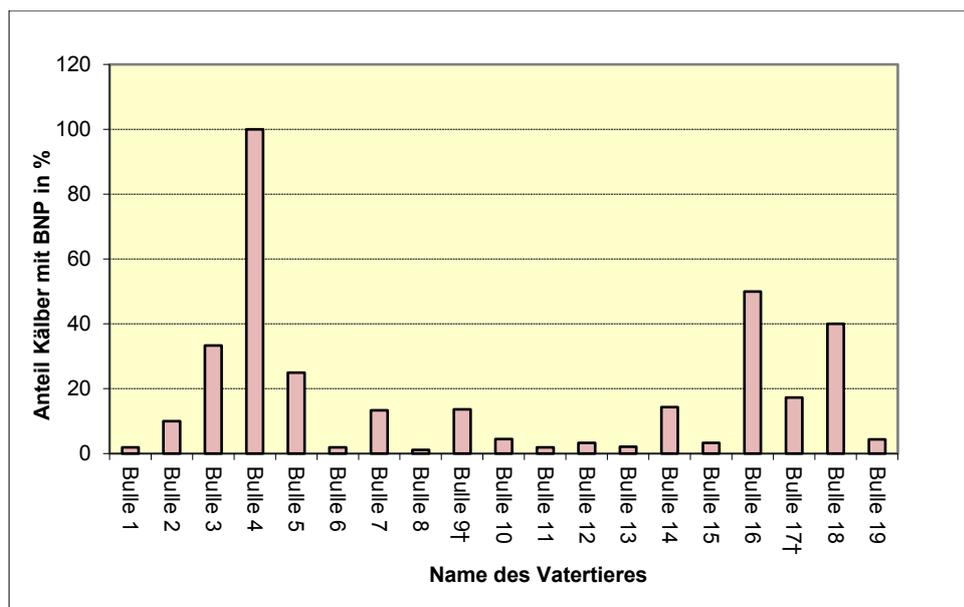
**Tabelle 20.** Einfluss durch Totgeburten. Dargestellt werden Meldungen über Totgeburten in der AE2 bei Muttertieren von Kälbern, die die Falldefinitionen für BNP erfüllten bzw. nicht erfüllten sowie die Ergebnisse des zweiseitigen Fisher-Exact-Tests und der Berechnung des Odds Ratios mit Konfidenzintervallen.

Totgeburten	Mütter von Kälbern mit BNP	Muttertiere ohne Kälber mit BNP	p	OR	u. KI (OR)	o. KI (OR)
Nein	12	665	1	1,03	0,23	4,65
Ja	2	112	1	0,97	0,22	4,41
Gesamt	14	767				

Anmerkungen: OR = Odds Ratio, o. und u. KI = oberes und unteres Konfidenzintervall;  $p$  = Irrtumswahrscheinlichkeit

#### 4.3.6 Einfluss der Abstammung

Die Auswahl der Vatertiere traf der Geschäftsführer des Betriebs für beide AE. Auf Grundlage der Betriebsdaten konnte jedem Kalb, das innerhalb des Beobachtungszeitraums erfasst wurde, ein Vatertier zugeordnet werden bzw. der Stammbaum nachvollzogen werden. Kälbern, auf die die Falldefinitionen für BNP zutrafen, ließen sich insgesamt 19 verschiedene Vatertiere zuordnen. In Abbildung 7 wird der Anteil Kälber, auf den die Falldefinition zutrifft, dem jeweiligen Vatertier zugeordnet.



Anmerkungen. † Diese Bullen wiesen überlebende Kälber mit BNP auf.

**Abbildung 7. Einfluss der Abstammung.** Es wird dargestellt, wie hoch der Anteil der Kälber, auf die die Falldefinitionen für BNP zutreffen, je Vatertier ist.

Es wurden die Vatertiere der Kälber, auf die die Falldefinitionen zutreffen und im Beobachtungszeitraum geboren wurden, überprüft. Auch die Väter der Muttertiere von Kälbern, auf die die Falldefinition für BNP zutrifft, wurden aufgelistet (siehe Anhang 9.5). Es fand eine Analyse der Anpaarungen, die alle Mütter der Studienpopulation in ihrem Leben, also über den Studienzeitraum hinaus, gehabt hatten, statt. Durchgeführt wurden die Berechnungen für beide AE. In der AE1 und AE2 galten die Kälber mit BNP als exponiert; als nicht exponiert galt die Studienpopulation ohne die erkrankten Kälber. Alle 19 Väter von Kälbern, auf die die Falldefinition für BNP zutraf, wurden berücksichtigt. Darüber hinaus wurden alle Kälber dieser Väter aus der Studienpopulation, ob an BNP erkrankt oder nicht, in die Betrachtungen einbezogen (Tabelle 21, Abbildung 8). Der Bulle 4 hatte innerhalb der Studienpopulation nur ein Kalb gezeugt, welches dann an der BNP verendet war. Das Muttertier dieses Kalbes war bereits ein Jahr zuvor die Mutter eines Kalbes mit BNP. Auf den Bullen 18 ließen sich zwei Kälber mit BNP zurückführen, die im Jahr 2007 geboren wurden.

Von 19 Bullen konnten fünf häufiger mit dem Auftreten der BNP im Studienbetrieb in Zusammenhang gebracht werden, denn diese Väter hatten mehr als zwei später an BNP erkrankte Kälber gezeugt. Die Berechnungen für mehrere dieser Bullen zeigten statistisch signifikante Ergebnisse (Tabelle 21).

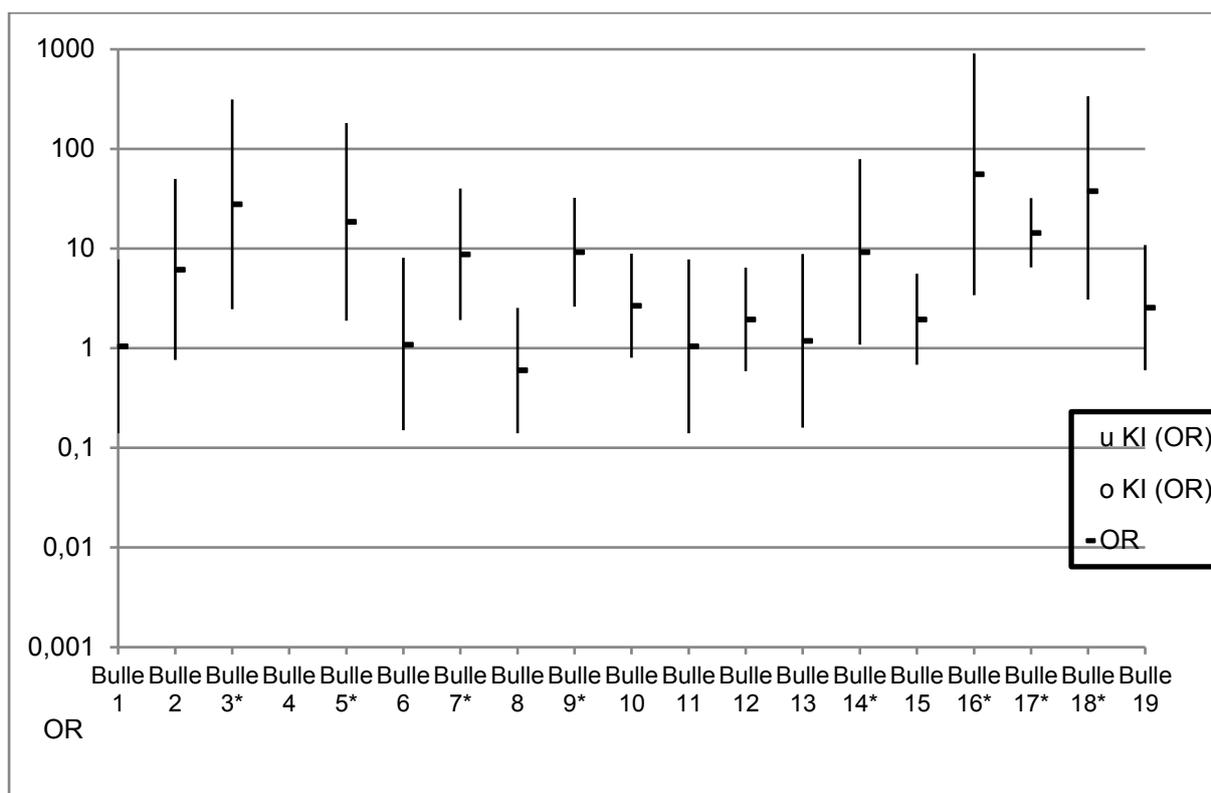
**Tabelle 21. Einfluss des Vatterieres. Dargestellt wird die Anzahl Nachkommen eines bestimmten Bullen (Bulle 1-19) in der AE1 und der AE2 innerhalb des Beobachtungszeitraums, auf die die Falldefinitionen für BNP zutraf sowie die Gesamtzahl der Nachkommen dieses Bullen im genannten Zeitraum. Ergebnisse des zweiseitigen Signifikanztests nach Fisher und das Odds Ratio mit Konfidenzintervallen**

Vatertiere AE1 und AE2	BNP gesamt n(D/E)	Einsatz Bulle gesamt	P	OR	u. KI (OR)	o. KI (OR)
Bulle 1	1	53	0,62	1,05	0,14	7,76
Bulle 2	1	10	0,17	6,17	0,76	49,88
Bulle 3	1	3	0,053	27,85	2,47	313,56
Bulle 4	1	1	0,02*			
Bulle 5	1	4	0,07	18,56	1,89	182,37
Bulle 6	1	51	0,61	1,09	0,15	8,09
Bulle 7	2	15	0,03*	8,75	1,91	40,12
Bulle 8 <sup>†</sup>	2	176	0,77	0,60	0,14	2,53
Bulle 9	3	22	0,01*	9,20	2,61	32,43
Bulle 10	3	67	0,12	2,67	0,80	8,90
Bulle 11	1	53	0,62	1,05	0,14	7,76
Bulle 12	3	90	0,22	1,95	0,59	6,43
Bulle 13	1	47	0,58	1,19	0,16	8,82
Bulle 14	1	7	0,12	9,26	1,09	78,79
Bulle 15	4	121	0,28	1,95	0,68	5,58
Bulle 16	1	2	0,04*	55,72	3,42	907,04
Bulle 17	9	52	<0,01*	14,39	6,46	32,06
Bulle 18	2	5	0,003*	37,71	3,07	338,06
Bulle 19	2	46	0,20	2,55	0,60	10,89
Andere	0	1389				
Gesamt Kälber	40	2214				

*Anmerkungen.* † Dieser Bulle zeugte zwei Kälber mit BNP mit ein und derselben Mutter in zwei aufeinanderfolgenden Jahren.

\*signifikantes Ergebnis:  $p \leq 0,05$ , OR = Odds Ratio, o. und u. KI = oberes und unteres Konfidenzintervall, p = Irrtumswahrscheinlichkeit

Abbildung 8 veranschaulicht die Odds Ratios mit Konfidenzintervallen der Vätertiere.



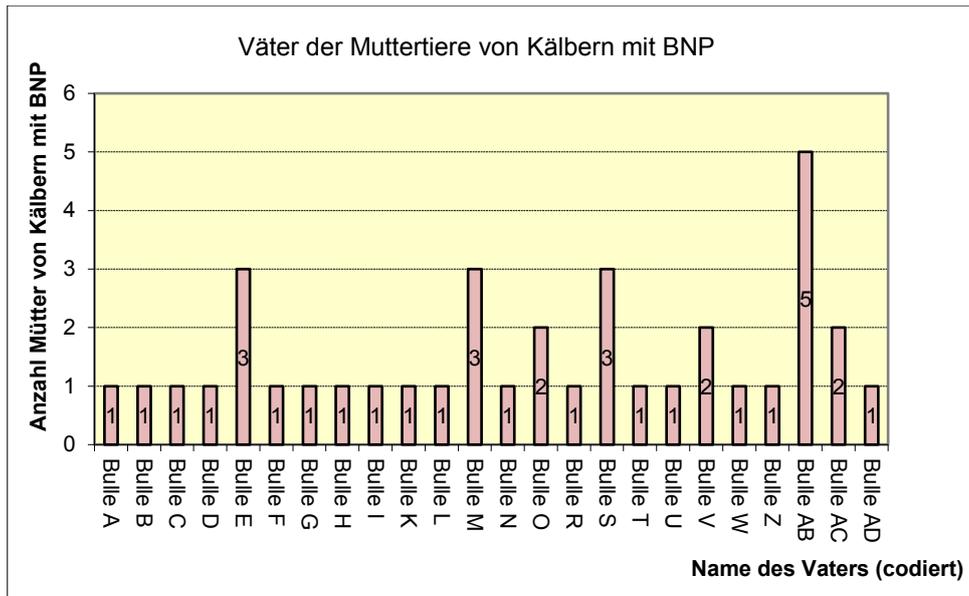
Anmerkungen. \*signifikantes Ergebnis:  $p \leq 0,05$ , OR = Odds Ratio, o. und u. KI = oberes und unteres Konfidenzintervall, p = Irrtumswahrscheinlichkeit

**Abbildung 8. Einfluss der Vätertiere. Diagramm zu den Odds Ratios und den unteren und oberen Konfidenzintervallen der Vätertiere von Kälbern mit BNP**

### Abstammung der Muttertiere

Bis auf ein Muttertier waren alle Mütter von Kälbern mit BNP unterschiedlicher Abstammung. Einige der Bullen waren prozentual stark als Väter von Müttern von Kälbern mit BNP vertreten. Ein Bulle ist Vater von fünf Müttern mit Kälbern mit BNP, wurde allerdings auch 101-malig für nicht betroffene Tiere eingesetzt (siehe Abbildung 9). Mit dem zweiseitigen Fisher-Exact-Test konnte nachgewiesen werden, dass die Verteilung der Anzahl der Einsätze von Bulle AB bei Müttern mit Kälbern mit BNP und Muttertieren ohne Kälber mit BNP nicht statistisch signifikanz verschieden war (Fisher Test,  $p = 0,326$ ).

## Ergebnisse



**Abbildung 9.** Übersicht über die Väter der Mütter von Kälbern mit BNP in beiden AE

## 5. Diskussion

Die erstmals im Jahr 2006 beim Kalb beschriebene Krankheit Bovine Neonatale Panzytopenie wurde bereits kurz nach deren Entdeckung ursächlich mit der Verwendung eines Impfstoffs gegen das Virus der Bovinen Virusdiarrhoe in Zusammenhang gebracht. Das gehäufte Auftreten der BNP in einer Milchkuhhaltung im Bundesland Brandenburg gab Anlass, die näheren Umstände des Auftretens der Erkrankung im Rahmen eines Dissertationsvorhabens mittels epidemiologisch-statistischer Verfahren zu untersuchen. Als Grundlage diente die umfassende Dokumentation auf Ebene des Einzeltieres, die für die Tiere des Betriebs verfügbar war sowie dessen Kooperation mit der Klinik für Klauentiere der Freien Universität Berlin, die eine umfassende Diagnostik bei einer Vielzahl erkrankter Kälber ermöglichte. Die Untersuchungen fanden im Rahmen des Verbundprojektes „Ursachenermittlung der bei Kälbern auftretenden Hämorrhagischen Diathese (Bovine Neonatale Panzytopenie, BNP)“ des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) statt.

Die Feldstudie fand in einem Milchviehbetrieb mit Kälberaufzucht im Bundesland Brandenburg statt, der zwei Betriebsteile mit 558 Kühen (AE1) und 781 Kühen (AE2) an zwei verschiedenen Standorten bewirtschaftete. Zum Zeitpunkt der Untersuchungen im Jahr 2010 wies der genannte Betrieb mit 40 BNP-Fällen über einen Zeitraum von vier Jahren im Vergleich zu anderen Betrieben gleicher Größe, in denen nur sporadisch BNP-Fälle auftraten, mit einer Periodenprävalenz von 1,8 % und Inzidenzen von bis zu 2,21 % (im Jahr 2009), einen vergleichsweise hohen Anteil an BNP-Erkrankungen auf. Ursprünglich bestand der Verdacht, dass nur in einem der Betriebsteile Fälle von BNP auftraten, sodass sich aufgrund der ähnlichen Struktur der beiden Abrechnungseinheiten das Prinzip der Fall-Kontroll-Studie für die Studie angeboten hätte. Anhand der Datenerhebung wurde jedoch festgestellt, dass in beiden Abrechnungseinheiten Kälber an BNP erkrankt waren. Daher wurde die retrospektive Kohortenstudie gewählt, in der die Studienpopulation (geborene Kälber in dem Beobachtungszeitraum) bezüglich verschiedener Expositionen in Risiko- und Vergleichsgruppen eingeteilt und hinsichtlich der Erkrankung an BNP beobachtet und verglichen werden konnte. Zusätzlich erlaubt das Kohortendesign Flexibilität bei der Wahl der Variablen, die dann systematisch dokumentiert werden können (Thrusfield 2005). Die retrospektive Herangehensweise hilft dabei, zwei wesentliche Nachteile der prospektiven Kohortenstudie zu umgehen. Erstens sind prospektive Kohortenstudien meist potentiell von langer Dauer, und daraus folgend mit hohen Kosten und einem großen Aufwand für den Untersucher und die Studienbetriebe verbunden. Zweitens kann durch die relativ freie Wahl der Länge der Beobachtungsperiode eine verhältnismäßig große Anzahl von Probanden herangezogen werden. Zusätzlich zu den genannten Vorteilen der retrospektiven Herangehensweise wurde der Beobachtungszeitraum in der Vergangenheit gewählt, da ab

April 2010 mit dem Zurückziehen des BVD-Impfstoffes PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) vom Markt seitens des Herstellers auf die mögliche Beteiligung der Impfung an der Ätiopathogenese der BNP reagiert wurde.

Der vorliegenden Arbeit liegen verschiedene Hypothesen zugrunde, die auf Grundlage dessen, was über die Entstehungsweise der BNP im Jahr 2010 bekannt war, aufgestellt wurden (siehe Literaturübersicht 2.9). Diese Hypothesen sollten durch die Beobachtungen im Feld und anhand von Daten aus verschiedenen Datenquellen mittels statistisch-epidemiologischer Methoden überprüft werden. Bei der allgemeinen Auswertung in Phase 1 der Studie wurden Milchleistungsdaten, Fruchtbarkeitskennzahlen, die Anzahl Kühe in den verschiedenen Laktationen, das Alter der Kühe sowie die Anzahl Abgänge im Zeitraum vom 01.07.2007 bis zum 31.07.2010 aus den vorliegenden Datenquellen jeweils separat für die AE1 und AE2 ermittelt. Dabei wurde festgestellt, dass hinsichtlich der genannten Merkmale keine wesentlichen Unterschiede zwischen den AE bestanden. Zudem handelte es sich bei dem Betrieb um einen Standardbetrieb, der im Durchschnitt der Brandenburger Betriebe lag (Tierzuchtreport des Landesamtes für Verbraucherschutz, Landwirtschaft und Flurneuordnung Brandenburg (LVLf) 2008-2010).

Aufgrund des retrospektiven Charakters der vorliegenden Studie mussten vorab Kriterien bestimmt werden, die zur Identifizierung und Einstufung von BNP-Fällen dienten. Dazu wurde für diese Studie eine Falldefinition festgelegt, die auf dem im Jahr 2011 verfügbaren Wissen über die BNP aufbaute (Friedrich et al. 2009a, Pardon et al. 2010, Scholes et al. 2009). Die Kriterien umfassten das Alter des bis dato erkrankten oder gestorbenen Kalbes, Auftreten von Symptomen der BNP, Ergebnisse hämatologischer Untersuchungen sowie Befunde der Sektion im Sinne der BNP. Wurden anhand der Datenquellen (siehe Material und Methoden 3.4.1) Kälber ermittelt, auf die zwei der vier oben genannten Kriterien zutrafen, so wurden diese als BNP-Fälle deklariert. Auf diesem Wege konnten viele Kälber mit BNP sicher identifiziert werden. Dennoch ist es möglich, dass Kälber, die an BNP erkrankt waren, übersehen worden waren. So wurde für Kälber, von denen keine hämatologischen Ergebnisse oder Sektionsbefunde vorlagen, auf die Dokumentation der jeweiligen Betriebsleiter und der Betriebstierärztin zurückgegriffen. Mängel in der Datenqualität können wie bei allen retrospektiven Studien vorkommen, da unvollständiges Datenmaterial oder erinnerungsbedingte Fehler (recall bias) nicht völlig ausgeschlossen werden können (Weiss 2005). Lagen nur unvollständige oder widersprüchliche Daten zu BNP-Fällen vor, so wurden diese bereits vorab aus der Studie ausgeschlossen. Für die Berechnung des Odds Ratios, der Signifikanz und der Konfidenzintervalle wurden alle mithilfe der Falldefinition deklarierten BNP-Fälle eingesetzt.

Bezüglich des **Geschlechts** der an BNP erkrankten Kälber konnten Unterschiede aufgezeigt werden. Das Chancenverhältnis, an BNP zu erkranken, war für Färsenkälber 2,21-mal höher als für Bullenkälber. Es zeigte sich auch, dass deutlich häufiger erkrankte bzw. verstorbene Kälber weiblichen Geschlechts in die Klinik oder die Pathologie überwiesen wurden. Eine Erklärung könnte sein, dass die Bullenkälber, zum Teil bereits im Alter von zwei bis vier Wochen, in die Bullenmast des Betriebes übergangen, während die Färsenkälber als eigene Nachzucht im Betrieb verblieben. So war die Anzahl an weiblichen Kälbern signifikant höher als an männlichen Kälbern (Fisher Test,  $p = 0,024$ ). Das Alter, in dem die Kälber an BNP erkrankten betrug in der überwiegenden Zahl der Fälle zwischen 13 und 17 Tage. Anderen Berichten zufolge zeigten Kälber frühestens ab einem Alter von zwei Tagen, mehrheitlich jedoch erst ab dem neunten Lebenstag in der sogenannten „Blutungsphase“ Hautblutungen (Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010). Da Bullenkälber ab einem Alter von vierzehn Tagen transportiert und somit gehandelt werden dürfen, muss davon ausgegangen werden, dass mögliche BNP-Fälle erst zu einem späteren Zeitpunkt in dem entfernt gelegenen Mastbetrieb der Agrargenossenschaft aufgetreten sind. Es war im Projekt nicht möglich, weitere Informationen zu den Bullenkälbern zu erhalten. Somit stellt die Umstellung der männlichen Kälber in die Mastanlage einen Confounder dar. Auch was die Abklärungsuntersuchungen im Krankheitsfall betrifft, werden diese bevorzugt für weibliche Kälber in Auftrag gegeben, da deren Gesunderhaltung im wirtschaftlichen Interesse einer Milchkuhhaltung liegt. Deshalb wird davon ausgegangen, dass die Ergebnisse im vorliegenden Fall eine Scheinassoziation darstellen. Auch vorangegangene Untersuchungen anderer Autoren konnten keinen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von BNP und dem Geschlecht der Kälber nachweisen (Friedrich et al. 2009a, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010).

Es handelt sich bei BNP um ein seltenes Phänomen in der Rinderpopulation (Prävalenz Fälle von 1,4/10000 (für Deutschland, Theron et al. (2010)). Durch den Einsatz des professionellen Herdenmanagementprogramms „Herde“ (dsp Agrosoft, Ketzin, Version 5.4) konnten in dem untersuchten Bestand kontinuierlich große Datenmengen erfasst werden. Hieraus konnten Arbeitshypothesen erarbeitet und in der zweiten Phase der Studie mittels statistisch epidemiologischer Verfahren überprüft werden. Diesbezüglich wurden die folgenden Einflüsse auf das Auftreten von BNP geprüft:

- das Kolostrummanagement (Mischkolostrum, Einzelkolostrum)
- die Anzahl der Kalbungen,
- die Immunisierungen gegen BVDV und BTV,

- die jahreszeitliche Verteilung der BNP-Fälle,
- die Totgeburtenrate und
- die Abstammung

### **5.1 Kolostrummanagement (Mischkolostrum/ Einzelkolostrum)**

Die Tatsache, dass die Aufnahme von Kolostrum einen bedeutenden Faktor in der Pathogenese von BNP darstellt, gilt als erwiesen (Bauer et al. 2009, Bridger et al. 2011, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2008, Friedrich et al. 2009a, Friedrich et al. 2009d, Friedrich et al. 2011, Pardon et al. 2011, Schröter et al. 2011). Im Falle des Vorhandenseins alloreaktiver Antikörper im Kolostrum einer Mutter, wurde in der vorliegenden Arbeit vermutet, dass die Verwendung von Mischkolostrum zu einem gehäuften Vorkommen von BNP Anlass gibt. Unterschiede im Kolostrummanagement in den beiden AE des Betriebes ließen eine Prüfung der Hypothese, dass die Verabreichung von Mischkolostrum zu einer höheren Anzahl BNP-Fälle führt, zu. In der AE1 (Mischkolostrum) traten signifikant häufiger BNP-Fälle auf als in der AE2 (Einzelkolostrum) (Fisher Test,  $p = 0,006$ , OR = 2,49). Damit bestätigte sich die aufgestellte Hypothese, dass bei Mischkolostrumgabe das Vorkommen von Kälbern mit BNP deutlich erhöht ist. Schröter et al. (2011) und Witt et al. (2011) beobachteten, dass bei dem Vertränken von Mischkolostrum die krankheitsinduzierenden Alloantikörper von einem Muttertier bei einem unbeteiligten „third party animal“ BNP auslösen können. Aus diesem Grund wurde in dem Betrieb, in dem Mischkolostrum verabreicht wurde (AE1), ein gehäuftes Auftreten von BNP bei in einem umschriebenen Zeitfenster geborenen Kälbern erwartet. In der AE1 wurden 17 Kälber jeweils im zeitlichen Rahmen von null bis zwei Tagen voneinander entfernt geboren. Es ist davon auszugehen, dass die Tiere innerhalb der ersten Lebensstage das gleiche alloreaktive Mischkolostrum aufgenommen haben. Die Häufung von zeitnah geborenen Kälbern mit BNP in der AE1 verglichen mit dem Auftreten solcher Fälle in der AE2 war signifikant (Fisher Test,  $p = 0,046$ , OR = 4,72). Dies unterstützt die Hypothese der Übertragung der krankheitsinduzierenden Alloantikörper an mehrere Kälber durch Mischkolostrum. Drei Kälber, die zeitgleich (gleicher Tag) mit einem weiteren Kalb mit BNP geboren wurden, überlebten die Erkrankung. Bei diesen Fällen wäre eine Übertragung von einer geringeren Menge an krankheitsinduzierenden Alloantikörpern durch das Mischkolostrum möglich, sodass die Tiere zwar erkrankten, aber die Krankheit überlebten. Im Mischkolostrum findet eine Vermischung höher- und minderwertigen Kolostrums statt, welche eine Verdünnung des Gesamt-Ig-Gehaltes zur Folge hat (Pritchett 1991, Weaver 2000). Übertragen auf BNP hieße das, dass auch der Alloantikörpertiter im Mischkolostrum geringer wäre als im Erstkolostrum der eigenen Mutter. Da nachgewiesenermaßen die Schwere der Symptomatik mit der Höhe der Alloantikörpertiter korreliert, könnte folglich die Gabe von

Kolostrum verschiedener Kühe infolge des Verdünnungseffektes zu einem minder schweren Krankheitsverlauf führen (Bridger et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Jones et al. 2013, Witt et al. 2011). Auch Bell et al. (2014) vermuteten hinter den verschiedenen Schweregraden der BNP Unterschiede in der Quantität und dem Alloantikörper-Titer des aufgenommenen Kolostrums. Da für die vorliegende Arbeit keine Blutproben von Kälbern entnommen wurden, die Mischkolostrum mit BNP-Alloantikörpern aufgenommen haben könnten, kann zu subklinisch erkrankten Tieren an dieser Stelle keine Aussage getroffen werden. Es gab diesbezüglich allerdings vorhergehende Untersuchungen, die bereits veröffentlicht wurden (Witt et al. 2011). Es konnten in der AE1 des in dieser Arbeit beschriebenen Betriebes Häufungen von Kälbern mit hämatologischen Veränderungen im Sinne von BNP nachgewiesen werden, die jedoch keine klinischen Symptome aufwiesen. Diese wurden in derselben Woche wie andere klinisch an BNP erkrankte Kälber geboren (Witt et al. 2011). Auch Demasius et al. (2014) und Ronzoni et al. (2013) stellten fest, dass Kälber, die innerhalb eines Zeitfensters von wenigen Tagen geboren wurden, ein höheres Risiko für Blutbildveränderungen im Sinne einer Panzytopenie aufwiesen. Bell et al. (2014) hingegen konnten in einer Mutterkuhherde keine zeitlichen Häufungen von BNP bei einer Inzidenz von 18 % feststellen. Bell et al. (2013) und Jones et al. (2013) beobachteten ein erhöhtes Risiko an BNP zu erkranken, wenn – obwohl deren Mütter nicht mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) geimpft worden waren – Kolostrum anderer geimpfter Mütter verabreicht wurde. Die Autoren Pardon et al. (2009a) und Kasonta et al. (2014b) beobachteten zudem, dass sogar Kolostrumersatzpräparate die Potenz haben, BNP auszulösen, wenn die Präparate aus Hyperimmunseren bzw. Kolostrum mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH) geimpfter Kühe gewonnen worden waren. Zusammenfassend darf geschlossen werden, dass bei Vorhandensein alloreaktiver Antikörper im Kolostrum die Auslösung der BNP sowohl von begünstigenden Faktoren seitens des Kalbes abhängt als auch von der Immunantwort des Muttertieres, vom Zeitpunkt der ersten Melkung des Muttertieres, dem Zeitpunkt der ersten Verabreichung des Kolostrums an das Kalb und der Verwendung von Mischkolostrum (Bell et al. 2014, Corbière et al. 2009, Deutskens et al. 2011, Pardon et al. 2009a, Schröter et al. 2011, Witt et al. 2011).

Sowohl beim Menschen, beim Schwein als auch beim Pferd wird von dem Auftreten der Neonatalen Alloimmunen Thrombozytopenie (NAIT) bzw. einer Immunothrombozytopenie bei Neonaten berichtet (Amrhein und Bostedt 2003, Buechner-Maxwell et al. 1997, Forster 2007, Kaplan 2003). Beim Schwein wurden nach der Aufnahme von Kolostrum Petechien an verschiedenen Organen und Hautblutungen beobachtet, die auf die Reaktion von maternalen Alloantikörpern gegen die paternal vererbten, fetalen Thrombozyten-Oberflächenantigene zurückgeführt werden konnten (Forster 2007). Ein ähnliches Phänomen kann auch beim Fohlen nach der Aufnahme von Kolostrum beobachtet werden. Dabei handelt es sich um eine

in den ersten Lebenstagen auftretende, erworbene Immunkrankheit - die neonatale Isoerythrolyse (Boyle et al. 2005, Wehrend 2011). Über das Kolostrum werden vom Fohlen antierythrozytäre maternale Antikörper aufgenommen, die dann mit den Erythrozyten des Fohlens reagieren. Dieser Vorgang führt über die Hämagglutination und Hämolyse der Erythrozyten zu einer immunhämolytischen Anämie. Eine Immunisierung des Muttertieres mit fremden Erythrozytenantigenen kann bei Pferden entweder durch feto-maternalen Kontakt am Ende der Trächtigkeit durch Geburtsverletzungen, eine Bluttransfusion oder durch eine Deckverletzung zustande kommen. Eine diaplazentare Übertragung ist aufgrund der Plazentationsform der Stute (Placenta epitheliochorialis) ausgeschlossen. Die Wahrscheinlichkeit einer neonatalen Isoerythrolyse steigt aufgrund der nach dem Erstkontakt stattfindenden Restimulation und dem damit höheren Antikörpertiter mit der Anzahl an Trächtigkeiten (Wehrend 2011). Beim Rind ist ein solches Phänomen jedoch nicht beschrieben.

### **5.2 Anzahl der Kalbungen**

In der vorliegenden Arbeit konnte für die AE2 nachgewiesen werden, dass das Risiko, dass in der Nachkommenschaft eines Muttertieres ein Kalb mit BNP auftritt, mit der Anzahl Kalbungen steigt. In dem untersuchten Betriebsteil AE2 war das Chancenverhältnis, an BNP zu erkranken, für Kälber von Drittlaktierenden 3,62 mal so hoch wie bei Muttertieren anderer Laktationen und damit statistisch signifikant (Fisher Test,  $p = 0,023$ ). Das Chancenverhältnis war für Kälber von Erstkalbinnen mit einem  $OR = 0,46$  am geringsten. Bei den Viertlaktierenden fiel das Odds Ratio wieder ab ( $OR = 1,33$ ), war damit aber weiterhin größer als bei den Tieren, die sich in der ersten oder zweiten Laktation befanden. Auch Benedictus et al. (2014) beobachteten einen Anstieg des Chancenverhältnisses des Auftretens von BNP bis zur dritten Laktation, während das Vorkommen in der vierten und fünften Laktation deutlich abnahm. Dies deckte sich mit den Ergebnissen anderer Forschungsgruppen, welche besagten, dass das Risiko für das Vorkommen von BNP in der Nachkommenschaft eines Muttertieres ab der zweiten Laktation steigt (Foucras et al. 2011, Jones et al. 2013). Jones et al. (2013) führte diese Beobachtung auf eine Restimulierung des Immunsystems der Muttertiere durch die Wiederholungsimpfungen mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) zurück. Diese Vermutung wird durch den Nachweis höherer Alloantikörper-Titer bei Kühen nach Wiederholungsimpfungen gestützt (Foucras et al. 2011, Kasonta et al. 2012). Darüber hinaus steigt mit zunehmenden Alter und höherer Laktationszahl der Immunglobulin G1-Gehalt im Kolostrum (Devery-Pocius et al. 1983, Gulliksen et al. 2008). Laut Devery-Pocius et al. (1983) erreicht der IgG1-Gehalt ein Maximum in der dritten bzw. vierten Laktation und verdoppelt sich nahezu verglichen mit der ersten Laktation. Eine Zunahme der Konzentration an Alloantikörpern im Kolostrum von Kühen höherer Laktationszahl scheint daher möglich. Des

Weiteren könnte die Tatsache, dass Kälber von Erstkalbinnen laut Derenbach (1981) in den ersten zwölf Stunden signifikant weniger Kolostrum aufnehmen als Kälber älterer Mütter eine geringere Aufnahme von Alloantikörpern und damit ein geringeres Risiko an BNP zu erkranken bedingen. Andere Forschergruppen konnten wiederum keine Unterschiede im Auftreten von BNP in Abhängigkeit von der Anzahl Laktationen nachweisen (Bell et al. 2014, Pardon et al. 2009a).

### **5.3 Impfstrategien**

#### **Impfung gegen das Virus der Bovinen Virus Diarrhoe (BVDV)**

Der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von BNP und der Impfung der Muttertiere mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) gilt zum Zeitpunkt der Fertigstellung des Manuskriptes für die vorliegende Dissertationsschrift als gesichert (Anonym 2011, Bastian et al. 2011, Benedictus et al. 2015, Bridger et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Pardon et al. 2011, Sauter-Louis et al. 2012). Das Chancenverhältnis des Auftretens von BNP in Betrieben, die mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH) geimpft haben, war um ein Vielfaches höher (OR=1200) als in nicht mit PregSure® BVD impfenden Betrieben angegeben (Anonym 2012c, Sauter-Louis et al. 2012).

In dem hier untersuchten Milchviehbetrieb wurde der beschriebene Impfstoff seit seiner Zulassung im Jahr 2004 eingesetzt. Da in der AE1 Mischkolostrum verabreicht wurde, konnten keine Schlussfolgerungen bezüglich der Auswirkungen der Impfung des Muttertieres auf das Vorkommen von BNP in dessen Nachkommenschaft gezogen werden. Deshalb wurden bei der Bearbeitung derjenigen Hypothesen, für die die Verabreichung ausschließlich von Kolostrum der Mutter gesichert sein musste, nur Tiere der AE2 berücksichtigt. Alle Kühe wurden bis zum Jahr 2007 zum Zeitpunkt des Trockenstellens nachgeimpft. Für das Jahr 2008 änderte sich jedoch das Impfregime bis hin zum Verzicht auf die Wiederholungsimpfungen ab dem Jahr 2009. Der Hypothese folgend, dass eine erhöhte Anzahl der Wiederholungsimpfungen gegen BVDV eine nennenswerte Rolle in der Entstehung von BNP spielen könnte, wurden diese berechnet und verglichen. In den Ergebnissen der AE2 war ein signifikanter Unterschied zwischen der Anzahl Wiederholungsimpfungen bei den Muttertieren und dem Auftreten von BNP in deren Nachkommenschaft zu erkennen.

In der AE2 des Studienbetriebes wurde kein Muttertier von Kälbern mit BNP nur einmalig mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH) nachgeimpft. Acht Tiere hatten zwei oder drei Boosterimpfungen erhalten. Muttertiere mit zwei Boosterimpfungen wiesen ein 3,82-fach höheres Chancenverhältnis auf, ein Kalb mit BNP zu gebären als Tiere mit keiner, einer oder drei Wiederholungsimpfungen (Fisher Test,  $p = 0,03$ ). Es ist vorstellbar, dass bei mehreren Boosterimpfungen eine stärkere Immunantwort erfolgt, als bei einer einmaligen

Nachimpfung. Die Beobachtung stimmt mit dem Forschungsergebnis von Kasonta et al. (2012) überein. Die Autoren stellten fest, dass nach zweistufiger Grundimmunisierung und Boosterimpfungen bei Verwendung von anderen inaktivierten BVDV-Vakzinen als PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH) weniger Kälber mit BNP geboren wurden als nach wiederholter Anwendung des inaktivierten BVD-Impfstoffes PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH). Benedictus et al. (2014) beschrieb, dass das Risiko für eine BNP-Erkrankung mit erhöhter Anzahl an Impfungen mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH) steigt, da die Alloantikörperproduktion im Muttertier im Sinne einer Restimulierung angeregt wird. Zudem werden bei multiparen Rindern natürlicherweise Alloantikörper gegen paternale Alloantigene gebildet, welche sich in im Falle von BNP gegen fötal exprimierte paternale MHC-Klasse I Komplexe richten können (Benedictus et al. 2015). Zudem induziert laut Suter und Hartmann (2006) die zweite und jede weitere Impfung die Selektion derjenigen B-Lymphozyten, die Antikörper mit höherer Affinität bilden. Die vorliegende Studie konnte jedoch die Hypothese, dass die Anzahl Boosterimpfungen das Risiko für das Auftreten von Kälbern mit BNP erhöht, nur mit Einschränkungen bestätigen, da Tiere mit mehr als drei Boosterimpfungen kein vermehrtes Vorkommen von Kälbern mit BNP aufwiesen. Zudem kann laut Kasonta et al. (2012) bereits die einmalige Impfung mit dem beschriebenen Impfstoff zu der Induktion der Alloreaktivität führen. Hinzu kommt, dass eine Korrelation von der Anzahl der Impfungen mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) und dem Alter der Kühe, folglich auch Anzahl der Kalbungen vorliegen könnte. Das würde bedeuten, dass mit zunehmendem Alter die Tiere folglich öfter nachgeimpft werden konnten und daher öfter als Muttertiere von BNP-Fällen auftraten. Die Überprüfung dessen sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Insgesamt kann aus den Daten dieser Studie geschlussfolgert werden, dass bereits die Grundimmunisierung mit dem BVDV-Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH) ausreicht, um Antikörper mit Alloreaktivität zu induzieren.

In der vorliegenden Studie wurde weiterhin retrospektiv ermittelt, zu welchem Zeitpunkt die Muttertiere jeweils die Wiederholungsimpfungen mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) erhielten. Die Arbeitshypothese besagte, dass bei Wiederholungsimpfung mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) in der Gravidität, wie auch beim nicht tragenden Rind, die Alloantikörperproduktion im Muttertier stimuliert wird. Nach der Stimulierung fällt der Alloantikörpertiter langsam wieder ab. Deshalb wurde vermutet, dass der Alloantikörpertiter im Kolostrum umso höher ist, je näher die Impfung am Kalbetermin ist. Dementsprechend wäre bei Kühen, die vor der Besamung geimpft wurden, der Alloantikörpertiter im Serum und folglich auch im Kolostrum niedriger, verbunden mit einer geringeren Ausprägung von BNP (Bridger et al. 2011, Jones et al. 2013). Die Trächtigkeitsspanne wurde geteilt in die erste (Trächtigkeitsmonate 1 bis 4) und zweite

Trächtigkeitshälfte (Trächtigkeitsmonate 5 bis 9). Dabei konnte festgestellt werden, dass für Kälber von in der zweiten Trächtigkeitshälfte geimpften Muttertieren das Chancenverhältnis an BNP zu erkranken gegenüber Kälbern deren Mütter in der ersten Trächtigkeitshälfte geimpft worden waren signifikant erhöht war (OR = 3,41, KI = 1,71-6,99). Fiel die (Booster-) Impfung der Muttertiere in die erste Trächtigkeitshälfte, folgte in nur einem Fall die Geburt eines Kalbes mit BNP. Dieses Ergebnis bestätigt die oben genannte Hypothese, da in den ersten vier Monaten der Trächtigkeit die Kalbung und damit die Kolostrumbildung zeitlich gesehen noch sehr weit entfernt sind. So würde bei Tieren, die in den Anfangsmonaten der Trächtigkeit geimpft wurden, der Alloantikörpertiter bis zum Zeitpunkt der Geburt wieder abfallen und dem Titer der Muttertiere ähneln, die vor der Besamung geimpft wurden. Zusätzlich könnte dieses Ergebnis mit der Bildung der „pregnancy associated glycoproteins“ (PAG) sowie anderer immunsuppressiv wirkender Proteine zusammenhängen, die lokal in der Plazenta gebildet werden und die die Implantation des Embryos ermöglichen bzw. eine Abstoßung des Fetus verhindern sollen (Dosogne et al. 2000). In diesem Falle wäre die Bildung der krankheitsinduzierenden Alloantikörper in der Frühträchtigkeit unterdrückt. 14 Muttertiere wurden in der zweiten Trächtigkeitshälfte geimpft und gebaren darauffolgend ein Kalb, das an BNP erkrankte. In Anlehnung an die Hypothese hieße das, dass die durch die Wiederholungsimpfung angeregte (Nach-)Produktion der krankheitsinduzierenden Alloantikörper ab dem sechsten bzw. höheren Trächtigkeitsmonat bis zur Kalbung einen erhöhten Alloantikörper-Titer im Blut bzw. im Kolostrum nach sich zieht. Dies entspricht den Beobachtungen von Bachmann et al. (1982). Den Autoren zufolge wird die, durch die Impfung von trächtigen Muttertieren stimulierte Antikörpersekretion mit der Milch des Rindes gesteigert und verlängert. Das Kalb nimmt nach seiner Geburt die Biestmilch mit der erhöhten Anzahl an BNP-induzierenden Alloantikörpern auf und erkrankt an BNP. Fiel der Zeitpunkt der Boosterimpfung in den sechsten Trächtigkeitsmonat, befanden sich mehr Kälber mit BNP in der Nachkommenschaft geimpfter Mütter als bei Impfungen zu anderen Zeitpunkten der Trächtigkeit. Eine Erklärung hierfür konnte nicht gefunden werden. Weiterführend müsste die Rolle des sechsten Trächtigkeitsmonats in der alloimmunen Responsivität verbunden mit der MHC I Repräsentation auf der Plazenta erforscht werden. Benedictus et al. (2014) konnte keinen signifikanten Einfluss des zeitlichen Abstands seit der letzten Impfung mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) auf das Auftreten von Kälbern mit BNP feststellen. Weitere Untersuchungen zur Immunreaktivität von tragenden Rindern in unterschiedlichen Stadien der Gravidität wären angebracht, konnten jedoch aufgrund der Tatsache, dass es sich bei der vorliegenden Studie um eine retrospektiv angelegte Feldstudie handelt, nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein.

### **Impfungen gegen das Blauzungenvirus (BTV)**

Da die Impfung gegen das Blauzungenvirus im Verdacht stand, möglicherweise unerwünschte Nebenwirkungen wie Aborte, Fehlgeburten und spontane Todesfälle hervorzurufen, wurde diese Impfung in der vorliegenden Studie berücksichtigt.

Über die letzten Jahre hat sich die Situation der Blauzungenkrankheit in Europa erheblich mit dem Auftreten neuer Serotypen verändert und gravierende wirtschaftliche Schäden verursacht. Insbesondere der Serotyp 8 wurde nach dem ersten Ausbruch der Krankheit in den Niederlanden im Jahr 2006, unter anderem auch in Deutschland, Belgien, Luxemburg, Frankreich, Schweiz, Österreich und Großbritannien auffallend häufig beobachtet (Bruckner et al. 2009, Conraths et al. 2009, Conraths et al. 2012, Gethmann et al. 2010). Ab Mai 2008, wurde bei Rindern, Schafen und Ziegen erstmalig eine flächendeckende Impfkampagne gegen die Blauzungenkrankheit in Deutschland und dessen Nachbarstaaten (z. B. Niederlande, Österreich, Schweiz) durchgeführt. Dabei wurden mittels einer Dringlichkeitsverordnung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) drei inaktivierte Impfstoffe gegen den Serotyp 8 des Blauzungenvirus (BTV-8) eingesetzt, die zu dem Zeitpunkt des Einsatzes noch nicht zugelassen waren. Es handelte sich dabei um BLUEVAC-8<sup>®</sup> (CZ Veterinaria, Porrino, Spanien), BTVPUR AISap8<sup>®</sup> (Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) sowie dem in dem hier beschriebenen Betrieb bis Anfang 2010 eingesetzten Zulvac 8 Bovis<sup>®</sup> der Firma Fort Dodge Animal Health, Overland Park, Kanada. Neben dem inaktivierten Blauzungenvirusantigen beinhalten die Impfstoffe die gängigen Adjuvantien Aluminium-Hydroxid und Saponin (Gethmann et al. 2009). Bei der Überprüfung der Impfvorfälle im Rahmen eines Pharmakovigilanzberichtes wurde festgestellt, dass die Anzahl der Meldungen über Aborte und Fehlgeburten nahe dem Impfzeitpunkt auffallend hoch war. Bei einer näheren Überprüfung stellten sich in den meisten Fällen jedoch eindeutige infektiöse oder nicht-infektiöse Abortursachen heraus, die in keinem Zusammenhang mit der BTV-Impfung standen. Zudem sind inaktivierte Impfstoffe mit bekannten Adjuvantien nur sehr selten als direkte Abortauslöser anzutreffen. Indirekte Wirkungen auf das trächtige Tier durch Fieber oder allergische Reaktionen sind möglich, konnten hierbei jedoch nicht aufgezeigt werden (Cussler et al. 2009). Auch eine Nebenwirkungsstudie des Friedrich-Loeffler-Instituts (FLI, Greifswald- Insel Riems) und des Paul-Ehrlich-Instituts (PEI, Langen) konnte die klinischen Symptome, pathologischen Veränderungen und Todesfälle bei Kälbern und erwachsenen Tieren nicht in einen kausalen Zusammenhang mit der Blauzungen-Impfung stellen (Probst et al. 2011).

In der AE2 des untersuchten Betriebes wurden die Muttertiere der im Untersuchungszeitraum geborenen Kälber auf das Vorliegen mindestens einer Impfung gegen BTV bzw. keiner BTV-Impfung untersucht. In den eigenen Untersuchungen konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten der BNP und der Anwendung des BTV-8 Impfstoffes festgestellt werden (Fisher Test,  $p = 0,76$ ). Die Blauzungenimpfung wurde erst ab Mai 2008 im Studienbetrieb eingesetzt, die ersten BNP-Fälle traten im Studienbetrieb jedoch bereits im Jahr 2007 auf. Im November 2009 trat die letzte Neuinfektion mit BTV-8 eines empfänglichen Tieres in Deutschland auf und ab 2010 wurde die Impfpflicht gegen BTV-8 aufgehoben. Seit Beginn 2010 wurde im Studienbetrieb nicht mehr gegen die Blauzungenkrankheit geimpft. BNP-Fälle traten jedoch auch nach diesem Zeitpunkt in den Jahren 2010 und 2011 auf. Andere Forscherguppen bestätigen die eigenen Beobachtungen, indem sie ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der Blauzungenimpfung und dem Auftreten der BNP erkennen konnten (Corbière et al. 2009, Kappe et al. 2010, Pardon et al. 2010).

#### **5.4 Jahreszeitliche Verteilung der BNP-Fälle**

Da Kälber mit BNP unter einer Thrombozytopenie leiden, gehören profuse Blutungen aus kleinsten Läsionen der Haut z.B. nach Injektionen oder Insektenstichen zum klinischen Erscheinungsbild der BNP. So wurde das Jahr in eine Periode mit dem gehäuften Vorkommen von stechenden Insekten und eine Periode mit Abwesenheit von stechenden Insekten geteilt. Es wurde geprüft, ob BNP-Fälle in den Monaten Mai bis Oktober, in denen stechende Insekten aktiv sind (Vektor-reiche Monate), häufiger vorkommen als in den Monaten November bis Dezember (Vektor-arme Monate). Im Studienbetrieb wurden signifikant mehr Fälle während Vektor-reicher Monate als während der Vektor-armen Monate beobachtet (Fisher Test,  $p < 0,001$ ). Besonders in den Monaten August und September war das Vorkommen von Kälbern mit BNP auffällig hoch. In den Monaten November bis April wurde hingegen kein einziges Kalb mit BNP dokumentiert. Dies entspricht den Erkenntnissen anderer Forschungsgruppen (Defra 2011, Friedrich et al. 2009a, Klemm et al. 2010, Pardon et al. 2009a). Die Hypothese von Friedrich et al. (2009a), die diesen Unterschied ebenfalls mit dem Auftreten von stechenden Insekten in den Sommermonaten und den mit den Stichen verbundenen kutanen Blutungen verknüpfen, scheint daher sehr wahrscheinlich. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass BNP-Fälle in den Wintermonaten ohne Insektenflug übersehen werden. Als Blutungsursache ist auch eine Hämhidrose möglich, welche die Ausscheidung von Blut aus Talg- und Schweißdrüsen beschreibt (Rosenberger 1990, Stöber 2006). Dieses Phänomen wurde bei Kälbern des Studienbetriebes, die an BNP erkrankt und gestorben waren, anhand der Sektion am Institut für Tierpathologie der Freien Universität Berlin beobachtet (Prof. Dr. Robert Klopffleisch, persönliche Kommunikation, Institut für Tierpathologie der Freien Universität Berlin; 21.10.2010). Da im Sommer die Haut erwärmt

und daher besser durchblutet ist, sind Fälle von Hämhidrose bevorzugt im Sommer zu erwarten. Auf die Jahreszeit zurückzuführende Unterschiede in der Antikörperkonzentration des Kolostrums könnten als Erklärung für das Auftreten von BNP-Fällen bevorzugt in den Sommermonaten dienen. Untersuchungen von Gulliksen et al. (2008) zu Risikofaktoren, die Einfluss auf die Qualität des Kolostrums ausüben, ergaben, dass Kolostrum von Kühen, die in den Monaten Dezember, Januar und Februar kalben, einen signifikant geringeren Immunglobulin G-Gehalt aufweist als Kolostrum von Kühen, die in anderen Monaten kalben. Dies ließe sich möglicherweise auch auf den Alloantikörper-Gehalt im Kolostrum von Kühen übertragen, die im Winter kalben. Um Aufschluss über das Vorkommen von BNP in den Wintermonaten zu erhalten, hätten Blutproben von sämtlichen Nachkommen geimpfter Mütter zwecks Bestimmung der Leukozyten-, Erythrozyten- und der Thrombozytenzahl entnommen werden müssen. Darüber hinaus hätten sämtliche in den Wintermonaten verendeten Kälber im Alter von unter vier Wochen seziiert werden müssen. Die Frage, weshalb in den Monaten November bis April kein einziger Fall von BNP identifiziert werden konnte, lässt sich im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht klären. Eine mögliche Erklärung für den Unterschied in der Anzahl Kälber mit BNP in der AE1 und der AE2 könnte sowohl auf dem unterschiedlichen Kolostrummanagement (Mischkolostrum versus Einzelkolostrum), als auch in Unterschieden bei der Insektenbekämpfung beruhen. Während sich die Kälber in der AE1 sowohl im Stall, als auch in einem Außenbereich aufhalten können, wodurch sie auch von größeren stechenden Insekten (Fliegen, Bremsen o.ä.) ausgesetzt sind, halten sich Kälber der AE2 ausschließlich innerhalb des Stallgebäudes auf. Darüber hinaus ergab die Befragung der Herdenmanager, dass die Insektenbekämpfung in der AE2 konsequenter (häufiger und konsistenter) durchgeführt wurde als in der AE1. Es muss jedoch festgestellt werden, dass sich die monatliche Verteilung der Anzahl BNP-Fälle in den beiden AE nicht unterscheidet.

### **5.5 Totgeburten**

Da die Alloantikörper, die sich gegen bestimmte Zelloberflächenantigene des Kalbes richten können, erst mit dem Kolostrum der Mutter auf das Kalb übertragen werden, sind pathologische Veränderungen des ungeborenen Kalbes hinsichtlich der BNP oder der Versorgung des Kalbes *in utero* so gut wie ausgeschlossen. Aufgrund der Plazentationsform des Rindes ist ein Übergang von maternalen Antikörpern in den Kreislauf des ungeborenen Kalbes nicht möglich (Schlafer et al. 2000). Darüber hinaus bestehen an der materno-fetalen Grenze verschiedene Mechanismen, die die Erkennung fetaler Gewebeeigenschaften, die vom Vater ererbt wurden, durch das Muttertier verhindern (Bainbridge 2000, Nilsson et al. 2014). Ein Transfer von maternalen Antikörpern über die Plazenta ist beim Rind ausgeschlossen, so dass die Kälber agammaglobulinämisch geboren werden und erst über die Aufnahme von Kolostrum eine passive Immunität erlangen (Elizondo-Salazar et al. 2009;

Osaka et al. 2014). Die Hypothese, dass BNP keinen Einfluss auf Aborte und Totgeburten ausübt, konnte bestätigt werden. Es konnte kein Unterschied in der Totgeburtenrate von Müttern der Kälber mit BNP und Müttern ohne Kälber mit BNP festgestellt werden (Fisher Test,  $p = 1$ ).

## 5.6 Abstammung

Seit 2011 vermuteten verschiedene Forschungsgruppen eine komplexe Kombination aus genetischen und umweltbedingten Faktoren als Ursache für die BNP (Bastian et al. 2011, Ballingall et al. 2011, Benedictus et al. 2014, Deutskens et al. 2011, Krappmann et al. 2011). Die wachsenden Kenntnisse zur Pathogenese der BNP ermöglichten die Vertiefung dieser Hypothese. Die Muttertiere der BNP-Kälber reagieren auf ein Fremdantigen aus dem Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) mit der Bildung von Alloantikörpern, die in das Kolostrum und folglich in das Kalb gelangen (Bastian et al. 2011, Benedictus et al. 2015, Deutskens et al. 2011, Foucras et al. 2011). Mittlerweile ist bewiesen, dass sich die Alloantikörper gegen das Haupthistokompatibilitätsantigen I (MHC I) und ein Molekül aus der Integrinfamilie ( $\beta 1/\alpha 3$ ) richten (Benedictus et al. 2015). Laut der Forschungsgruppe Benedictus et al. (2014) liegt der genetische Unterschied zwischen den Muttertieren von Kälbern mit BNP und Muttertieren nicht betroffener Kälber an den Genen, die die quantitative Alloantikörper-Produktion nach der Impfung mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland GmbH) steuern. Die Sequenzierung der MHC Klasse I und II der mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) geimpften Tiere zeigte keine Verbindung zwischen dem MHC-I und dem MHC-II Haplotyp dieser Tiere und dem Auftreten von BNP. Qualitativ ähnliche Alloantikörper wurden von allen geimpften Tieren gebildet, was bedeutet, dass alle Kühe fähig waren, Alloantigene von der Impfung mittels dem MHC Klasse II zu präsentieren (Bastian et al. 2011; Benedictus et al. 2014). Auffällig waren jedoch die signifikant höheren Serum-Alloantikörpertiter der mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) geimpften Muttertiere von Kälbern mit BNP, verglichen mit geimpften Müttern gesunder Kälber. Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass die MHC Klasse I Allotyp-Konstellation jedes individuellen Tieres über die Auslösung einer Immunantwort gegen MHC-Klasse I Antigen aus der Vakzine im Impfling entscheidet (Benedictus et al. 2014, Deutskens et al. 2011). Die individuelle Immunantwort erklärt sich dadurch, dass Alloantigene wie MHC-I und MHC-I assoziiertes beta-2-Mikroglobulin genetisch determiniert und daher erblich sind (Roitt 1988). Benedictus et al. (2014) untersuchten die erbliche Veranlagung für die Entwicklung der BNP und beobachteten, dass die geschätzte Erblichkeit für das Muttertier bei 19 % liegt. Die Wichtigkeit des genetischen Hintergrundes des Muttertieres wurde von Demasius et al. (2014) unterstützt. In einer Herde (Deutsch Holstein x Charolais) wurde die Abstammung der an BNP erkrankten Tiere untersucht. Alle BNP-Fälle konnten auf ein einzelnes Großvatertier

mütterlicherseits zurückgeführt werden. In dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Milchviehbetrieb konnte diese Beobachtung nicht bestätigt werden. Es wurden ebenfalls die Vatertiere der Mütter bis in die dritte Generation untersucht. Ein Bulle konnte fünf Mal als Vater von Müttern von Kälbern mit BNP identifiziert werden. Mit dem zweiseitigen Fisher-Exact-Test wurde jedoch nachgewiesen, dass die Verteilung der Anzahl der Einsätze von diesem Bullen bei Müttern mit Kälbern mit BNP und Muttertieren ohne Kälber mit BNP als gleich angesehen werden muss (Fisher Test,  $p = 0,326$ ). Bei diesen Ergebnissen müssen jedoch die geringe Fallzahl und der kleine Stammbaum (Untersuchung bis zur dritten Generation) kritisch bedacht werden.

Weiterhin wurde in der Forschung die Entstehung des Fremdantigens in dem Impfstoff PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) untersucht. Für die Impfstoffherstellung der Totvaccine wurden BVD-Impfviren über zahlreiche Passagen auf vom Rind stammenden Nierenzellkulturen (MDBK-Zelllinie) vermehrt. Mit der Impfung wurde aus den Nierenzellkulturen stammendes hoch konzentriertes Alloantigen verabreicht. Zellmaterial gelangte dabei in den Impfstoff und rief die Alloreaktivität, die zu BNP führte, hervor. Weicht dessen Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex, MHC) von demjenigen der verwendeten Nierenzellkultur ab, bildet das Muttertier alloreaktive Antikörper (Bastian et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Pardon et al. 2011). Das Tier wird somit zu einer potentiellen Mutter eines Kalbes mit BNP. Stimmen die MHC-Klasse I Allotypen der Mutter mit dem im Impfstoff enthaltenen, aus der Zellkultur stammenden Antigen überein, so gibt es keine gegen keine gegen Moleküle des MHC-Klasse I gerichtete Immunantwort und demnach auch keine BNP (Deutskens et al. 2011). Ob ein Kalb nun empfänglich oder unempfindlich für die Alloantikörper der Mutter ist, hängt möglicherweise vom väterlichen MHC-I Allotyp ab. BNP könnte so nur bei Kälbern auftreten, wenn sie die gleichen MHC-I Epitope aufweisen, die auch die Impfung enthält, und die, wie bereits erwähnt, ihren Müttern fehlen (Deutskens et al. 2011, Pardon et al. 2011). Somit wäre ein Kalb dann empfänglich, wenn sich der MHC der für die Impfstoffherstellung verwendeten Gewebekultur und der MHC der Vatertiere von BNP-Kälbern gleicht. Das Vatertier vererbt dann dem Kalb die Moleküle des MHC-I Komplexes. Ähnelt der väterliche Allotyp nicht dem im Impfstoff enthaltenen MHC-I Allotyp, so besteht für das Kalb kein Risiko, an der BNP zu erkranken, da die maternalen Antikörper nicht an den MHC-I Strukturen des Kalbes binden können. Gleichet jedoch der paternal übermittelte MHC-I Allotyp des Kalbes der PregSure® BVD-Variante, so werden die MHC-I Strukturen von den maternalen Antikörpern angegriffen. Die Lyse vor allem der Zellen mit einer hohen Expression der MHC-I beginnt (Bastian et al. 2011, Benedictus et al. 2015). Somit hinge, wie schon öfter in der Literatur beschrieben, die Entstehung einer Krankheit wie BNP bei einem Kalb von dessen Zelloberflächenantigenen paternalen Ursprungs ab (Bastian et al. 2011, Boyle et al. 2005, Buechner-Maxwell et al. 1997, Forster 2007). Schlussfolgernd aus diesen Erkenntnissen

wurde die Hypothese für die vorliegende Arbeit aufgestellt, dass die Vererbung der Väter eine Rolle in der Entstehung von BNP spielt. Dazu wurde eine Abstammungsanalyse der Studienpopulation anhand eines Stammbaums bis in die dritte Generation durchgeführt. In dem Milchviehbetrieb stammten die 40 Kälber, die an BNP litten, von 19 verschiedenen Bullen ab. Von den 19 Vatertieren, die den Kälbern mit BNP zugeordnet werden konnten, tauchten einige mehrfach als Vater eines BNP-Kalbes auf. Insbesondere zwei Vatertiere der Studienpopulation waren auffällig. Das Chancenverhältnis an BNP zu erkranken, war für die Kälber dieser Bullen 9 und 17 gegenüber Kälbern der anderen Bullen signifikant erhöht (Fisher Test,  $p \leq 0,05$ ; Bulle 9: OR = 9,20, Bulle 17: OR = 14,39). Bei insgesamt sieben Bullen waren ihre Einsätze in der Studienpopulation so gering und die Fallzahlen dementsprechend klein, so dass die Konfidenzintervalle sehr groß waren. Diese Ergebnisse sind daher kritisch zu betrachten. Ähnliche Beobachtungen konnten auch in einer Herde des Leibniz-Instituts für Nutztierbiologie (FBN, Dummerstorf) gemacht werden. Dort wurde nach dem Auftreten von BNP bei Kälbern eine Stammbaumanalyse durchgeführt, sowie ein binomialer Test für die Verteilung der von einem Bullen aus der F1-Generation abstammenden, betroffenen und nicht betroffenen Kälber. Das Ergebnis zeigte, dass alle BNP-Fälle Nachkommen eines männlichen Charolais x Holstein Friesian-Kreuzungstieres der F1-Generation waren. Die Nachfahren der restlichen vier F1-Bullen entwickelten keine BNP (Krappmann et al. 2011). Auch Ballingall et al. (2011) berichteten von einem gehäuften Vorkommen der BNP unter den Nachkommen eines Bullen auf einem landwirtschaftlichen Betrieb, während die Nachfahren anderer Bullen keine BNP entwickelten. Die sehr geringe Inzidenz von BNP (0,3 %) angesichts der weiten Verbreitung der Tiere, die mit der Vakzine PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) geimpft sind, spricht dafür, dass die Mütter von Kälbern mit BNP einen selten vorkommenden Genotyp aufweisen, während die betroffenen Kälber und deren Väter einen weit verbreiteten MHC-I Allotyp aufweisen (Bastian et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Foucras et al. 2011, Kasonta et al. 2012). Hierfür spricht auch, dass Kälber anderer Muttertiere erkranken können, sofern ihnen Kolostrum der Mutter eines Kalbes mit BNP verabreicht wird (Bauer et al. 2009, Bell et al. 2013, Bridger et al. 2011, Deutskens et al. 2011, Doll et al. 2009, Friedrich et al. 2008, Friedrich et al. 2009a, Henninger et al. 2014, Laming et al. 2012, Schröter et al. 2014). Abschließend kann die Hypothese, dass die Vererbung der Väter eine Rolle spielt, in dieser Arbeit vorsichtig bestätigt werden. Weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen und größeren Stammbäumen, als auch molekulargenetische Studien wären jedoch notwendig, um einen konkreten Zusammenhang zur Entstehung der BNP zu bestätigen.

## 6. Zusammenfassung

### Epidemiologische Fallstudie zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie

Die Bovine Neonatale Panzytopenie (BNP) ist eine Krankheit junger Kälber, die erstmalig in Süddeutschland im Jahr 2006 (Anonym 2011, Friedrich et al. 2008) beschrieben wurde. Charakteristisch für das klinische Bild der BNP ist die hämorrhagische Diathese mit Blutaustritt aus der Haut ohne augenscheinliche Verletzungen. Als Ursache für die BNP wird ein alloimmunes Krankheitsgeschehen angesehen, welches durch die Impfung von Kühen mit einem neuartigen BVD-Impfstoff (PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) verursacht wurde. Anders als bei anderen Impfstoffen wurde hier eine Rinderzelllinie in Kombination mit einem neuartigen, hochwirksamen Adjuvans zur Herstellung des Impfstoffes verwendet, sodass geimpfte Tiere Antikörper gegen diese Zellen ausbildeten. Sind gewisse Voraussetzungen erfüllt, kann das dazu führen, dass Kälber mit dem Kolostrum Antikörper aufnehmen, die gegen vom Vater ererbte Zellstrukturen gerichtet sind, was zu dem oben genannten Krankheitsbild führt.

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss ausgewählter Faktoren (z.B. Management, Jahreszeit) auf die Entstehung von BNP in Kälbern zu untersuchen. Das Kolostrummanagement, die Anzahl der Kalbungen, die Impfungen bzw. das Impfbereitschaft und die Totgeburten der Muttertiere, die jahreszeitliche Verteilung und der genetische Hintergrund der BNP-Fälle wurden bei Rindern der Rasse Deutsch Holstein detailliert untersucht. Zu diesem Zweck wurden epidemiologische Untersuchungen in Form einer retrospektiven Kohortenstudie (Juli 2007 - Juli 2010) in zwei Milchviehbetrieben (AE1; AE2) einer Agrargenossenschaft in Brandenburg mit einem hohen Vorkommen von BNP-Fällen durchgeführt. In dem Studienzeitraum wurden 954 Kälber in der AE1 und 1260 Kälber in der AE2 geboren. 40 von den insgesamt 2214 Kälbern erkrankten an BNP. Die Forschungsergebnisse der Studie zeigten, dass mehrere Faktoren die Chance der Entstehung von BNP erhöhen. Dazu gehörten die Verfütterung von Mischkolostrum (OR = 2,49), die Anzahl der Kalbungen, die Anzahl der Wiederholungsimpfungen und die Jahreszeit. Signifikant häufiger gebaren Muttertiere, die in der zweiten Trächtigkeitshälfte (Monate 5 bis 9) geimpft worden waren, folgend Kälber mit BNP (Fisher Test,  $p < 0,01$ ). In dem untersuchten Betrieb wurden signifikant mehr Fälle in den Sommermonaten ermittelt als in den Wintermonaten, was auf die Anwesenheit von stechenden Insekten zurückgeführt wurde, welche zu sichtbaren Blutungen der Haut beitrug (Fisher Test,  $p < 0,001$ ). Dies entspricht den Erkenntnissen anderer Forschungsgruppen (Defra 2011, Friedrich et al. 2009a, Klemm et al. 2010, Pardon et al. 2009a). Die Hypothese, dass die Impfung gegen die Blauzungkrankheit (BTV) einen Einfluss auf die Entstehung von BNP-Kälbern hat, konnte nicht bestätigt werden.

Ein weiterer Forschungsgegenstand der Arbeit war die Abstammung der Kälber. Die Ergebnisse zeigen, dass die Chance für Kälber, an BNP zu erkranken, signifikant erhöht war, wenn sie von einzelnen Bullen abstammten (Fisher Test,  $p \leq 0,05$ ). Die Beobachtungen der vorliegenden Arbeit unterstützen die Forschungsergebnisse von Benedictus et al. (2015), wonach Antikörper gerichtet gegen Moleküle des MHC-Klasse I Komplexes aus dem Kolostrum an Stammzellen des Kalbes binden und diese zerstören. Die Vermehrung von Impfviren auf homologen Zellkulturen stellt laut Benedictus et al. (2015) ein Risiko dar, das vermieden werden sollte. Darüber hinaus wird empfohlen, das Kolostrum von Müttern, die Kälber mit BNP geboren haben, zu verwerfen. Gleiches gilt für die weit verbreitete Tränkung von Mischkolostrum, die unterbleiben sollte.

## 7. Summary

### **Epidemiological case study on Bovine Neonatal Pancytopenia**

Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) is a disease of neonatal calves, which has been described in Southern Germany in 2006 for the first time ever (Anonym 2011, Friedrich et al. 2008). Characteristic for the clinical picture of BNP is the haemorrhagic diathesis with blood leaking from the skin without evident trauma. BNP is caused by an alloimmune disorder following the vaccination with a novel BVD vaccine (PregSure® BVD, Pfizer GmbH, Berlin, Germany). Differently to other vaccines a bovine cell line in combination with a novel, highly efficient adjuvant was used hereby for the production of the vaccine, inducing the generation of antibodies against these cells in vaccinated animals. If certain conditions are met in calves, this may lead to the intake of colostrum that contains antibodies, which are directed against paternal cell structures, resulting in the disease pattern mentioned above.

Objective of the present study was to investigate the impact of selected factors (e.g. management, season) on the occurrence of BNP. The colostrum management, the number of calvings, the vaccinations, respectively the vaccine management and the stillbirth of the dams, the seasonal distribution and the genetic background of BNP cases were studied in-depth in Deutsch Holstein cattle. For this purpose epidemiological analysis in form of a retrospective cohort study (July 2007 – July 2010) was undertaken in two dairy cattle herds (AE1; AE2) of an agricultural cooperative in Brandenburg, Germany with a high incidence of BNP cases. During the study period 954 calves were born in AE1 and 1260 calves in AE2. 40 of a total of 2214 calves fell ill with BNP. The results of the present study revealed that multiple factors enhance the chance of the development of BNP. Counted among those factors were the feeding of mixed colostrum (OR = 2.49), the number of calvings, the number of booster vaccinations and the season. Dams that were vaccinated in second half of the gestation (months 5 to 9), had subsequently born calves with BNP significantly more often (Fisher Test,  $p < 0.01$ ). On the farm studied there were significantly more cases detected during the summer months than during the winter months, which could be traced back to the presence of biting insects that induced visible bleedings of the skin (Fisher Test,  $p < 0.001$ ). These findings correlate with conclusions of other research groups (Defra 2011, Friedrich et al. 2009a, Klemm et al. 2010, Pardon et al. 2009a). The hypothesis of the vaccination against the Bluetongue disease virus (BTV) having an impact on the occurrence of BNP calves could not be confirmed.

A further objective of research was the pedigree of the calves. The results show that the chance of calves to contract BNP was significantly increased by descending from individual sires (Fisher Test,  $p \leq 0.05$ ). The observations of the present dissertation confirm the results of research of Benedictus et al. (2015) who proposed that antibodies are directed against

molecules of the MHC class I complex of the colostrum and bind to stem cells of the calf destroying those cells. According to Benedictus et al. (2015), the propagation of vaccination viruses on homologous cell cultures displays a risk that should be avoided. Beyond that it is recommended to discard the colostrum of dams that gave birth to a calf with BNP. The same recommendation applies for the wide-spread custom of feeding mixed colostrum, which should be omitted.

## 8. Literaturverzeichnis

Agag B. Mycotoxins in food and feeds. Tricothecenes. A-T-2 Toxin. Assiut Universal Bulletin for environmental researches. 2005; 8 No.2: 107–124.

Agag B. Mycotoxins in foods and feeds 1-Aflatoxins. Assiut Universal Bulletin for environmental researches. 2004; 7: 173–205.

Agrawal S, Kishore MC. MHC Class I Gene Expression and Regulation. Journal of Hematotherapy & Stem Cell Research. 2000; 9: 795–812.

Alonso-Amelot ME. Bracken ptaquiloside in milk. Food and Chemical Toxicology. 1996; 34: 1187–1187.

Ammann VJ, Fecteau G, Hélie P, Desnoyer M, Hébert P, Babkine M. Pancytopenia associated with bone marrow aplasia in a Holstein heifer. Canadian veterinary journal. 1996; 37: 493–495.

Amrhein J, Bostedt H. Immunthrombozytopenie bei neugeborenen Ferkeln. Tierärztliche Praxis. 2003; 31: 260-263.

Anjos BL, Irigoyen LF, Figuera RA, Gomes AD, Kommers GD, Barros CSL. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. Brazilian Journal of Veterinary Research. 2008; 28(10): 501-507.

Anonym. Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“, Europ Buiatrics Forum; 2009; Marseille.

Anonym. Proceedings of the Wednesday Slide Conference 2008-2009 – “Case I”; 2009 März 4; Washington; USA. The Armed Forces Institute of Pathology, 2009a; 1-6.

Anonym. Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) in Great Britain - an overview. Bovine Neonatal Pancytopenia Symposium XXVI World Buiatrics Congress; 2010 Nov 14-18; Santiago, Chile; 2010; 6.

Anonym. <http://www.agrarheute.com/pitzer1404> 17.05.2010; 2010a.

Anonym. <http://www.jaenickendorf-wetter.de>, 20.09.2010; 2010b.

Anonym. <http://www.wdk.vetmed.uni-muenchen.de> 12.12.2011; 2011.

Anonym. <http://www.amstieraerzte.de/fachthemen/tierseuchenbekaempfung/432-blutschwitzen-der-kaelber> 25.10.2011; 2011a.

Anonym. [http://www.rvc.ac.uk/bvd/documents/Pfizer GmbH, Berlin, DeutschlandBVDLeaflet-comp.pdf](http://www.rvc.ac.uk/bvd/documents/Pfizer%20GmbH,%20Berlin,%20DeutschlandBVDLeaflet-comp.pdf) 23.10.2011; 2011b.

Anonym. [http://www.pei.de/cln\\_170/nn\\_1686480/DE/infos/presse/pm/2011/06.html](http://www.pei.de/cln_170/nn_1686480/DE/infos/presse/pm/2011/06.html) 21.11.2011; 2011c.

Anonym. <http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/bvd-vaccine-nz.htm> 20.01.2012; 2012.

Anonym. <http://www.ua-bw.de> 02.02.2012; 2012a.

Anonym. <http://www.ema.europa.eu> 02.02.2012; 2012b.

Anonym. <http://www.pei.de/DE/infos/tieraerzte/pharm-vet/uaw-vet/bnp/110831-bnp-ruecknahme-zulassung.html> 20.05.2012; 2012c.

Anosa VO, Logan-Henfrey LL, Shaw MK. A Light and Electron Microscopic Study of Changes in Blood and Bone Marrow in Acute Hemorrhagic *Trypanosoma vivax* Infection in Calves. *Veterinary Pathology Online*. 1992; 29: 33–45.

Bachmann PA, Eichhorn W, Hess RG. Aktive Mutterschutzimpfung: Passive Immunisierung von Neugeborenen. *Tierärztliche Umschau*. 1982; 37: 684-703.

Bainbridge DR. Evolution of mammalian pregnancy in the presence of the maternal immune system. *Reviews of Reproduction*. 2000; 5: 67-74.

Baker JC. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1995; 11: 425–445.

Baker LC, Kameneva MV, Watach MJ, Litwak P, Wagner WR. Assessment of Bovine Platelet Life Span with Biotinylation and Flow Cytometry. *Artificial Organs*. 1998; 22: 799–803.

Ballingall KT, Nath M, Holliman A, Laming E, Steele P, Willoughby K. Lack of evidence for an association between MHC diversity and the development of bovine neonatal pancytopenia in Holstein dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2011a; 141(1-2): 128-132.

Ballingall KT. Genes and the development of bovine neonatal pancytopenia. *The Veterinary Journal*. 2011b; 190(2): 187-188.

Bartol JM, Thompson LJ, Minnier SM, Divers TJ. Hemorrhagic diathesis, mesenteric hematoma, and colic associated with ingestion of sweet vernal grass in a cow. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2000; 216: 1605–1608.

Bastian M, Holsteg M, Hanke-Robinson H, Duchow K, Cussler K. Bovine Neonatal Pancytopenia: Is this alloimmune syndrome caused by vaccine-induced alloreactive antibodies? *Vaccine*. 2011; 29: 5267–5275.

Bauer N, Wenzel L, Moritz A, Doll K. Entwicklung der Bultbild- und Knochenmarksbefunde bei Kälbern mit hämorrhagischer Diathese. Zusammenfassung der 2. Tagung der Deutschen Buiatrischen Gesellschaft der DVG; 2009 Nov 13-14; Berlin, Deutschland. DVG; 2009; 23-29.

Bell CR. Bleeding disorders in cattle. In *Practice*. 2011; 33: 106–115.

Bell CR, Scott P, Penny C. Ten cases of „Bleeding Calf Syndrome“ in a Scottish beef herd: Epidemiology. Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“, Europ Buiatrics Forum; 2009; Marseille.

Bell CR, Scott P, Penny C. Ten cases of „Bleeding Calf Syndrome“ in a Scottish beef herd: Post-mortem findings. Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“, Europ Buiatrics Forum; 2009; Marseille.

Bell CR, Scott P, Penny C. Ten cases of „Bleeding Calf Syndrome“ in a Scottish beef herd: Clinical signs, haematology and attempted treatment. Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“, Europ Buiatrics Forum; 2009; Marseille.

Bell CR, Scott PR, Kerr MG, Willoughby K. Possible preventive strategy for bovine neonatal pancytopenia. *Veterinary Record*. 2010a; 167: 758.

Bell CR, Scott PR, Sargison ND, Wilson DJ, Morrison L, Howie F, u.a. Idiopathic bovine neonatal pancytopenia in a Scottish beef herd. *Veterinary Record*. 2010b; 167: 938-940.

Bell CR, Rocchi MS, Dagleish MP, Melzi E, Ballingall KT, Connelly M, Kerr MG, Scholes SFE, Willoughby K. Reproduction of bovine neonatal pancytopenia (BNP) by feeding pooled colostrum reveals variable alloantibody damage to different haematopoietic lineages. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2013; 151(3-4): 303-314.

Bell CR, Kerr MG, Scott PR, Morrison WI, Brown H. Evidence of a high incidence of subclinically affected calves in a herd of cattle with fatal cases of Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP). *BioMed Central veterinary research*. 2014; 10(1): 1.

Bender P, Bostedt H. Determination of IgG and IgM levels in sera of newborn calves until the 10th day of life by ELISA and description of their correlation to total plasma protein concentration and GGT activity. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*. 2009; 116(2): 44-52.

Benedictus L, Otten HG, Van Schaik G, Van Ginkel WG, Heuven HC, Nielen M, Rutten VGMP, Koets AP. Bovine Neonatal Pancytopenia is a heritable trait of the dam rather than the calf and correlates with the magnitude of vaccine induced maternal alloantibodies not the MHC haplotype. *Veterinary Research*. 2014; 45(1): 1.

Benedictus L, Luteijn RD, Otten HG, Lebbink RJ, Van Kooten PJ, Wiertz EJ, Rutten VPMG, Koets AP. Pathogenicity of Bovine Neonatal Pancytopenia-associated vaccine-induced alloantibodies correlates with Major Histocompatibility Complex class I expression. *Scientific reports*. 2015; 5.

Bernier Gosselin V, Fecteau G, Nichols S. Presumptive bovine neonatal pancytopenia in a Holstein calf in Québec. *Canadian Veterinary Journal*. 2011; 52(7): 788–790.

Bovill EG. Laboratory diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Seminars in Hematology (Supplement)*. 1994; 31: 35–39.

Boyle AG, Magdesian KG, Ruby RE. Neonatal isoerythrolysis in horse foals and a mule foal: 18 cases (1988–2003). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2005; 227: 1276–1283.

Bréard E, Sailleau C, Gourreau JM, Zientara S, Hamblin C, Graham SD. Outbreak of epizootic haemorrhagic disease on the island of Réunion. *Veterinary Record*. 2004; 155: 422–423.

Bridger PS, Bauerfeind R, Wenzel L, Bauer N, Menge C, Thiel H-J, u. a. Detection of colostrum-derived alloantibodies in calves with bovine neonatal pancytopenia. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2011; 141(1-2): 1-10.

Bruckner L, Fricker R, Hug M, Hotz R, Muntwyler J, Iten C, Griot C. Impfung gegen die Blauzungkrankheit: Verträglichkeit und Immunantwort in der Praxis. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 2009; 151(3): 101-108.

Brugère-Picoux J. Bleeding disorders in young calves in France. *Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“*, French Buiatrics Association; 2009; Marseille.

Buck BC, Ulrich R, Kuiper H, Reinacher M, Peters M, Heimberg P, u.a. Bovine neonatale Panzytopenie (BNP) bei Deutschen Holstein Kälbern. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*. 2011; 124(7-8): 329-336.

Buechner-Maxwell V, Scott MA, Godber L, Kristensen A. Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia in a Quarter Horse Foal. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1997; 11: 304–308.

Butler JE. Bovine immunoglobulins: an augmented review. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1983; 4: 43–152.

Chan PKC, Gentry PA. Inhibition of bovine platelet function by T-2 toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol and deoxynivalenol. *Food and Chemical Toxicology*. 1984; 22: 643–648.

Chang M, Nakagawa PA, Williams SA, Schwartz MR, Imfeld KL, Buzby JS, u. a. Immune thrombocytopenic purpura (ITP) plasma and purified ITP monoclonal autoantibodies inhibit megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood*. 2003; 102: 887–895.

Conraths FJ, Gethmann JM, Staubach C, Mettenleiter TC, Beer M, Hoffmann B. Epidemiology of Bluetongue Virus Serotype 8, Germany. *Emerging Infectious Diseases*. 2009; 15: 433-435.

Conraths FJ, Eschbaumer M, Freuling C, Gethmann J, Hoffmann B, Kramer M, Probst C, Staubach C, Beer M. Bluetongue Disease: An Analysis of the Epidemic in Germany 2006–2009. *Arthropods as Vectors of Emerging Diseases*. 2012; 103-135.

Cooper C. Potential link between the development of a bleeding syndrome in young calves and the consumption of colostrum from cows vaccinated with a killed bovine viral diarrhea vaccine. *Canadian Veterinary Journal*. 2012; 53(2): 143.

Corapi WV, French TW, Dubovi EJ. Severe thrombocytopenia in young calves experimentally infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus. *Journal of Virology*. 1989; 63: 3934–3943.

Corbière F, Foucras G, Lacroux C, Meyer G, Schelcher F. Haemorrhagic diathesis syndrome: clinical and epidemiological findings of 48 suspected cases in France, 2007-2009.

Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“, French Buiatrics Association; 2009; Marseille.

Corrier DE. Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1991; 30: 73–87.

Cota F, Zuppa AA, Luciano R, Gallini F, Savarese I, Alighieri G, u. a. A severe case of intracranial hemorrhage due to alloimmune thrombocytopenia. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 2008; 21: 852–854.

Cußler K, Hoffmann A, Nessler A, Fröhlich T. Auswertung der Nebenwirkungsmeldungen nach der Impfung gegen die Blauzungenkrankheit in Hessen für das Jahr 2008. *Praktischer Tierarzt*. 2009; 90(2): 142-150.

- Dale ST, Coleman LT. Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: Antenatal and Postnatal Imaging Findings in the Pediatric Brain. *American Journal of Neuroradiology*. 2002; 23: 1457–1465.
- Dalgleish RJ, Dimmock CK, Hill MWM, Mellors LT. *Babesia argentina*: disseminated intravascular coagulation in acute infections in splenectomized calves. *Experimental Parasitology*. 1976; 40: 124–131.
- Defra (Department for EF and RA. Investigations of an Emerging Syndrome of Bovine Neonatal Pancytopenia in Calves. Veterinary Laboratories Agency; 2011: 1–35.
- Demasius W, Weikard P, Kromik A, Wolf C, Mueller K, Kuehn C. Bovine neonatal pancytopenia (BNP): novel insights into the incidence, vaccination-associated epidemiological factors and a potential genetic predisposition for clinical and subclinical cases. *Research in veterinary science*. 2014; 96(3): 537-542.
- Derenbach J. Untersuchungen zum Saugverhalten neugeborener Kälber in der Mutterkuhhaltung [Dissertation med. vet.]. Göttingen. Universität Göttingen; 1981.
- Derr RF, Schultze MO, Mizuno NS, Joel DD, Sautter JH. The metabolism of 35S-(1,2-Dichlorovinyl)-l-cysteine in the calf. *Biochemical Pharmacology*. 1963; 12: 475–488.
- Deutskens F, Lamp B, Riedel C, Wentz E, Lochnit G, Doll K, u. a. Vaccine-induced antibodies linked to Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) recognize cattle Major Histocompatibility Complex class I (MHC I). *Veterinary Research*. 2011; 42: 97.
- Devery-Pocius JE, Larson BL. Age and previous lactations as factors in the amount of bovine colostrum immunoglobulins. *Journal of Dairy Science*. 1983; 66(2): 2214-2226.
- Dobrev V, Motovski A, Bogoslovov K, Peshev S. Hematological studies of pigs vaccinated against Aujeszky's disease. *Veterinarno-meditsinski nauki*. 1980; 17(5): 80-85.
- Dolan TT. Theileriasis: a comprehensive review. *Revue scientifique et technique O.I.E. (Off Int. Epizool.)*. 1989; 8: 11–36.
- Doll K, Wenzel L, König M, Thiel H-J, Reinacher M, Prenger-Berninghoff E, u.a. Krankheitsverlauf bei Kälbern mit hämorrhagischer Diathese. Zusammenfassung der 2. Tagung der Deutschen Buiatrischen Gesellschaft der DVG; 2009 Nov 13-14; Berlin, Deutschland. DVG; 2009; 20-22.
- Dosogne H, Massart-Leen AM, Burvenich C. Immunological aspects of *pregnancy associated* glycoproteins. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2000; 480: 295-305.

Dwyer CJ, Downing GM, Gabor LJ. Dicoumarol toxicity in neonatal calves associated with the feeding of sweet vernal (*Anthoxanthum odoratum*) hay. *Australian Veterinary Journal*. 2003; 81: 332–335.

Elizondo-Salazar JA und Heinrichs AJ. Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacterial concentrations to neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 2009; 92: 4565-4571.

Ellis JA, West KH, Cortese VS, Myers SL, Carman S, Martin KM, u. a. Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhoea virus-type II. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1998; 62(3): 161–169.

Forster LM. Neonatal alloimmune thrombocytopenia, purpura, and anaemia in 6 neonatal piglets. *Canadian Veterinary Journal*. 2007; 48: 855-857.

Foucras G, Corbiere F, Tasca C, Pichereaux C, Caubet C, Trumel C, et al. Alloantibodies against MHC class I: a novel mechanism of neonatal pancytopenia linked to vaccination. *The Journal of Immunology*. 2011; 187(12): 6564–6570.

Friedrich A, Rademacher G, Böttcher J, Kappe E, Hafner-Marx A, Weber B, u. a.. Gehäuftes Auftreten von hämorrhagischer Diathese bei Kälbern in süddeutschen Rinderbeständen. 7. Berlin-Brandenburgischer Rindertag; 2008 Okt 9-11; Berlin, Deutschland. Mensch und Buch Verlag; 2008; 71–72.

Friedrich A, Rademacher G, Weber BK, Kappe E, Carlin A, Assad A, u. a. Gehäuftes Auftreten von hämorrhagischer Diathese infolge Knochenmarkschädigung bei jungen Kälbern. *Tierärztliche Umschau*. 2009a; 64: 423–431.

Friedrich A, Rademacher G, Carlin A, Klee W. Ein aktuelles Problem: gehäuftes Vorkommen von hämorrhagischer Diathese bei jungen Kälbern. Zusammenfassung der 2. Tagung der Deutschen Buiatrischen Gesellschaft der DVG; 2009 Nov 13-14; Berlin, Deutschland. DVG; 2009b; 17-19.

Friedrich A, Assad A, Carlin A, Sauter-Louis C, Rademacher G, Klee W. Disorders of differential diagnostic interest. Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“, French Buiatrics Association; 2009c; Marseille.

Friedrich A, Carlin A, Assad A, Böttner M, Rademacher G, Sauter-Louis C, u. a. Experimental production of the syndrome. Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“, French Buiatrics Association; 2009d; Marseille.

Friedrich A, Buttner M, Rademacher G, Klee W, Weber B, Muller M, u. a. Ingestion of colostrum from specific cows induces Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) in some calves. *BioMed Central Veterinary Research*. 2011; 7: 10.

Fry MM. Bone marrow, blood cells, and lymphatic system. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. St. Louis: Mosby Elsevier; 2007. p. 743–832.

Fukunaka M, Toyoda Y, Kobayashi Y, Furuoka H, Inokuma H. Bone Marrow Aplasia with Pancytopenia and Hemorrhage in a Japanese Black Calf. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2010; 72(12): 1655-1656.

Gando S, Nauzak S, Sasaki S. Activation of the extrinsic coagulation pathway in patients with severe sepsis, and septic shock. *Critical Care Medicine*. 1998; 26: 2005–2009.

Garcia KC, Degano M, Speir JA, Wilson IA. Emerging principles for T cell receptor recognition of antigen in cellular immunity. *Reviews in Immunogenetics*. 1999; 1: 75–90.

Gava A, da Silva Neves D, Gava D, de Moura ST, Schild AL, Riet-Correa F. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in southern Brazil. *Veterinary and Human Toxicology*. 2002; 44: 362–365.

Gentile A, Rosignoli C, Pravettoni D, Testoni S, Bettini G, Belloli A. Pancytopenia and haemorrhagic diathesis in calves: Italian experience. *Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“*, French Buiatrics Association; 2009; Marseille.

Gentry PA, Brush PJ. Factor XI Deficiency in Canadian Holsteins. *The Canadian Veterinary Journal*. 1987; 28 (No.3): 110.

Gentry PA, Ross ML. Coagulation factor XI deficiency in Holstein cattle: expression and distribution of factor XI activity. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1994; 58: 242–247.

George JN, El-Harake MA, Raskob GE. Chronic Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *New England Journal of Medicine*. 1994; 331: 1207–1211.

Gethmann J, Huttner K, Heyne H, Probst C, Ziller M, Beer M, Hoffmann B, Mettenleiter TC, Conraths FJ. Comparative safety study of three inactivated BTV-8 vaccines in sheep and cattle under field conditions. *Vaccine*. 2009; 27: 4118-4126.

Gethmann J, Hoffmann B, Probst C, Beer M, Conraths FJ, Mettenleiter TC. Drei Jahre Blauzungenkrankheit Serotyp 8 in Deutschland – ein Überblick. *Tierärztliche Umschau*. 2010; 65: 4-12.

Gomez K, Bolton-Maggs P. Factor XI deficiency. *Haemophilia*. 2008; 14: 1183–1189.

- Griner LA, Bracken FK. Clostridium perfringens (type C) in acute hemorrhagic enteritis of calves. Journal of the American Veterinary Medical Association. 1953; 122: 99–102.
- Gruel Y, Boizard B, Daffos F, Forestier F, Caen J, Wautier JL. Determination of platelet antigens and glycoproteins in the human fetus. Blood. 1986; 68: 488-492.
- Gulliksen SM, Lie KI, Sølverød L, Østerås O. Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. Journal of Dairy Science. 2008; 91 (2): 704-712.
- Handunnetthi L, Ramagopalan SV, Ebers GC, Knight JC. Regulation of major histocompatibility complex class II gene expression, genetic variation and disease. Genes Immunology Journal. 2010; 11: 99–112.
- Harmeyer SS, Antonis AF, Gadd T, Salt JS, Jahnecke S, Brune A. Fetal protection against BVDV fetal infection six months after vaccination with a novel BVDV vaccine (Schutz vor transplazentarer Infektion mit BVDV nach Impfung mit einer neuen inaktivierten BVD-Vakzine (PregSure® BVD BVD)). Tierärztliche Umschau. 2004; 59: 663-668.
- Harms D. Grundlagen einer pathologisch-anatomischen Diagnostik der Verbrauchskoagulopathie. Blut. 1971; 23: 261-266.
- Harms M, Paepenmüller T, Müller-Goymann CC. Impfstoffe: Quillaja-Saponine als Immunadjuvanzien. Pharmazeutische Zeitung. 2008; 153(15): 36.
- Harper M, Boyce JD, Adler B. Pasteurella multocida pathogenesis: 125 years after Pasteur. FEMS Microbiology Letters. 2006; 265: 1–10.
- Hayashi T, Yamane O, Sakai M, Itakura C, Goto M. Hematological and Pathological Observations of Chronic Furazolidone Poisoning in Calves. The Japanese Journal of Veterinary Science. 1976; 38 No.3: 225–31, 233.
- Hirono I, Kono Y, Takahashi K, Yamada K, Niwa H, Ojika M, u. a. Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. Veterinary Record. 1984; 115: 375–378.
- Hoffmann B, Depner K, Schirrmeyer H, Beer M. A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection for pestiviruses. Journal of Virology Methods. 2006; 136: 200-209.
- Hoffmann B, Saßerath M, Thalheim S, Bunzenthall C, Strebelow G, Beer M. Bluetongue Virus Serotype 8 Reemergence in Germany, 2007 and 2008. Emerging Infectious Diseases. 2008; 14: 1421-1423.

Hoffmann-Fezer G, Hoffmann R, Hofmann W. [Chronic furazolidone poisoning in the calf. 2. Studies on the bone marrow]. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 1974; 81: 59–63.

Hoffmann-Fezer G, Hoffmann R, Hofmann W. [Chronic furazolidone poisoning in the calf. 2. Studies on the bone marrow]. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 1974a; 81: 59–63.

Hofmann W. [Hemorrhagic diathesis in calves caused by chronic furazolidone poisoning]. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 1972; 79: 289–292.

Holliman A, Scholes S, Willoughby K, Colloff A, Lambton S, Howie F. Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) in Great Britain - an overview. Bovine Neonatal Pancytopenia Symposium XXVI World Buiatrics Congress; 2010 Nov 14-18; Santiago, Chile; 2010; 6.

Holsteg M, Beintmann S, Schröter P. Bovine neonatale Panzytopenie: subklinischer Verlauf bei einem Kalb aus ökologischer Milchviehhaltung. 8. Berlin-Brandenburgischer Rindertag; 2010 Okt 7-9; Berlin, Deutschland. Cuvillier Verlag Göttingen; 2010; 58-60.

Horadagoda NU, Hodgson JC, Moon GM, Wijewardana TG, Eckersall PD. Role of endotoxin in the pathogenesis of haemorrhagic septicaemia in the buffalo. Microbial Pathogenesis. 2001; 30: 171–178.

House C, Shipman LD, Weybright G. Serological Diagnosis of Epizootic Hemorrhagic Disease in Cattle in the USA with Lesions Suggestive of Vesicular Disease. Annals of the New York Academy of Sciences. 1998; 849: 497–500.

Inaba Y. Ibaraki disease and its relationship to bluetongue. Australian Veterinary Journal. 1975; 51: 178–85.

Irmak K, Sen I, Cöl R, Birdane FM, Güzelbektes H, Civelek T, Yilmaz A, Turgut K. The evaluation of coagulation profiles in calves with suspected septic shock. Veterinary Research Communications. 2006; 30(5): 497–503.

Jackson ML, Kruth SA. Immune-mediated Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia in the Dog: A retrospective study of 55 cases diagnosed from 1979 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine. Canadian Veterinary Journal. 1985; 26(8): 245–250.

Jahnke B, Wolf J. „Gute Kinderstube“ macht sich bezahlt. Neue Landwirtschaft. 2001; 12(7): 52-55.

Jain NC. Coagulation and its disorders. Essentials of Veterinary Haematology. Philadelphia: Lea and Febige; 1993. pp. 82–104.

Johannsen U, Koch F, Mehlhorn G, Panndorf H, Neumeister K. [Pathomorphology and pathogenesis of radiation sickness in calves and young cattle following whole body roentgen irradiation]. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*. 1978; 32: 623–654.

Jones BA, Sauter-Louis C, Henning J, Stoll A, Nielen M, Van Schaik G, Guatteo R, u.a. Calf-Level Factors Associated with Bovine Neonatal Pancytopenia—A Multi-Country Case-Control Study. *PLoS one*. 2013; 8(12): e80619.

Kaplan C. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Orphanet Encyclopedia*. 2003; <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-NAIT.pdf>, 14.5.2011.

Kaplan C, Patereau C, Reznikoff-Etievant MF, Muller JY, Dumez Y, Kessler A. Antenatal PLA1 typing and detection of GP lib-IIIa complex. *British Journal of Haematology*. 1985; 60(3): 586-588.

Kappe EC, Halami MY, Schade B, Alex M, Hoffmann D, Gangl A, u. a. Bone marrow depletion with haemorrhagic diathesis in calves in Germany: characterization of the disease and preliminary investigations on its aetiology. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 2010; 123: 31–41.

Karpatkin S. Autoimmune thrombocytopenic purpura. *Blood*. 1980; 56: 329–343.

Kaske M, Kellers C, Jacobsen B. Haemorrhagic diathesis in a BVD-negative calf from Northern Germany. *Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“*, French Buiatrics Association; 2009; Marseille.

Kasonta R, Sauter-Louis C, Holsteg M, Duchow K, Cussler K, Bastian M. Effect of the vaccination scheme on PregSure® BVD induced alloreactivity and the incidence of Bovine Neonatal Pancytopenia. *Vaccine*. 2012; 30: 6649-6655.

Kasonta R, Sauter-Louis C, Holsteg M, Cussler K, Bastian M. BoLA-1 antibodies and the induction of bovine neonatal pancytopenia: a twin calves study. *Veterinary Record Case Reports*. 2014a; 2(1), e000082.

Kasonta R, Holsteg M, Duchow K, Dekker JW, Cussler K, Bendall JG, Bastian M. Colostrum from Cows Immunized with a Vaccine Associated with Bovine Neonatal Pancytopenia Contains Allo-Antibodies that Cross-React with Human MHC-I Molecules. *PLoS one*. 2014b; 9(10), e109239.

Keller SL, Jefferson BJ, Jacobs RM, Wood RD. Effects of noncytopathic type 2 Bovine viral diarrhoea virus on the proliferation of bone marrow progenitor cells. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2006; 70(1): 20–27.

Keyes ML, Rush JE, Knowles KE. Pulmonary thromboembolism in dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 1993; 3: 23–32.

Klemt A. Auftreten von Boviner Neonataler Panzytopenie und begleitende hämatologische Untersuchungen bei Kälbern einer 1500er Milchviehanlage. *Tierärztliche Umschau*. 2010; 65: 257-270.

Koch R. 5. Schätzung von Risiken: Eine kurze Einführung in Ziele und Methoden. In: Margraf J, Kunath H (Hrsg.). *Methodische Ansätze in der Public-Health-Forschung*. Regensburg: Roderer; 1995.

Kohlmann T. Grundlagen der Epidemiologie. In: Gostomzyk JG - *Angewandte Sozialmedizin*. 26. Aufl. Ecomed Medizin Heidelberg; 2014; pp. 1-4.

Krappmann K, Weikard R, Gerst S, Wolf C, Kühn C. A genetic predisposition for bovine neonatal pancytopenia is not due to mutations in coagulation factor XI. *The Veterinary Journal*. 2011; 190(2): 225-229.

Kreienbrock L, Schach S. *Epidemiologische Methoden*. 3. Aufl. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 2000.

Kruse PE. The importance of colostral immunoglobulins and their absorption from the intestine of the newborn animals. *Annales de recherche veterinaire*. 1983; 14: 349.

Kuhn DM, Ghannoum MA. Indoor Mold, Toxigenic Fungi, and *Stachybotrys chartarum*: Infectious Disease Perspective. *Clinical Microbiological Reviews*. 2003; 16: 144–172.

Lambton SL, Colloff AD, Smith RP, Caldow GL, Scholes SFE, Willoughby K, Howie F, Ellis-Iversen J, David G, Cook AJC, Holliman A. Factors Associated with Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) in Calves: A Case-Control Study. *PLoS ONE*. 2011; 7(5): e34183. doi:10.1371/journal.pone.0034183

Letellier C, Kerkhofs P. Real-time PCR for simultaneous detection and genotyping of bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Virological Methods*. 2003; 114, 21-27.

Levi U. Aufbau und Entwicklung der schwarzbunten Milchviehpopulation in Israel. *Der Tierzüchter*. 1970; 29: 470-473.

Lewis DC, Meyers KM. Studies of platelet-bound and serum platelet-bindable immunoglobulins in dogs with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Experimental Hematology*. 1996a; 24: 696–701.

Lewis DC, Meyers KM. Canine Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1996b; 10: 207–218.

Lock EA, Sani Y, Moore RB, Finkelstein MB, Anders MW, Seawright A. Bone marrow and renal injury associated with haloalkene cysteine conjugates in calves. *Archives of Toxicology*. 1996; 70: 607-619.

Lofstet J, Dahoo IR, Duizer G. Model to predict septicaemia in diarrheic calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1999; 13: 81–88.

Loretti AP, Colodel EM, Driemeier D, Corrêa AM, Bangel JJ, Ferreiro L. Neurological Disorder in Dairy Cattle Associated with Consumption of Beer Residues Contaminated with *Aspergillus Clavatus*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2003; 15: 123–32.

Lunn DP, Butler DG. Idiopathic thrombocytopenic purpura in a Holstein bull. *Canadian Veterinary Journal*. 1991; 32: 559–561.

Marron BM, Robinson JL, Gentry PA, Beaver JE. Identification of a mutation associated with factor XI deficiency in Holstein cattle. *Animal Genetics*. 2004; 35: 454–456.

Martin SW, Schwake CW, Franti CE. Dairy calf mortality rate: influence of management and housing factors on calf mortality rate in Tulare County, California. *American Journal of Veterinary Research*. 1975; 36: 1112–1114.

Marzec U, Johnston GG, Bernstein EF. Platelet function in calves: a study of adhesion, aggregation, release, clotting factor activity and life span. *Transactions - American Society for Artificial Internal Organs*. 1975; 21: 581–586.

Maurer K, Krey T, Moennig V, Thiel HJ, Rümenapf T. CD46 is a cellular receptor for bovine viral diarrhoea virus. *Journal of Virology*. 2004; 78: 1792-1799.

Mbassa GK, Balemba O, Maselle RM, Mwaga NV. Severe anaemia due to haematopoietic precursor cell destruction in field cases of East Coast Fever in Tanzania. *Veterinary Parasitology*. 1994; 52: 243–256.

McKenzie RA, Blaney BJ, Connole MD, Fitzpatrick LA. Acute aflatoxicosis in calves fed peanut hay. *Australian Veterinary Journal*. 1981; 57: 284–286.

McKinney LL, Weakley FB, Eldridge AC, Campbell RE, Cowan JC, Picken JC, u. a. S-(dichlorovinyl)-L-cysteine: an agent causing fatal aplastic anemia in calves. *Journal of the American Chemical Society*. 1957; 79: 3932–3933.

McMillan R, Luiken GA, Levy R, Yelenosky R, Longmire RL. Antibody Against Megakaryocytes in Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 1978; 239: 2460–2462.

Meydan H, Yildiz MA, Ozdil F, Gedik Y, Ozbeyaz C. Identification of factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2009; 51: 5.

Mez L, Gerhold L, de Haan G. Atomkraft als Risiko. Analysen und Konsequenzen nach Tschernoby. Frankfurt am Main: Lang Verlag; 2010. pp. 132-33.

Mirocha CJ, Pathre SV, Schauerhamer B, Christensen CM. Natural occurrence of Fusarium toxins in feedstuff *Applied and Environmental Microbiology*. 1976; 32: 553–556.

Mizuno NS, Perman V, Bates FW, Sautter JH, Schultze MO. Life span of thrombocytes and erythrocytes in normal and thrombocytopenic calves. *Blood*. 1959; 14: 708–719.

Moennig V, Houe H, Lindberg A. BVD control in Europe: current status and perspectives. *Animal Health Research Reviews*. 2005; 6: 63–74.

Moog F. Endocrine Influences on the Functional Differentiation of the Small Intestine. *Journal of Animal Science*. 1979; 49: 239–249.

Morris DD. Disease of Hematopoietic and Hemolymphatic systems. In : Smith, B. P., (ed)., *Large Animal Internal Medicine*. Philadelphia: The C. V. Mosby Company; 1990. pp. 1077-1080.

Morris JA, Gardner MJ: Statistics in Medicine: Calculating confidence intervals for relative risks (odds ratios) and standardised ratios and rates. *British medical journal (Clinical research ed.)*. 1988; 296: 1313.

Müller K, Weber C, Meyer J, Gruber A. Monitoring of health and selected parameters of blood biochemistry and haematology in neonates and their dams on a farm with bovine haemorrhagic syndrome. *Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“*, French Buiatrics Association; 2009; Marseille.

Murphy BM, Drennan MJ, O'Mara FP, Earley B: Cow Serum and Colostrum Immunoglobulin (IgG) Concentration of Five Suckler Cow Breed Types and Subsequent Immune Status of Their Calves. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*. 2005; 44: 205-213.

Newman MJ, Hines HC. Stimulation of maternal anti-lymphocyte antibodies by first gestation bovine fetuses. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1980; 60: 237–241.

Nilsson NL, Djuricic S, Hviid TV. Controlling the Immunological Crosstalk during Conception and Pregnancy: HLA-G in Reproduction. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5: 198.

Nurden A. Glanzmann thrombasthenia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2006; 1: 10.

Oehmichen M, Pedal I, Schmidt V, Schlote W. Formvarianten kugelförmiger hyaliner Mikrothromben. *International Journal of Legal Medicine*. 1986; 97(1): 29-40.

Omori T, Inaba Y, Morimoto T, Tanaka Y, Ishitani R. Ibaraki virus, an agent of epizootic disease of cattle resembling bluetongue: I. Epidemiologic, clinical and pathologic observations and experimental transmission in calves. *Japanese Journal of Microbiology*. 1969; 13: 139–157.

Osaka I, Matsui Y, Terada F. Effect of the mass immunoglobulin (Ig)G intake and age of first colostrum feeding on serum IgG concentration in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*. 2014; 97: 6608-6612.

Pardon B, De Bleecker K, Steukers L, Dierick J, Saey V, Maes S, u. a. Neonatal haemorrhagic diathesis in Belgium: Epidemiology. *Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“*, French Buiatrics Association; 2009a; Marseille.

Pardon B, Saey V, Dierick J, Vercauteren G, De Clercq K, Ducatelle R, u. a. Neonatal haemorrhagic diathesis in Belgium: gross pathology and cytology of blood and the haematopoietic system. *Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“*, French Buiatrics Association; 2009b; Marseille.

Pardon B, Steukers L, Dierick J, Ducatelle R, Saey V, Maes S, u. a. Haemorrhagic diathesis in neonatal calves: an emerging syndrome in Europe. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2010; 57: 135–146.

Pardon B, Stuyven E, Stuyvaert S, Hostens M, Dewulf J, Goddeeris BM, u. a. Sera from dams of calves with bovine neonatal pancytopenia contain alloimmune antibodies directed against calf leukocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2011;141: 293-300.

Penny CD, Bell C, Morrison L, Howie F, Willoughby K. Pancytopenia and haemorrhage in young beef calves. *Veterinary Record*. 2009; 164: 762.

Perez-Alenza MD, Blanco J, Sardon D, Sanchez Moreiro MA, Rodriguez-Bertos A, u. a. Clinico-pathological findings in cattle exposed to chronic bracken fern toxicity. *New Zealand Veterinary Journal*. 2006; 54: 185–192.

Platen M. Physiologie und Management der Beziehungen zwischen Fruchtbarkeit und Milchproduktion bei Hochleistungskühen [Dissertation med. vet]. Berlin. Humboldt Universität Berlin; 1997.

Prasad K. What are relative risk, number needed to treat and odds ratio? *Annals of Indian Academy of Neurology*. 2007; 10: 225-230.

Pritchett LC, Gay CC, Besser TE, Hancock DD. Management and production factors influencing immunoglobulin G 1 concentration in colostrum from Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 1991; 74(7): 2336-2341.

Probst C, Gethmann JM, Höreth-Böntgen D, Cussler K, Conraths FJ. Lack of evidence for claims of farmers in south-eastern Germany regarding adverse reactions ascribed to BTV-8 vaccines. Mangelnde Beweise für die von Landwirten im Südosten Deutschlands geltend gemachten Schäden der Impfung gegen die Blauzungenkrankheit. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*. 2011; 6: 282-287.

Raczynski J. Retrospektive Analyse von Fällen von hämorrhagischer Diathese im Patientengut der Klinik für Wiederkäuer [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilian-Univ. München, 2011.

Radostits OM, Searcy GP, Mitchall KG. Moldy sweetclover poisoning in cattle. *Canadian Veterinary Journal*. 1980; 21(5): 155–158.

Ramasamy I. Inherited bleeding disorders: disorders of platelet adhesion and aggregation. *Critical Reviews in Oncology / Hematology*. 2004; 49: 1-35.

Rebhun WC, French TW, Perdrizet JA, Dubovi EJ, Dill SG, Karcher LF. Thrombocytopenia Associated With Acute Bovine Virus Diarrhea Infection in Cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1989; 3: 42–46.

Rhoades K, Heddleston K, Rebers P. Experimental hemorrhagic septicemia: gross and microscopic lesions resulting from acute infections and from endotoxin administration. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science*. 1967; 31(9): 226–233.

Roitt I. Leitfaden der Immunologie. Darmstadt: Steinkopf Verlag Darmstadt; 1988; 3.Aufl.; p. 243.

Ronzoni A, Theron L, Bayrou C, Jolly S, Cassart D, Rao AS, Hanzen C. Haematological profiles of calves belonging to herds with bovine neonatal pancytopenia history in and around Wallonia (Belgium). 2013 Aug 28-30; Bern, Schweiz. Buiatrissima 8th ECBHM Symposium; 2013; 103.

- Rosenberger G. Die klinische Untersuchung des Rindes. Berlin: Verlag Paul Parey; 1990.
- Rundles W. Toxic Protein Derivatives Causing Aplastic Anemia A Review. *Blood*. 1958; 13: 899–903.
- Sanchez-Miguel C, McElroy M, Walsh E. Bovine neonatal pancytopenia in calves in Ireland. *Veterinary Record*. 2010; 166: 664.
- Sauter-Louis C, Carlin A, Friedrich A, Assad A, Reichmann F, Rademacher G, Heuer C, Klee W. Case control study to investigate risk factors for bovine neonatal pancytopenia (BNP) in young calves in southern Germany. *Preventive Veterinary Medicine*. 2012; 105: 49–58.
- Schlafer DH, Fisher PJ, Davies CJ. The bovine placenta before and after birth: placental development and functions in health and disease. *Animal Reproduction Science*. 2000; 60-61: 145-160.
- Schleitzer G. Auf dem Weg zur 10.000-Liter-Kuh. *Neue Landwirtschaft*. 1999; 10(10): 62-66.
- Scholes SFE. Haemopoietic cell depletion and regeneration in calves with idiopathic haemorrhagic diathesis syndrome. Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“, French Buiatrics Association; 2009; Marseille.
- Schröter P, Lupp B, Ganter M, Distl O. A colostrum substitute prevents bovine neonatal pancytopenia (BNP) in a herd with previously BNP-affected calves. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 2011; 125(11-12): 476-481.
- Schultze MO, Klubes P, Perman V, Mizuno NS, Bates FW, Sautter JH. Blood Dyscrasia in Calves Induced by S-(Dichlorovinyl)-L-Cysteine. *Blood*. 1959; 14: 1015–1025.
- Schwark HJ. (1985): Lehrbuch Rinderzucht. 2. Aufl. Berlin: VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin; 1985. pp. 40, 135-156, 270-299.
- Searcy GP, Petrie L. Clinical and laboratory findings of a bleeding disorder in eight Simmental cattle. *Canadian Veterinary Journal*. 1990; 31: 101-103.
- Segal R, Milo-Goldzweig I, Joffe AZ, Yagen B. Trichothecene-induced hemolysis: I. The hemolytic activity of T-2 toxin. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1983; 70: 343–349.
- Sellers RF, Maarouf AR. Possible introduction of epizootic hemorrhagic disease of deer virus (serotype 2) and bluetongue virus (serotype 11) into British Columbia in 1987 and 1988 by infected *Culicoides* carried on the wind. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1991; 55(4): 367–370.

Shaw MK, Tilney LG, Musoke AJ. The Entry of *Theileria parva* Sporozoites into Bovine Lymphocytes: Evidence for MHC Class I Involvement. *The Journal of Cell Biology*. 1991; 113: 87–101.

Shimada A, Onozato T, Hoshi E, Togashi Y, Matsui M, Miyake Y, u. a. Pancytopenia with bleeding tendency associated with bone marrow aplasia in a Holstein calf. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2007; 69: 1317–1319.

Shiraishi M, Ogawa H, Ikeda M, Kawashima S, Ito K. Platelet dysfunction in Chediak-Higashi syndrome-affected cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science/ The Japanese Society of Veterinary Science*. 2002; 64(9): 751-760.

Sinha A, Lopez M, McDevitt H. Autoimmune diseases: the failure of self tolerance. *Science*. 1990; 248: 1380–1388.

Smith BJ, Holladay SD, Blaylock BL. Hematopoietic alterations after exposure to T-2 mycotoxin. *Toxicon*. 1994; 32: 1115–1123.

Smolenaars A, Mars MH. Epidemiologic and diagnostic results of haemorrhagic disease syndrome in calves in The Netherlands. *Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“; Europ Buiatrics Forum; 2009; Marseille.*

Snodgrass DR, Fayeh KJ, Wells PW, Campbell I, Whitelaw A. Passive immunity in calf rotavirus infections: maternal vaccination increases and prolongs immunoglobulin G1 antibody secretion in milk. *Infection and Immunity*. 1980; 28: 344-349.

Spagnuolo M, Kennedy S, Foster JC, Moffett DA, Adair BM. Bovine viral diarrhoea virus infection in bone marrow of experimentally infected calves. *Journal of Comparative Pathology*. 1997; 116: 97.

Steficek BA, Thomas JS, Baker JC, Bell TG. Hemorrhagic diathesis associated with a hereditary platelet disorder in Simmental cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1993; 5: 202–207.

Stott GH, Marx DB, Menefee BE, Nightengale GT. Colostral Immunoglobulin Transfer in Calves I. Period of Absorption. *Journal of Dairy Science*. 1979; 62: 1632–1638.

Stöber M. Hämorrhagische Diathesen. In: Dirksen G, Gründer HD, Stöber M – *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. 5. Aufl. Stuttgart: Parey; 2006; pp. 247-253.

Suter F, Hartmann K. Immunprophylaxe. Impfungen, Vakzinen, Immunisierungsprogramme und Immuntherapie. In: Suter, P. und Kohn, B. (Hers.): Praktikum der Hundeklinik. Parey Verlag 2006; pp. 272-275.

Temizel EM, Yesilbag K, Batten C, Senturk S, Maan NS, Clement-Mertens PP, u. a. Epizootic hemorrhagic disease in cattle, Western Turkey. *Emerging Infectious Diseases*. 2009; 15: 317–319.

Terracini B, Parker VH. A pathological study on the toxicity of S-dichlorovinyl-L-cysteine. *Food and Cosmetics Toxicology*. 1965; 3: 67–74.

Theron L, Vogin N, Moreau E, Bayrou C, Rollin F, Hanzen C. Pancytopenie néonatale: nouveau syndrome hémorragique chez le bovin. *Point Vétérinaire*; 2010. <http://hdl.handle.net/2268/37839>.

Thomsen GW, McSherry BJ, Valli VEO. Endotoxin induced disseminated intravascular coagulation in cattle. *Canadian Journal of comparative Medicine*. 1974; 38: 457-466.

Thrusfield M. *Veterinary epidemiology*. 3. Aufl. Oxford: Blackwell Science; 2005; pp. 600.

VLA Disease surveillance report. Idiopathic haemorrhagic diathesis diagnosed in calves across England. *Veterinary Record*. 2009; 165: 305.

Walz PH, Bell TG, Steficek BA, Kaiser L, Maes RK, Baker JC. Experimental Model of Type II Bovine Viral Diarrhea Virus-Induced Thrombocytopenia in Neonatal Calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1999; 11: 505–514.

Weaver DM, Tyler JW, VanMetre DC, Hostetler DE, Barrington GM. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2000; 14(6): 569-577.

Wehrend A. Neonatale Isoerythrolyse. In: Fey K, Kolm G. *Fohlenmedizin*. 1.Aufl. Stuttgart: Enke Verlag; 2011. pp. 227-34.

Weiss DJ, Rashid J. The sepsis–coagulant axis: a review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 1998; 12: 317–324.

Weiss RE. *Modeling longitudinal data*. New York: Springer Science+Business media; 2005. pp 104-105.

Willoughby K, Gilray J, Maley M, Everest D, Gurralla R, Dastjerdi A, u. a. Bleeding disorders of Calves: Virological investigations in the UK. *Proceedings of the Satellite Symposium „Haemorrhagic Diathesis in Calves“*, Europ Buiatrics Forum; 2009; Marseille.

Willoughby K, Gilray J, Maley M, Dastjerdi A, Steinbach F, Banks M, u. a. Lack of evidence for circovirus involvement in bovine neonatal pancytopenia. *Veterinary Record*. 2010; 166: 436–437.

Witt K, Weber CN, Meyer J, Buchheit-Renko S, Müller KE. Haematological analysis of calves with bovine neonatal pancytopenia. *Veterinary Record*. 2011; 169: 228.

Wolf J, Jahnke B, Losand B. Gute Kinderstube für zukünftige Milchkühe. *Neue Landwirtschaft*. 2000; 11(1): 68-71.

Wood RD, Goens SD, Carman PS, Deregt D, Jefferson B, Jacobs RM. Effect on hematopoietic tissue of experimental infection of calves with noncytopathic type 2 bovine viral diarrhoea virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2004; 68(1): 42–48.

Yadin H, Brenner J, Bumbrov V, Oved Z, Stram Y, Klement E, u. a. Epizootic haemorrhagic disease virus type 7 infection in cattle in Israel. *Veterinary Record*. 2008; 162: 53–56.

Yamini B, Poppenga RH, Braselton WE, Judge LJ. Dicoumarol (moldy sweet clover) toxicosis in a group of Holstein calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1995; 7: 420–422.

Yeruham I, Avidar Y, Harrus S, Fishman Z, Aroch I. Immune-mediated thrombocytopenia and putative haemolytic anaemia associated with a polyvalent botulism vaccination in a cow *Veterinary Record*. 2003; 153: 16 502-504.

## **9. Anhang**

### **9.1 Betriebsdaten**

Im Folgenden sollten Betriebsdaten bezüglich der Haltung, der Fütterung, der Milchleistung, der Fruchtbarkeit, der Laktations- und Altersstruktur und Abgänge dargestellt werden.

#### **Tiere und Management**

Die Datensätze stammen aus einer im Bundesland Brandenburg ansässigen Agrargenossenschaft. Die Genossenschaft betreibt zwei unweit voneinander gelegene Milchviehanlagen - hier Abrechnungseinheit AE1 und AE2 genannt. Jedem Standort war ein/e eigene/r Herdenmanager/-in zugeordnet, der/die die täglichen Betriebsabläufe organisierte. Die beiden Herdenmanager unterstanden einem Betriebsleiter, dem die Rationsgestaltung und die Geschäftsführung oblag. Die Tiere gehörten vornehmlich der Rasse Deutsch Holstein an. Bei einzelnen Tieren handelte es sich um Kreuzungstiere der Rassen Deutsch Holstein X Schwarzbuntes Milchrind bzw. Deutsch Holstein x Rotbuntes Milchrind. Die Aufzucht der weiblichen Jungrinder der AE1 und der AE2 (ca. 690 Tiere) erfolgte ab dem Zeitpunkt des Absetzens am Standort der AE1. Die männlichen Kälber wurden in einer separat gelegenen Bullenmastanlage (ca. 750 Tiere) gehalten.

#### **Haltungsbedingungen Milchkühe**

Die Milchkühe waren in zu Boxenlaufställen umgebauten Stallhüllen einer Milchviehanlage der ehemaligen DDR vom Typ 1930 untergebracht. In der AE1 wurden die Rinder auf Vollspaltenböden gehalten, während die Laufflächen der AE2 spaltenlose Betonböden waren. Die Jungrinder beider Betriebsteile wurden bis kurz vor der ersten Kalbung gemeinsam gehalten. Dies gewährleistete, dass die Tiere mit Ausnahme der ersten drei bis vier Lebensmonate unter gleichen Bedingungen aufwuchsen. Zu der Art und Ausstattung des Stallgebäudes sowie der Reinigung informiert Tabelle 22. In den Abrechnungseinheiten wurden im Beobachtungszeitraum von 2007 bis 2010 jährlich durchschnittlich 244 (AE1) bzw. 373 Milchkühe (AE2) sowie deren Kälber bis zu einem Alter von etwa vier Monaten gehalten.

**Tabelle 22. Haltungsbedingungen der Milchkühe in den Abrechnungseinheiten 1 und 2**

Milchkühe	AE1	AE2
Ø Anzahl Tiere	244	373
Typ Stall	Umgebaute Stallhüllen einer Milchviehanlage Typ 1930	
Typ Liegebox	Hochboxen	
Ausstattung Liegebox	Kuhmatrizen und Gummimatten	
Laufflächen Stall	Betonierter Vollspaltenboden	Planbefestigter Boden
Laufwege	Betonierter Vollspaltenboden	Gummierter Vollspaltenboden
Melkstand (Melkungen)	Fischgrätenmelkstand (2 Melkungen pro Tag)	
Krankenstall	Gruppenlaufboxen auf Tiefstreu	
Abkalbestall	Kleingruppenlaufboxen auf Tiefstreu	
Auslauf	Möglich für Trockensteher in einem Laufhof	
Reinigung	Liegeboxen zweimal pro Tag manuell (inkl. Kalkeinstreu)	Siehe AE1 sowie Schieberentmischung der planbefestigten Laufgänge

### Fütterung und Leistungsgruppen

In beiden AE wurden die Kühe mit betriebseigenem Grundfutter (Luzerne, Grünroggensilage, Grassilage, Heu, Stroh) in Form einer „Totalen Mischration“ (TMR) gefüttert. Die Futterkomponenten wurden über den der Agrargenossenschaft angeschlossenen Ackerbaubetrieb mit 4138 Hektar landwirtschaftlich genutzter Fläche bezogen (Tabelle 23). Die Rationierung der TMR und des Krafftutters erfolgte nach Milchleistungsdaten und Leistungsgruppe, wobei nicht nach den AE unterschieden wurde. Es fanden regelmäßige Kontrollen der Futtermittelqualität statt.

In den verschiedenen Leistungsgruppen wurde Krafftutter, bestehend aus Silomais, Körnermais, Roggen, Gerste, Triticale, Soja und Raps in hofeigener Mischung nach Bedarf zugefüttert. Lediglich Sojaschrot, pansenbeständiges Protein, Rapsexpeller und Mineralstoffe wurden von Fremdfirmen angekauft. Als Futterzusatzstoffe kamen Propylenglycol, saure Salze zum Einsatz, die über entsprechende Zulieferer bezogen wurden. Die Futtermittelversorgung beider AE ist identisch. Das Wasser stammt in beiden Betriebsteilen aus hofeigenen Brunnen.

Die verschiedenen Leistungsgruppen gestalteten sich wie folgt:

- Frischabkalber Färsen und Kühe bis zum 60. Laktationstag, mit einer durchschnittlichen Milchleistung von 33 kg/ Tag/ Tier
- Hochleistungstiere: Drei Gruppen je nach Höhe der Milchleistung pro Tag (Ø 38 kg/ Tag/ Tier, Ø 28 kg/ Tag/ Tier, Ø 22 kg/ Tag/ Tier)
- Eutergruppe: Kühe mit krankhaften Veränderungen des Euters und des Eutersekrets
- Krankengruppe: Kühe mit Erkrankungen der Gliedmaßen, des Stoffwechsels und sonstigen Krankheiten
- Trockensteher: Kühe in der Spätlaktation (6-4 Wochen bzw. ca. 40 Tage *ante partum* (*a.p.*))
- Vorbereiter: Kühe, kurz vor der Abkalbung (3-0 Wochen *a.p.*). Diese Tiere erhielten bereits mit der Ration für Frischabkalber, damit das Pansenepithel sich adaptieren kann, sowie mit sauren Salzen zur Prävention der Hypokalzämie.

**Tabelle 23. Nutzung der Ackerbauflächen durch die Abrechnungseinheit "Ackerbau" der Agrargenossenschaft, der die Betriebsteile AE1 und AE2 angehören**

	Fläche (Hektar, ha)	% der Ackerfläche
Getreide	1209	42,1
Raps	371	13,0
Leguminosen	66	2,3
Mais	824	28,8
Ackerf/Luzerne	177	6,2
Sorghum	87	3,0
Grünbrache	131	4,6
Summe Ackerfläche	2868	100,0
Grünland	1270	30,7 % der LF
Summe Landfläche (LF)	4138	

### Milchleistungsdaten und Fruchtbarkeitskennzahlen

In Tabelle 24 wurden die Milchleistungsdaten und das Erstkalbealter (EKA) als auch die gemittelte Zwischenkalbezeit (ZKZ) der Milchkuhherde der Jahre 2006 bis 2010 dargestellt. Die gemittelten Milchleistungen stiegen in beiden AE in den genannten Jahren stark an, während sich das EKA und die ZKZ sich nur geringfügig veränderten.

**Tabelle 24. Betriebskennzahlen der AE1 und AE2 in den Jahren 2006 - 2010. Darstellung der durchschnittlichen Milchleistung, des Milchfett und -eiweißgehaltes, der somatischen Zellzahl, des Erstkalbealters (EKA) und der Zwischenkalbezeit (ZKZ) laut Landeskontrollverband Brandenburg e.V., Waldsiedersdorf**

	2006		2007		2008		2009		2010	
	AE1	AE2								
Anzahl Kühe	238	385	251	400	240	380	244	363	241	350
Milch in kg/ Kuh/ Jahr	8795	9165	8889	9110	9196	9722	9430	9644	9665	9733
% Fett	3,98	3,93	4,03	4,09	4,09	4,13	4,11	4,05	4,27	4,23
% Eiweiß	3,45	3,45	3,44	3,44	3,45	3,49	3,40	3,44	3,49	3,51
Somatische Zellzahl- 1.000/cm <sup>3</sup>	288	257	278	253	231	259	244	247	237	253
EKA (in Monaten)	26	26	26	26	26	26	26	26	25	26
ZKZ (in Tagen)	399	414	402	405	395	418	394	415	378	401

Hinsichtlich der Milchleistungsdaten und des Zellgehalts lag der Betrieb im Jahr 2010 etwas über dem Durchschnittswert des Landes Brandenburg (8934 kg/Jahr/Tier Milch, Fett 4,10 %, Eiweiß 3,39 %; mittlerer Zellgehalt 237.000 Zellen/cm<sup>3</sup>) (Tierzuchtreport Brandenburg 2010). Auch in den anderen Jahren war diese Tendenz zu beobachten.

Die Erstkalbealter befanden sich mit 25 und 26 Lebensmonaten im oberen Bereich des von vielen Autoren genannten Zielbereichs von 24 bis 26 Monaten und ebenfalls über dem durchschnittlichen Erstkalbealter in Brandenburg 2008-2010 von 26,6 bis 26,8 Monaten (Levi

1970, Platen 1997, Schleitzer 1999, Tierzuchtreport des Landesamtes für Verbraucherschutz, Landwirtschaft und Flurneuordnung Brandenburg (LVLF) 2008-2010, Wolf et al. 2000). Die gemittelte Zwischenkalbezeit von 402 Tagen wich nur geringfügig von dem Brandenburger Durchschnitt von 409 Tagen ab (Tierzuchtreport LVLF 2010). In der AE2 waren die Zwischenkalbezeiten durchschnittlich 17 Tage länger als in der AE1.

### **Zootechnische Maßnahmen Milchkühe**

#### **Fruchtbarkeitsmanagement/ Besamung**

Auf beiden Betrieben erfolgte die Belegung der Kühe mittels künstlicher Besamung. Die Färsen wurden ab einem Alter von 17 Monaten künstlich besamt oder einem in der AE1 aufgestellten Zuchtbullen zugeführt. Vor der Kalbung werden die tragenden Färsen je nach Bedarf in die AE1 und AE2 zurückgeführt. Diejenigen Färsen, die nach zwei- bis dreimaliger Insemination nicht tragend waren, wurden dem jeweilig anwesenden Bullen zugeführt. Dieser wurde in der Regel im Alter von 15 Monaten vom Betrieb angekauft und anderthalb bis zwei Jahre in der Jungrinderanlage eingesetzt. Danach wurde dieser Bulle in die AE1 verbracht, um dort ebenfalls diejenigen Kühe zu decken, bei denen die künstliche Besamung erfolglos verlief. In den Jahren 2007 bis 2010 kamen in die AE1 drei Bullen zum Einsatz. Der Bulle wurde separat in einer Außenbox (15-20 m<sup>2</sup>) auf Stroh gehalten. In der AE2 wurde ausschließlich mit künstlicher Insemination gearbeitet. Acht bis sechs Wochen vor dem errechneten Kalbetermin wurden die tragenden Färsen aus der Jungrinderanlage in die Herde der Milchkühe integriert. Tragende Tiere wurden antibiotisch in der AE1 49, in der AE2 42 Tage vor dem berechneten Kalbetermin in beiden Abrechnungseinheiten mit dem Trockensteller Cloxacillin-TS-1000® ad us. vet. (Virbac (Switzerland) AG) (Wirkstoff Cloxacillin) trockengestellt.

#### **Sonstiges**

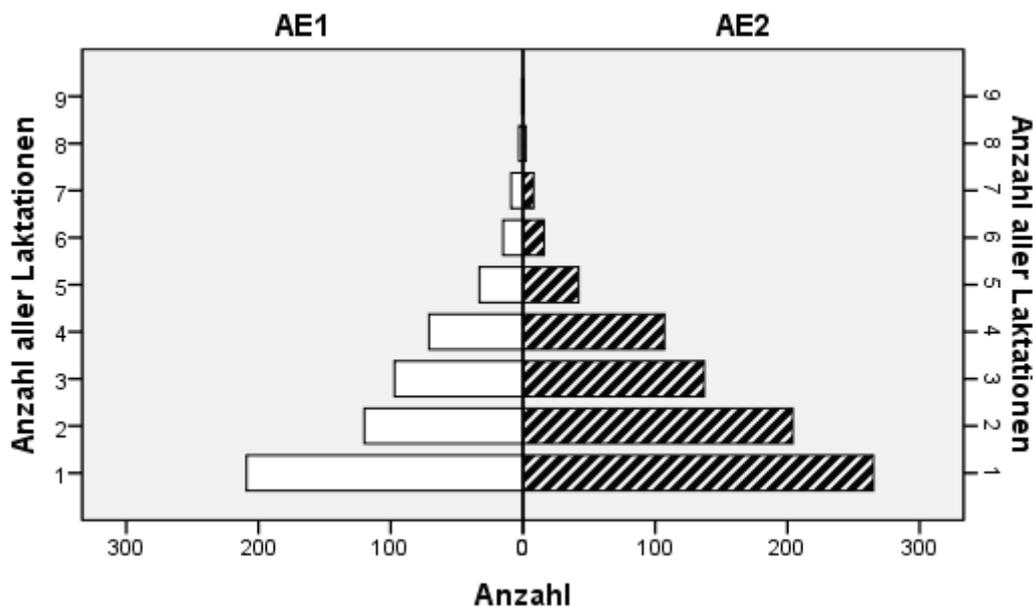
Zur Parasitenbekämpfung beim adulten Tier wird in AE1 und AE2 Eprinex® Pour-On (Merial SAS, Lyon, Frankreich) eingesetzt. Der Wirkstoff Eprinomectin aus der Substanzklasse der makrozyklischen Laktone wird in den AE ein- bis zweimal jährlich bei den adulten Kühen auf den Rücken aufgetragen. Als Fliegenbekämpfungsmittel wurde in der AE2 das Larvizid Madenstop® (H. Wilhelm Schaumann GmbH, Pinneberg, Deutschland) mit dem Wirkstoff Diflubenzuron auf der Brutstättenfläche, sowie der Schaumann-Fliegenköder® (H. Wilhelm Schaumann GmbH, Pinneberg, Deutschland) mit den Lockmitteln und Fraßstimulanzien Acetamiprid und Z-9-Tricosene eingesetzt.

## Laktationszahl und Alterstruktur im Betrieb

### Verteilung der Laktationszahl der Tiere

Für beide AE wurde die Verteilung der Anzahl der Kalbungen der lebenden Tiere am 31.07.2010 als Status quo dokumentiert und als Laktationspyramide dargestellt. Für den Beobachtungszeitraum wurden die Altersdaten von 1339 Tieren beider AE vollständig erfasst. Zu diesen gehörten: das Geburtsdatum und das Abgangsdatum beziehungsweise der Todeszeitpunkt der jeweiligen Tiere. Von Tieren, die den Betrieb bis zum Ende der Beobachtungsperiode nicht verlassen hatten, wurde das Alter am 31.07.2010 berechnet.

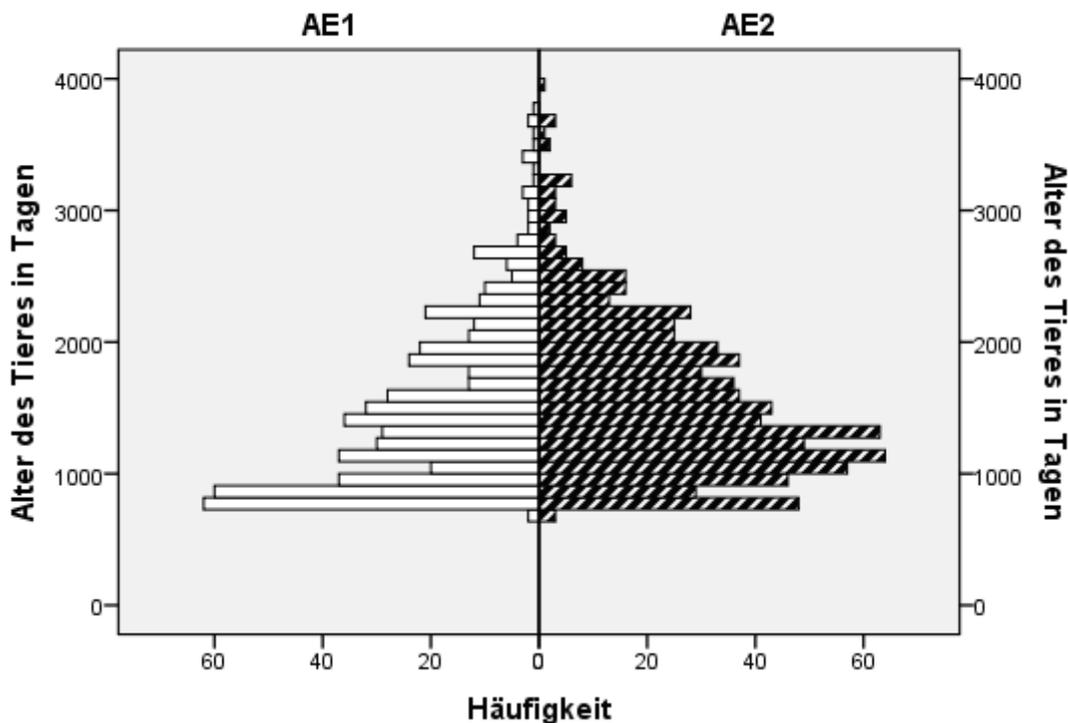
Von den 609 lebenden Tieren am 31.07.2010 befanden sich 40 % der Kühe beider AE in der ersten Laktation, 26 % in der zweiten und 34 % in der dritten und höheren Laktation. Mit durchschnittlich 2,6 Laktationen hatten die bis dato abgegangenen Tiere ( $n = 730$ ) den Betrieb verlassen. Die Anzahl aller Laktationen – der lebenden und abgegangenen Tiere – beider AE wurde in der Abbildung 10 dargestellt. Mit dem zweiseitigen Fisher-Exakt-Test wurde die Verteilung der Anzahl geborener Kälber in den jeweiligen Laktationen untersucht. Dabei wurden keine wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden AE gefunden.



**Abbildung 10.** Verteilung der Kühe der AE1 und AE2 in Abhängigkeit von der Anzahl Laktationen zum 31.07.2010

### Altersstruktur im Betrieb

Das durchschnittliche Alter aller lebenden Kühe in beiden AE (n = 609) am 31.07.2010 betrug 3,98 Jahre bzw. 47,8 Monate (AE1: 48 Monate, AE2: 47 Monate). 15,4 % der Kühe waren jünger als 2,5 Jahre bzw. jünger als 31 Monate. Das Alter beim Abgang der Tiere betrug in der AE1 durchschnittlich 49 Monate, in der AE2 55 Monate, das entsprach einem Alter von etwa vier bis 4,5 Jahren. Die Altersstruktur wurde in der Abbildung 11 als Alterspyramide dargestellt.



**Abbildung 11.** Alterspyramide des Kuhbestandes der AE1 und AE2 zum 31.07.2010. Dargestellt ist das Alter der Tiere in Tagen. Weiße Säulen: AE1, schwarz-weiß-gestreifte Säulen: AE2

Die Laktations- als auch Alterspyramide wiesen bei der Verteilung geringfügige Abweichungen auf. Es wurden keine auffälligen Unterschiede zwischen den beiden AE hinsichtlich des Alters und der Laktationszahl der Kühe festgestellt. Hinsichtlich des Alters der lebenden und gemerzten Kühe befand sich der beobachtete Milchviehbestand unter den in den Tierzuchtberichten des Landesamt für Verbraucherschutz, Landwirtschaft und Flurneuordnung (LVLf) 2008 - 2010 angegebenen Durchschnittswerten von 4,3 Jahren bzw. 5,0 Jahren. Die lebenden Tiere unterschieden sich bezüglich des Alters in beiden Betriebsteilen kaum voneinander (vier Jahre), die Tiere in der AE1 gingen über die letzten Jahre jedoch mit 49 Monaten früher als die Kühe in der AE2 mit 55 Monaten bzw. 4,6 Jahren ab. Gründe hierfür konnten nicht genannt werden.

## Abgänge

Die Remontierungsrate in den letzten drei Jahren betrug in der AE1 36 % und in der AE2 42 %. Die abgegangenen Tiere wurden durch Tiere aus der eigenen Nachzucht ersetzt. Die gemittelte Totgeburten- und Verendungsrate betrug in den Jahren 2006 bis 2010 10,4 % für die AE1 und 7,2 % für die AE2 (Tabelle 25).

**Tabelle 25. Anzahl Totgeburten, Verendungen und Merzungen in den Jahren 2006 bis 2010 in den Betriebseinheiten AE1 und AE2.**

	2006		2007		2008		2009		2010	
	AE1	AE2								
Totgeburten/ VE* Anzahl	21	25	31	27	25	24	30	35	19	23
Abgänge (Merzungen)	104	141	127	146	94	156	103	150	88	122

Anmerkungen. \*VE = Anzahl verendete Kühe (Tiere, die plötzlich versterben)

Die durchschnittlichen Abgangsraten der in der MLP erfassten Kühe in Brandenburg betragen laut den Angaben der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. 38,8 % (2008), 43,1 % (2009) und 41,7 % (2010). Die am häufigsten genannten Abgangsursachen im Lande Brandenburg waren dabei Euterkrankheiten (18,8 %), gefolgt von Fruchtbarkeitsstörungen (12,6 %). Lediglich bei einem Prozent der Kühe wurde das Alter als Ursache für den Abgang genannt. Mit 36 bzw. 42 % Gesamtabgangsrate lag der Betrieb demnach in bzw. leicht unter dem genannten Durchschnitt (Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. 2011). Durchschnittlich verließen die Tiere nach 2,6 Laktationen den Betrieb, was dem Durchschnitt auf Brandenburger Betrieben des LVLF im Jahr 2009 entsprach. Hierbei wurde die Anzahl Kälber pro Kuh abhängig vom Leistungsniveau mit 3,5 (<7000 l/Jahr) und 2,1 (> 10000 l/ Jahr) angegeben.

Die Totgeburtenraten von 10,4 % in der AE1 und 7,2 % in der AE2 lagen im Bereich der Angaben von Jahnke und Wolf (2001), sowie der Angaben des Tierzuchtreports des LVLF Brandenburg Jahr 2009 (zwischen 7,5 % und 9,1 %).

## Kälberaufzucht

Das Management der Kälber- und Färsenaufzucht war in den Betriebsteilen (AE1, AE2) grundsätzlich vergleichbar, da die Verfahrensabläufe über die Qualitätssicherung (QS)-Zertifizierung standardisiert waren. Unterschiede und Gemeinsamkeiten in Haltung, Fütterung

und zootechnischen Maßnahmen der Kälber in den beiden AE des Betriebes werden in den folgenden Abschnitten aufgezeigt.

### Haltungsbedingungen Kälber

Die Kälber wurden in beiden Betriebsteilen in Gruppen auf Stroh gehalten, bis sie ein Soll-Gewicht von etwa 130 kg (das entspricht etwa einem Alter von 90 Tagen) erreicht hatten. Für Tiere, die das Zielgewicht zum angegebenen Zeitpunkt nicht erreichten, wurde in beiden AE individuell entschieden, zu welchem Zeitpunkt ein Wechsel in die Jungtieraufzucht vollzogen werden sollte. Nach dem Absetzen im Alter zwischen drei und vier Monaten wurden die weiblichen Tiere beider Betriebsteile gemeinsam in der Jungrinderanlage aufgestellt. Die männlichen Tiere wurden nach dem Absetzen in die Bullenmastanlage verbracht, die ebenfalls Eigentum der Agrargenossenschaft war (Tabelle 26).

**Tabelle 26. Haltungsformen der Kälber, Jungrinder und Mastbullen in der AE1 und AE2**

Kälber	AE1	AE2
Anzahl Kälber	954	1260
Haltungsform bis 7 Tage	24 Einzelbuchten	36 Einzelbuchten
Haltungsform ab 8 Tage	Gruppenhaltung auf Stroh	
Haltungsform ab 21 Tage	Gruppenhaltung auf Stroh in sechs Sammelbuchten (80 Plätze) mit Laufhof ohne Überdachung	Gruppenhaltung auf Stroh in acht Sammelbuchten (200 Plätze) ohne Zugang nach draußen
Haltungsform nach dem Absetzen	In Jungrinderanlage	
Haltungsform Jungrinder	Stroh/ Vollspaltenboden	
Haltungsform Bullen	Bullenmastanlage mit Vollspaltenboden	

### Kälberfütterung

Unmittelbar nach der Geburt erfolgte die Tränkung der Kälber bis zu einem Alter von etwa sieben Tagen in Einzelboxen mittels Nuckeleimer. Anschließend wurde in den

Gruppenbuchten gefüttert (Tabelle 27). 2008 wurde in der AE1 die Kalttränke durch die Warmtränke ersetzt. Dafür wurden 5,5 Liter Vollmilch mit einem Liter heißem Wasser versetzt.

**Tabelle 27. Unterschiede und Gemeinsamkeiten in der Fütterung der Kälber vom ersten Lebenstag bis zum Absetzen in den beiden AE**

Fütterung der Kälber bis zum 7. Lebenstag	AE1	AE2
Am 1. Lebenstag	Einzelkolostrum 4 und 8 h nach der Geburt	Einzelkolostrum
Bis zum 5.-7. Lebenstag	Mischkolostrum von drei bis fünf Kühen	Einzelkolostrum
Bis 20. Lebenstag	Ad libitum Tränke mit Vollmilch	
Bis zum Absetzen	Tränkung mittels automatischen Kälbertränksystems „Kälbermama“ der Firma Urban GmbH & Co.KG (27798 Wüstring) mit Milchaustauscher	

### Zootechnische Maßnahmen Kälber

Die Kälber wurden in AE1 und 2 unmittelbar nach der Geburt von ihren Müttern getrennt. In den ersten Lebenstagen wurden auch die Ohrmarken eingezogen. Weiterhin wurden in der AE2, soweit nötig, pflanzliche verdauungsfördernde Produkte namens Colosan® der Firma Dr. Schaette (Bad Waldsee, Deutschland) und KALBI-LYT® (H. Wilhelm Schaumann GmbH, Pinneberg, Deutschland) eingesetzt. Colosan® (Dr. Schaette, Bad Waldsee, Deutschland) enthält Anis-, Fenchel-, Kümmel- und chinesisches Zimtöl sowie Schwefel und kann bei den Kälbern zur unterstützenden Behandlung bei futterbedingten Blähungen und Magen-Darm-Störungen *per os* angewendet werden. KALBI-LYT® (H. Wilhelm Schaumann GmbH, Pinneberg, Deutschland) enthält die Inhaltsstoffe Glucose, Natrium, Vitamin A, D3 und E. Zusätzlich wurde teilweise ein Probiotikum mit Milchsäurebakterienstämmen angewendet. Die Enthornung der Kälber fand in beiden AE zweimal wöchentlich zwischen der vierten und sechsten Lebenswoche statt. Das Absetzen der Tiere erfolgte in Woche 7.

### Impfsituation Kälber und Milchkühe

#### Datenerhebung zur Impfstrategie

Die vor und während des Beobachtungszeitraums auf der AE1 und der AE2 umgesetzte Impfstrategie wurde über Befragungen der Betriebsleiter und der Betriebstierärztin erhoben. Es erfolgte zusätzlich eine Durchsicht der Tierarztrechnungen ab dem 05.06.2001 bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes sowie der Bestandsbücher der Jungtieranlage. Daten zu den Impfungen gegen die Blauzungenkrankheit wurden dem staatlichen Übersichtsprogramm

Herkunftssicherungs- und Informationssystem für Tiere (HI-Tier) (Bayrisches Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten; www.hi-tier.de) entnommen, da in „Herde“ lediglich Herdenprüfdaten zur Bovinen Virusdiarrhoe und deren Ergebnisse (positiv, negativ, fraglich) eingetragen wurden, jedoch keine Impfdaten zu der Blauzungenerimpfung. Die Übertragung in HI-Tier erfolgt mittels Listen, die speziell auf die Ansprüche von HI-Tier ausgerichtet sind. Mithilfe des Zusatzes „Univers“ (dsp Agrosoft, Ketzin, Version 5.4) zum Programm „Herde“ können anhand von vorzugebenden Bedingungen alle Daten im Programm beliebig in Listen zusammengestellt werden.

### Impfmaßnahmen

Impfungen wurden sowohl in der AE1, als auch in der AE2 in den Jahren von 1995 bis 2010 ausnahmslos durch dieselbe Tierärztin bzw. deren Vertretung durchgeführt. Über die Impfungen, die vor dem Beobachtungszeitraum durchgeführt worden waren sowie über die verwendeten Impfstoffe informiert Tabelle 28.

**Tabelle 28. Impfungen in AE1 und AE2 in den Jahren 2002 bis 2015. Hierzu eine Übersicht über Art (Antigen), Produktnamen und Hersteller, Zeitraum der Anwendung und Alter der Tiere bei der Grundimmunisierung.**

Antigen	Impfstoff	Jahr	Alter zum Zeitpunkt der Grundimmunisierung
Bovines Herpesvirus Typ 1 (BHV-1)	Rispoval IBR Marker®, Fa. Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland	2001- 2005 <sup>1</sup>	Ab einer Woche
Blauzungenvirus Serotyp 8 (BTV-8)	Zulvac 8 Bovis®, Fa. Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland	2008-2009 <sup>2</sup> Erstimpfung 20.06.08 (AE1) 19.06.08 (AE2)	Ab 91. Lebenstag

## Anhang

Antigen	Impfstoff	Jahr	Alter zum Zeitpunkt der Grundimmunisierung
Bovine Virus Diarrhoe Virus (BVDV)	Mucobovin® Merial New York BVDV-1b Aveyronite BDV	2001- 2002	12 Wochen
	Bovidec®, Fa. Virbac Tierarzneimittel GmbH, Bad Oldesloe, Deutschland	2002- Nov. 2004	6 Monate
	PregSure® BVD, Fa. Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland	Dez.2004- 7. April 2010	Ab 2005 9 Monate
	Bovidec®, Fa. Virbac Tierarzneimittel GmbH, Bad Oldesloe, Deutschland	7. April 2010-2015	
Rota- und Coronavirus, <i>Escherichia coli</i>	Rotavec®, Fa. Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland	Ab 2006	Färsen 12-0 Wochen <i>ante partum (ap)</i> Kühe 8-0 Wochen <i>ap</i>
Trichophyton	Trichovac®, IDT GmbH Dessau- Tornau, Deutschland	2001-2006 Ab 2009	>2 Wochen

<sup>1</sup> Seit 2005 gilt der Bestand als IBR-frei. Seitdem findet einmal jährlich eine Untersuchung auf BHV-1 statt.

<sup>1</sup> Impfung erfolgte auf Grundlage der auch in Deutschland geltenden Impfpflicht (2008 bis zum 1.1.2010)

Die Nachimpfung gegen das Virus der Blauzungenkrankheit (BTV) erfolgte am 10. (AE 1) bzw. 11.07.2008 (AE 2). Die Nachimpfung erfolgte am 28.04. (AE 1) bzw. 05.05.2009 (AE 2). Es gab im Betrieb zu keinem Zeitpunkt einen BTV-positiven Nachweis.

Ende 2004 bis einschließlich des Jahres 2007 wurden die tragenden Kühe zum Zeitpunkt des Trockenstellens 49 Tage vor dem errechneten Abkalbetermin gegen BVDV in Kombination mit einer Mutterschutzimpfung gegen Rota- und Corona-Viren nachgeimpft. Auch die mit Bovidec® grundimmunisierten Tiere wurden in gleicher Weise einmal jährlich mit PregSure® BVD geboostert. 2008 fand die BVD-Wiederholungsimpfung zusammen mit der jährlichen Blutuntersuchung und der Impfung gegen die Blauzungenkrankheit in der jeweiligen AE statt. In den folgenden Jahren erfolgte lediglich die BVD-Grundimmunisierung der Jungrinder. Über das Jungtierfenster wurde über alle Jahre auf BVD-Antigene und –Antikörper untersucht. Die Stichprobengröße betrug zehn Jungrinder vor der ersten Impfung.

### **Allgemeine Bestandscharakteristik im Vergleich zu anderen Brandenburger Betrieben**

Hinsichtlich der Milchleistungsdaten als auch des Zellgehalts lag der Betrieb im Jahr 2010 etwas über dem Durchschnittswert des Landes Brandenburg (8934 kg/Jahr/Tier Milch, Fett 4,10 %, Eiweiß 3,39 %; mittlerer Zellgehalt 237.000 Zellen/cm<sup>3</sup>) (Tierzuchtreport Brandenburg 2010). Auch in den anderen Jahren war diese Tendenz zu beobachten.

Die Erstkalbealter befanden sich mit 25 und 26 Lebensmonaten im oberen Bereich des von vielen Autoren genannten Zielbereichs von 24 bis 26 Monaten und ebenfalls über dem durchschnittlichen Erstkalbealter in Brandenburg 2008-2010 von 26,6 bis 26,8 Monaten (Levi 1970, Platen 1997, Schleitzer 1999, Tierzuchtreport des Landesamtes für Verbraucherschutz, Landwirtschaft und Flurneuordnung Brandenburg (LVLF) 2008-2010, Wolf et al. 2000). Die gemittelte Zwischenkalbezeit von 402 Tagen wich nur geringfügig von dem Brandenburger Durchschnitt von 409 Tagen ab (Tierzuchtreport LVLF 2010). In der AE2 waren die Zwischenkalbezeiten durchschnittlich 17 Tage länger als in der AE1.

Hinsichtlich des Alters der lebenden und gemerzten Kühe befand sich der beobachtete Milchviehbestand unter den in den Tierzuchtreporten des LVLF 2008 - 2010 angegebenen Durchschnittswerten von 4,3 Jahren bzw. 5,0 Jahren. Die durchschnittlichen Abgangsraten der in der MLP Kühe in Brandenburg betragen laut den Angaben der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. 38,8 % (2008), 43,1 % (2009) und 41,7 % (2010). Die am häufigsten genannten Abgangsursachen im Lande Brandenburg waren dabei Euterkrankheiten (18,8 %), gefolgt von Fruchtbarkeitsstörungen (12,6 %). Lediglich bei 1 % der Kühe wurde das Alter als Ursache für den Abgang genannt. Mit 36 bzw. 42 % Gesamtabgangsrate lag der Betrieb demnach in bzw. leicht unter dem genannten Durchschnitt (Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. 2011). Durchschnittlich verließen die Tiere nach 2,6 Laktationen den Betrieb, was dem Durchschnitt auf Brandenburger Betrieben des LVLF im Jahr 2009 entsprach. Hierbei wurde die Anzahl Kälber pro Kuh abhängig vom Leistungsniveau mit 3,46 (<7000 l/Jahr) und 2,1 (> 10000l/ Jahr) angegeben.

Die Totgeburtenraten von 10,4 % in der AE1 und 7,2 % in der AE2 lagen im Bereich der Angaben von Jahnke und Wolf (2001), sowie der Angaben des Tierzuchtreports des LVLF Brandenburg Jahr 2009 (zwischen 7,5 % und 9,1 %) und wiesen keine Unterschiede zwischen den AE auf.

## 9.2 Vorkommen von BNP

Zu der Anzahl der Kälber in den jeweiligen Evidenzstufen informiert Tabelle 29.

**Tabelle 29. Vorkommen von BNP bei den Kälbern der AE1 und AE2 im Zeitraum zwischen dem 01.07.2007 und 31.07.2010. Dargestellt ist die Gesamtzahl an BNP erkrankter Kälber, sowie die Anzahl der im jeweiligen Jahr erkrankten Tiere. Die Diagnose wurde anhand vorher festgelegter Kriterien gestellt, denen verschiedene Evidenzstufen zugeordnet wurden.**

Evidenzstufe	Anzahl Kälber mit BNP gesamt	Anzahl Kälber mit BNP im Jahr 2007	Anzahl Kälber mit BNP im Jahr 2008	Anzahl Kälber mit BNP im Jahr 2009	Anzahl Kälber mit BNP im Jahr 2010
1	4	0	2	2	0
2	16	2	7	7	0
3	3	0	0	2	1
4	17	1	3	5	8
Gesamt	40	3	12	16	9

### Anzahl und Geschlecht der an BNP erkrankten Kälber

Auf Grundlage der Falldefinitionen für BNP wurden die Anzahl und das Geschlecht der Kälber mit BNP ermittelt. Von den 40 an BNP erkrankten Kälbern waren 27 (67,5 %) weiblichen Geschlechts, bei 13 Tieren handelte es sich um Bullenkälber (13/40, 32,5 %). Bezogen auf insgesamt 2214 dokumentierte Kälber aus beiden Abrechnungseinheiten, von denen 1081 weiblichen und 1133 männlichen Geschlechts waren, ist die Anzahl der BNP-Fälle unter den Färsenkälbern signifikant höher als unter den Bullenkälbern (Fisher-Test, OR 2,21; KI: 1,13 – 4,30;  $p = 0,024$ ) (Tabelle 30).

**Tabelle 30. Anzahl der BNP-Fälle unter Färsen- und Bullenkälbern**

	BNP	Keine BNP	Gesamt
Färsenkälber	27	1054	1081
Bullenkälber	13	1120	1133
Gesamt	40	2174	2214

In der Tabelle 31 sind die Details bezüglich Jahr, Ort, Geschlecht und Daten zur Geburt, Erkrankung und Verendung vermerkt.

Anhang

**Tabelle 31. Daten aller Kälber mit BNP (n = 40) pro Jahr und Abrechnungseinheit. Vermerkt sind Jahr, Ort, Geschlecht, Geburtsdatum, sowie das Erkrankungs- und Todesdatum**

Jahr	Kalb Nr.	AE1/AE2	Geschlecht	Geburtsdatum	Erkrankungsdatum	Verendet am
2007	1	AE2	Männlich	07.07.2007		31.07.2007
	2	AE2	weiblich	26.07.2007		08.08.2007
	3	AE2	weiblich	08.08.2007		26.08.2007
2008	4	AE2	Weiblich	03.07.2008		15.07.2008
	5	AE1	weiblich	16.07.2008	26.07.2008	überlebt
	6	AE1	männlich	18.07.2008		31.07.2008
	7	AE2	weiblich	19.07.2008		04.08.2008
	8	AE1	männlich	08.08.2008		26.08.2008
	9	AE1	weiblich	29.08.2008		12.09.2008
	10	AE1	weiblich	02.09.2008		10.09.2008
	11	AE1	weiblich	02.09.2008		11.09.2008
	12	AE1	männlich	03.09.2008	15.09.2008	17.09.2008
	13	AE1	männlich	14.09.2008		28.09.2008
	14	AE1	weiblich	14.09.2008	17.10.2008	überlebt
	15	AE1	weiblich	05.10.2008	14.10.2008	20.10.2008
2009	16	AE2	Weiblich	01.06.2009	14.06.2009	überlebt
	17	AE2	weiblich	03.06.2009		08.07.2009
	18	AE2	weiblich	17.06.2009		30.06.2009
	19	AE1	weiblich	25.06.2009	08.07.2009	10.07.2009
	20	AE1	männlich	28.06.2009		12.07.2009
	21	AE1	weiblich	23.07.2009	31.07.2009	07.08.2009
	22	AE2	weiblich	28.07.2009		24.08.2009
	23	AE2	männlich	08.08.2009		17.08.2009
	24	AE2	weiblich	12.08.2009	31.08.2009	überlebt
	25	AE1	weiblich	21.08.2009	04.09.2009	04.09.2009
	26	AE1	männlich	31.08.2009	18.09.2009	überlebt
	27	AE1	weiblich	02.09.2009	14.09.2009	15.09.2009
	28	AE1	männlich	02.09.2009	15.09.2009	überlebt
	29	AE1	weiblich	03.09.2009	16.09.2009	19.09.2009
30	AE1	männlich	04.09.2009		13.09.2009	
31	AE1	weiblich	14.09.2009	24.09.2009	28.09.2009	
2010	32	AE2	Weiblich	05.05.2010		19.05.2010
	33	AE2	männlich	05.05.2010	23.05.2010	28.05.2010
	34	AE1	weiblich	11.05.2010	23.05.2010	24.05.2010
	35	AE1	weiblich	11.05.2010	25.05.2010	überlebt
	36	AE1	weiblich	07.06.2010	21.06.2010	22.06.2010
	37	AE1	weiblich	07.06.2010	21.06.2010	22.06.2010
	38	AE1	weiblich	08.07.2010	20.07.2010	22.07.2010
	39	AE1	männlich	08.07.2010	21.07.2010	26.07.2010
	40	AE2	männlich	17.07.2010	31.07.2010	04.08.2010

### Untersuchungen zu Kälberverlusten

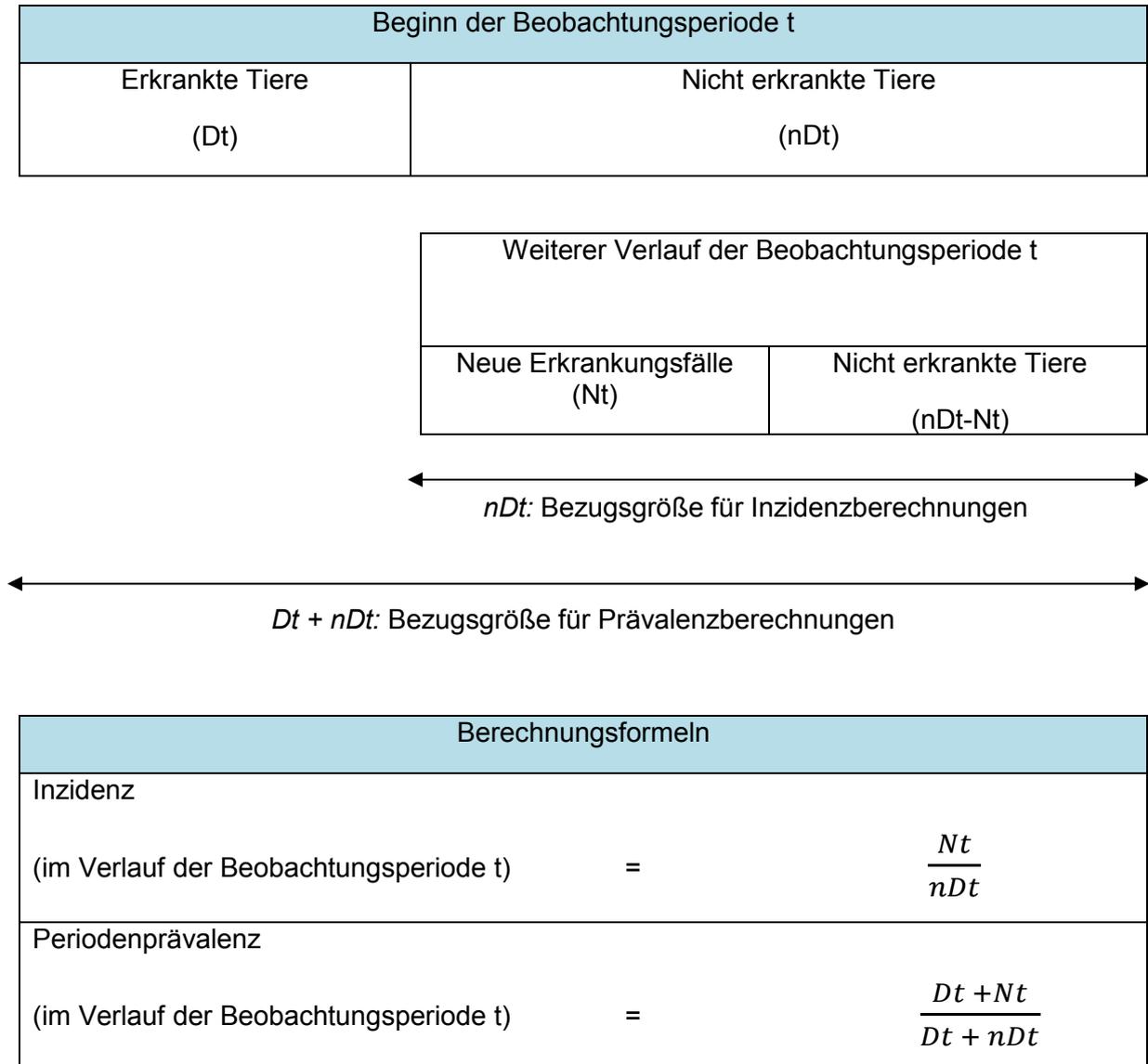
Die Kälberverendungen wurden sowohl über alle Lebensjahre der Muttertiere bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes als auch innerhalb des Beobachtungszeitraumes (01.07.2007 bis 31.07.2010) betrachtet. Eine Verendung wurde dabei als das unmittelbare Sterben der Kälber im Alter von 48 Stunden bis 28 Tagen definiert. Kälberverluste von Müttern von Kälbern mit BNP wurden ermittelt und dokumentiert (Tabelle 32). Es wurde weiterhin untersucht, ob sich im Zeitraum von ein bis drei Tagen vor und nach dem Auftreten von BNP-Todesfällen Kälberverluste häuften. Dazu wurde jedes Abgangsdatum erfasst und mit den Todesdaten der an BNP erkrankten Kälber verglichen. Der Anteil von verendeten Kälbern zu geborenen Kälbern lag in den Jahren zwischen 4,7 % und 6 %. Mütter von überlebenden Kälbern mit BNP (n = 7) brachten mit einer Ausnahme über die Jahre keine verendeten Kälber hervor. Bei den 31 Müttern mit verstorbenen Kälbern mit BNP wiesen 28 der Tiere keine weiteren BNP-Fälle auf. Drei der Mütter hatten in dem Beobachtungszeitraum neben ihren an BNP verendeten Kälbern noch ein weiteres, welches, ohne Symptome von BNP aufzuweisen, im Alter von höchstens vier Wochen verendet war. Ein Muttertier hatte neben ihrem Kalb mit BNP zwei weitere, die durch unbekannte Ursachen verendeten. Drei dieser Kälber verendeten im Alter von 14, 21 und 27 Tagen.

**Tabelle 32: Anzahl Kälbergeburten und Verendungen bei Tieren mit und ohne BNP im Alter von  $\leq 29$  Tagen. Dazu die Anzahl aller verendeten Kälber zu den geborenen Kälbern in den jeweiligen Jahren.**

Jahr	Verendete Kälber $\leq 29$ Tagen	An BNP verendete Kälber	Geburten gesamt	Anteil verendeter Kälber an Geburten [%]
2007 (ab 1.7.)	20	3	424	4,71
2008	39	10	648	6,02
2009	38	12	723	5,26
2010 (bis 31.7.)	17	8	419	4,06
Gesamt	114	33	2214	

### 9.3 Berechnung zur Prävalenz und Inzidenz zum Auftreten von BNP

Die Periodenprävalenz und die Inzidenz über den Beobachtungszeitraum wurden berechnet (siehe Abbildung 12).



**Abbildung 12.** Die in die Berechnung der Inzidenz und Periodenprävalenz eingehenden Größen nach Abbildung von Kohlmann (2014)

### 9.4 Klinik und Labordiagnostik

#### Klinischer Verlauf

Für die Beschreibung des klinischen Verlaufes der an BNP erkrankten Tiere wurden das Alter bei Erkrankungsbeginn (soweit Daten vorhanden), die Dauer der Erkrankung sowie das Alter beim Tod der Tiere erfasst. Da sich Symptomatik und Verlauf der BNP bei den Kälbern an den verschiedenen Standorten nicht voneinander unterschieden, schließt die nachfolgende

Beschreibung Kälber beider AE ein. Von 40 Kälbern, bei denen während der Beobachtungsperiode aufgrund der vorher festgelegten Kriterien die Diagnose BNP gestellt wurde, überlebten sieben Tiere (17,5 %, 7/40) die Erkrankung (AE1: fünf Kälber, AE2: zwei Kälber). Die übrigen Tiere (33 Kälber, 82,5 %) verendeten spontan (22 Kälber) oder wurden von der betreuenden Tierärztin vor Ort oder dem/der Diensthabenden an der Klinik für Kleintiere, Freie Universität Berlin aufgrund einer aussichtslosen Prognose euthanasiert (elf Tiere). Zum Zeitpunkt des Todes waren die Tiere im Durchschnitt 16 Tage alt (Spannweite: acht bis 35 Tage).

Das Alter bei Feststellung erster Symptome der BNP konnte bei 22 Tieren ermittelt werden und betrug acht bis 33 Tage, im Durchschnitt 14 Tage. Die Dauer zwischen erstem Auftreten von Krankheitserscheinungen und dem Eintreten des Todes betrug bei spontan verendeten Kälbern durchschnittlich vier Tage, bei euthanasierten Kälbern durchschnittlich zwei Tage (Spannweite null bis sieben Tage).

Sieben Kälber, die der Falldefinition entsprachen, überlebten die Erkrankung. Das Alter beim Auftreten erster klinischer Symptome betrug in dieser Gruppe durchschnittlich 18 Tage. Zu keinem Kalb fanden sich in der Dokumentation des Tierhalters Angaben über Auffälligkeiten im postnatalen Zeitraum, nach deren Geburt oder in den ersten Lebenstagen. Allen Kälbern wurde entsprechend der Handlungsanweisung des Betriebes Kolostrum verabreicht.

Erste Anzeichen der Erkrankung äußerten sich in Trinkschwäche, Apathie bis Somnolenz sowie Kurzatmigkeit. Auf diese wenig spezifischen Symptome folgten Hautblutungen oder Blutaustritt aus den Körperöffnungen.

Aus den Geburtsdaten der Kälber mit BNP geht hervor, dass die Erkrankungsfälle in einem zeitlichen Zusammenhang zueinander standen, das heißt, dass in bestimmten Wochen mehrere Kälber geboren wurden, die später an BNP litten, während zu anderen Zeiten keine Kälber mit BNP geboren wurden.

### **Labordiagnostik**

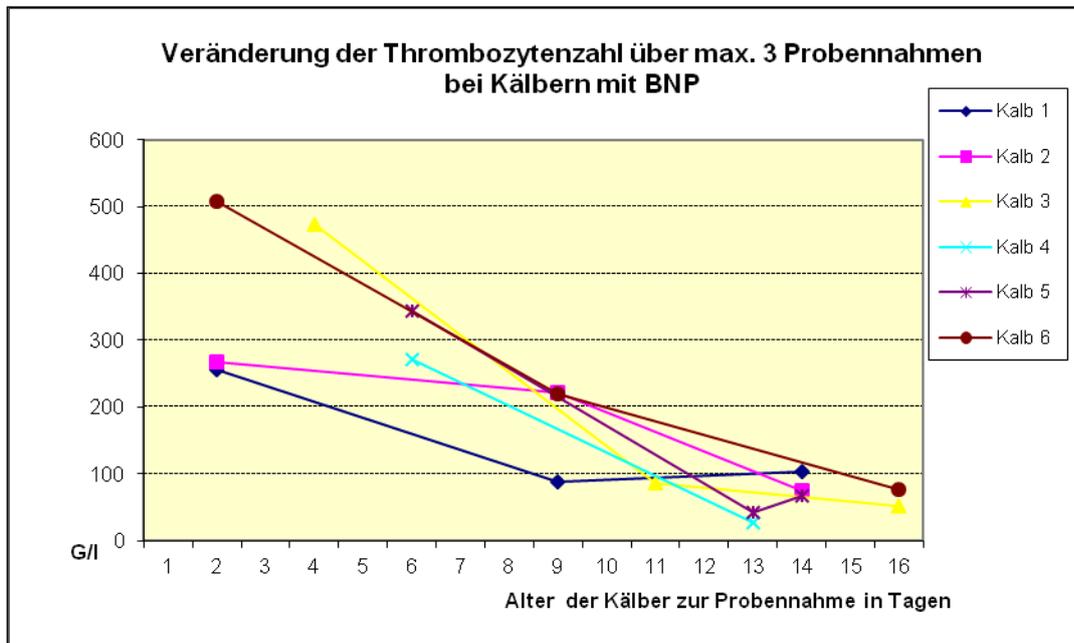
Außerhalb der vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen der Früherkennung und Diagnostik von BNP-Fällen in dem oben genannten Milchviehbetrieb und in der Klinik für Kleintiere, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin, Blutproben aus der Vena jugularis entnommen. Als Blutentnahmeröhrchen wurden EDTA (Ethylendiamintetraacetat)-Röhrchen (Vacutainer®, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland) verwendet. Die hämatologische Analyse fand mithilfe eines elektronischen Zellzählgerätes (Nihon Kohden, Rosbach, Deutschland) eine Stunde nach der Blutentnahme statt. Die Ergebnisse des Blutbildes (Anzahl Thrombozyten, Leukozyten, Erythrozyten und Hämatokrit) wurden als Kriterium bei der

Zuordnung der Evidenzstufen herangezogen. Bei sechs BNP-Fällen wurden innerhalb der ersten 16 Lebenstage wiederholte Blutprobenuntersuchungen durchgeführt. Teile dieser Daten wurden bereits in Witt et al. (2011) veröffentlicht.

Kälber, von denen Untersuchungsergebnisse von Blutproben vorlagen wiesen eine Thrombozytopenie (Anzahl Thrombozyten  $< 200 \times \text{G/l}$ ), eine Leukopenie (Anzahl Leukozyten  $< 5 \times \text{G/l}$ ) und/oder eine Anämie (Hämatokrit  $< 0,25 \text{ l/l}$  bzw. Anzahl Erythrozyten  $< 6 \text{ T/l}$ ) auf. Zwecks Früherkennung und Diagnostik der BNP wurden in den Jahren 2009 und 2010 Kälbern Blutproben entnommen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen (Blutbild) wurden als Kriterium bei der Zuordnung der Evidenzstufen herangezogen (siehe Material und Methoden 3.3.3). Bei Vorliegen einer Thrombozytopenie (Anzahl Thrombozyten  $< 200 \text{ G/l}$ ), einer Leukopenie (Anzahl Leukozyten  $< 5 \text{ G/l}$ ), oder einer Anämie (Hämatokrit  $< 0,25 \text{ l/l}$  bzw. Anzahl Erythrozyten  $< 6 \text{ T/l}$ ) und wurden gleichzeitig äußerlich sichtbare Blutungen dokumentiert, erfolgte eine Zuordnung zur Evidenzstufe 3 (siehe Anhang 9.2).

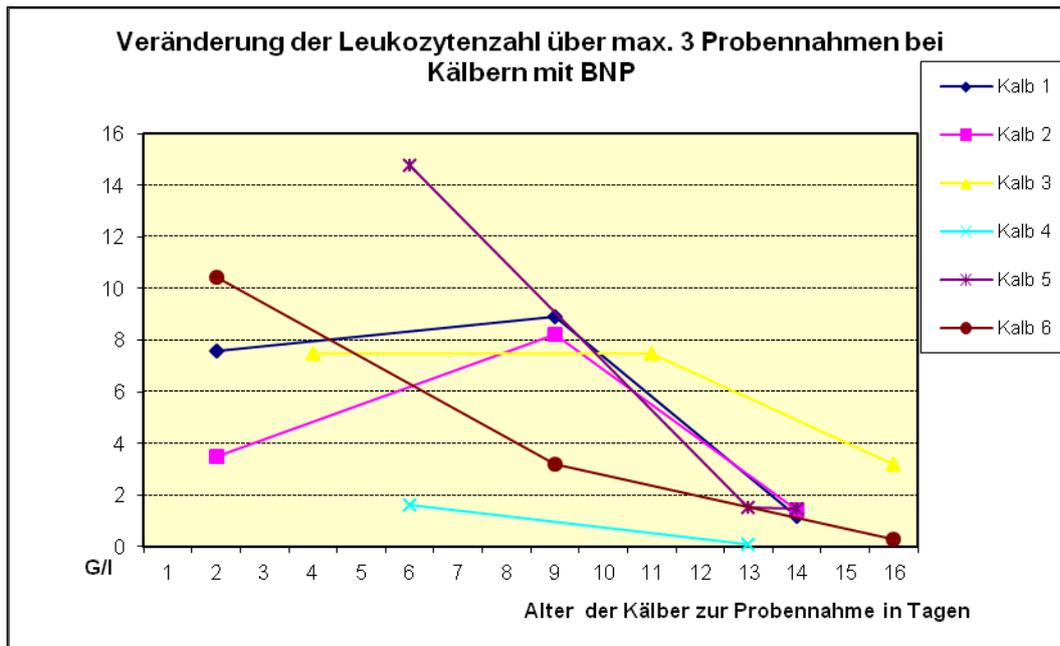
Von sechs Tieren lagen Ergebnisse von wiederholten Blutprobenuntersuchungen vor, jedoch kein Sektionsbefund. Deshalb wurden in diesen Fällen die Ergebnisse der Blutuntersuchungen für die Zuordnung zu einer Evidenzstufe verwendet. Es handelt sich bei den Liniendiagrammen um eine Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Anzahl der Thrombozyten, Leukozyten und des Hämatokrits innerhalb der ersten 16 Lebenstage der sechs erkrankten Kälber (siehe Abbildungen 13, 14, 15). Dazu fanden bei jedem Kalb maximal drei Probenentnahmen statt.

Der Grafik mit dem Verlauf der Anzahl der Thrombozyten ist zu entnehmen, dass die Linien der Kälber 6 und 3 besonders stark abfielen, von Höchstwerten von 508 G/l an Tag 2 bis auf 55 G/l an Tag 16 (Kalb 6) und 474 G/l an Tag 4 auf 51 G/l an Tag 16 (Kalb 3). Der niedrigste Wert ließ sich bei Kalb 4 verzeichnen mit 27 G/l an Tag 13. Auch bei den Kälbern 2 und 5 fiel die Anzahl der Thrombozyten mit zunehmendem Alter der Kälber stetig ab. Nur bei Kalb 1 war nach der ersten deutlichen Abnahme von 257 G/l an Tag 2 auf 88 G/l (Tag 9) ein leichter Anstieg der Werte auf 104 G/l an Tag 14 zu verzeichnen (Abbildung 13).



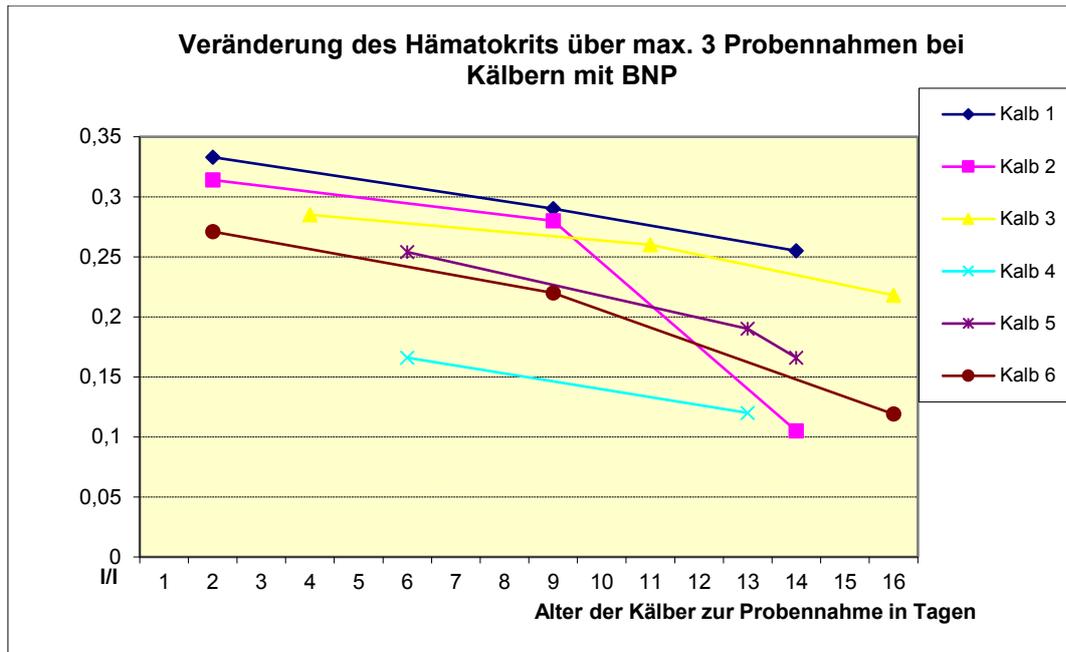
**Abbildung 13. Anzahl Thrombozyten (G/l) in Blutproben von sechs Kälbern mit BNP bei wiederholter Blutuntersuchung (Teile dieser Daten wurden bereits in Witt et al. (2011) veröffentlicht)**

In der Abbildung 14 findet sich die Anzahl der Leukozyten der beprobten Kälber über die Zeitspanne von 16 Lebenstagen. Aus der Darstellung ergibt sich, dass die Werte der Kälber 4, 5 und 6 ausschließlich abfielen, während bei den Kälbern 1,2 und 3 bei der zweiten Beprobung eine Stagnation (Kalb 3) bzw. ein leichter Anstieg zu vermerken war. Bei der dritten Probennahme gab es bei allen sechs Kälbern einen deutlichen Abfall der Anzahl der Leukozyten im Vergleich zu den Werten bei der ersten und zweiten Probennahme. Den stärksten Abfall der Leukozytenzahl wies das Kalb 5 mit 14,8 G/l am sechsten Lebenstag und folgend 1,45 G/l am 14. Lebenstag auf. Kalb 4 zeigte bereits bei der ersten Beprobung (Tag 6) einen Leukozytenwert von 1,6 G/l, der folgend am 13. Lebenstag auf 0,1 G/l abgefallen war.



**Abbildung 14.** Anzahl Leukozyten (G/l) in Blutproben von sechs Kälbern mit BNP bei wiederholter Blutuntersuchung (Teile dieser Daten wurden bereits in Witt et al. (2011) veröffentlicht)

Das Liniendiagramm in der Abbildung 15 veranschaulicht die Hämatokritwerte der Blutproben der sechs Kälber. Die Abbildung zeigte einen stetigen Abfall der Werte über die zwei bzw. drei Probennahmen bei allen Kälbern. Die Hämatokritwerte bei den ersten Probennahmen lagen bei den Kälbern 1,2,3,5 und 6 zwischen 0,33 und 0,25 l/l, nur das Kalb 4 zeigte einen erniedrigten Hämatokritwert von 0,16 l/l. Der stärkste Abfall der Werte war bei Kalb 2 (0,31 l/l am zweiten Lebenstag auf 0,11 l/l an Tag 14) zu verzeichnen.



**Abbildung 15.** Hämatokritwerte (H/H) der Blutproben von sechs Kälbern mit BNP bei wiederholter Blutuntersuchung (Teile dieser Daten wurden bereits in Witt et al. (2011) veröffentlicht)

### Sektionsbefunde

Zwischen dem 01.07.2007 und dem 31.07.2010 wurden 13 BNP-verdächtige Kälber in dem Institut für Tierpathologie der Freien Universität Berlin <sup>(a)</sup> (acht Tiere) oder dem Landeslabor Brandenburg, Dienstsitz Frankfurt/ Oder <sup>(b)</sup> (fünf Tiere) pathologisch-anatomisch untersucht.

Die Befunde der Sektionen sind in Tabelle 33 und nachfolgend in Tabelle 34 einzeln pro Kalb aufgeführt.

**Tabelle 33.** Sektionsbefunde von Kälbern mit der Verdachtsdiagnose BNP in den Jahren 2007 bis 2010.

Jahr	Anzahl Kälber in Sektion	Aplastische Anämie	Petechien/ Ekchymosen	Depletion des Knochenmarks	Sekundäre bakterielle Infektionen
2007	2	1	3	2	3
2008	4	0	3	3	4
2009	4	1	4	4	3
2010	3	1	3	3	3

Bei drei Tieren wurden aus wissenschaftlichen Interesse Untersuchungen auf das Porcine Circovirus Typ 2 (PCV-2) in Sternalmark und Milz mittels realtime-PCR durch die Gesellschaft für Innovative Veterinärmedizin mbH (30453 Hannover) durchgeführt. In drei Fällen fand

zudem eine Untersuchung von Hautproben des Ohres auf BVDV im Landeslabor Berlin-Brandenburg statt, um eine primäre Virusinfektion auszuschließen. Untersuchungen zum Nachweis einer Virusinfektion verliefen sämtlich mit negativem Ergebnis.

**Tabelle 34. Detaillierte Auflistung der Sektionsbefunde der 13 Kälber, die in dem Institut für Tierpathologie der Freien Universität Berlin (a) oder dem Landeslabor Brandenburg, Dienstsitz Frankfurt/ Oder (b) pathologisch-anatomisch untersucht wurden. Jahr und Evidenzstufe sind mit aufgeführt.**

Kalb	Jahr	Evidenz- stufe	Institut	Befunde
1	2007	4	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ hochgradige, aplastische Anämie</li> <li>➤ multifokale Petechien an Haut, Schleimhaut, Serosen, inneren Organen</li> <li>➤ hochgradige Depletion des Knochenmarks</li> </ul>
2 <sup>1</sup>	2007	2	B	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Schleimhaut- und Serosenblutungen an den inneren Organen</li> <li>➤ katarrhalisch-schleimige Rhinitis, Tracheitis</li> </ul>
3	2008	4	B	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ hämorrhagische Diathese mit petechialen, ekchymalen und flächenhaften Hämorrhagien in Haut, Unterhaut und allen subserösen Oberflächen</li> <li>➤ hochgradig Melaena besonders im Kolon</li> <li>➤ im Knochenmark Nachweis einer Panmyeloptose</li> </ul>
4	2008	4	B	Siehe Kalb 3
5	2008	4	B	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Kachexie mit vollständiger seröser Atrophie des Fettdepots</li> <li>➤ Multifokal Hämorrhagien in der Serosa des Magendarmtraktes</li> <li>➤ Panmyeloptose in Folge Knochenmarksnekrose</li> </ul>
6 <sup>2</sup>	2008	1	B	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Kachexie mit vollständiger seröser Atrophie des Fettdepots</li> <li>➤ Knochenmark ohne besonderen Befund</li> </ul>
7	2009	4	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Mittelgradige Anämie</li> <li>➤ multifokale, petechiale Blutungen in Haut, Schleimhaut, inneren Organen</li> </ul>

## Anhang

				➤ hochgradige Depletion des Knochenmarks
8	2009	4	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ hochgradige, multifokale, akute Hämorrhagien in Haut, Haarkleid, Gelenken, inneren Organen</li> <li>➤ vollständige Depletion aller Vorläuferzellen im Knochenmark</li> </ul>
9	2009	4	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ multifokale, akute Blutungen in einer Vielzahl von Organen</li> <li>➤ vollständige Depletion des Knochenmarks</li> </ul>
10	2009	4	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ hochgradige, multifokale, akute, subkutane großflächige Hämorrhagien in Muskulatur und Subkutis</li> <li>➤ multifokale, akute, petechiale Hämorrhagien in Organen</li> <li>➤ hochgradige, diffuse Depletion aller Vorläuferzellen im Knochenmark</li> </ul>
11	2010	4	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ multifokale, subkutane, petechiale bis ekchymatöse Blutungen am Tierkörper</li> <li>➤ hochgradige Anämie</li> <li>➤ mittelgradige, multifokale, akute, petechiale Blutungen an den inneren Organen</li> <li>➤ mittelgradige Depletion des Knochenmarks, nur vereinzelte Zellinseln mit Erythropoese, Granulopoese und Lymphopoese bei fehlender Thrombozytopoese</li> </ul>
12	2010	4	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ gering- bis mittelgradige, multifokale, akute, petechiale Blutungen in Haut und verschiedensten Organen</li> <li>➤ Depletion der hämatopoetischen Zellen des Knochenmarks</li> </ul>
13	2010	4	A	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Mittelgradige, petechiale Blutungen bis Ekchymatosen im Gekröse, Ösophagus, Peritoneum, Darm</li> <li>➤ Nahezu vollständige Depletion hämatopoetischer Vorläuferzellen im Knochenmark</li> </ul>

<sup>1</sup> Kalb 2 zeigte neben Schleimhaut- und Serosenblutungen eine bakterielle Pneumonie und eine Durchfallerkrankung mit Befall von Kryptosporidien auf. So wurde Kalb 2 aufgrund eines fehlenden Knochenmarksbefundes nur als vermuteter, aber nicht gesicherter BNP-Fall mit der Evidenzstufe 2 eingestuft.

<sup>2</sup> Kalb 6 hatte im Alter von 13 Tagen Anzeichen der BNP gezeigt. Die Symptome verschwanden selbstständig. Im Alter von drei Monaten zeigte das Kalb einen auffälligen Wachstumsrückstand und verstarb in Folge einer schweren Pneumonie. Kalb 6 wurde als Kalb mit BNP vom Tierhalter beobachtet, und demzufolge der Evidenzstufe 1 zugeordnet.

### **Nebenbefunde der seziierten Kälber**

Kalb 1 zeigte eine geringgradige multifokale interstitielle lymphhistiozytäre Pneumonie.

Kalb 2 wies eine katarrhalisch-schleimige Rhinitis, Tracheitis als auch eine katarrhalisch-fibrinöse Bronchopneumonie der vorderen Abschnitte beider Lungenflügel auf. Zudem fiel ein wässrig-sahniger, graugrüner Darminhalt bei der Sektion auf.

Bei dem Kalb 3 wurde bakteriologisch in den Organen eine Mischflora unter Beteiligung von *Streptococcus bovis* nachgewiesen.

Kalb 4 wies bakteriologisch in den Organen einen geringen unspezifischen Keimgehalt auf.

Kalb 5 war kachektisch mit einer vollständigen serösen Atrophie des Fettdepots. Es wies eine hochgradige akute fibrinohämorrhagische Enteritis auf.

Kalb 6 fiel ebenfalls durch eine Kachexie mit vollständiger seröser Atrophie des Fettdepots auf. Das Knochenmark war ohne besonderen Befund. Es konnten in der Sektion eine hochgradige katarrhalisch-eitrige bis abzedierende Pneumonie, eine diffuse fibröse Perikarditis und histologisch eine chronische lymphoplasmazelluläre eosinophile Enteritis nachgewiesen werden.

Kalb 7 wies eine chronisch-eitrige Omphalophlebitis auf.

Bei dem Kalb 8 fiel bei der Sektion eine mittelgradige fokale subakute fibrinöse Pleuropneumonie auf.

Kalb 9 zeigte keine bakterielle Infektion.

Kalb 10 wies eine akute, fibrinöse Ileitis sowie eine subakute katarrhalische Abomasitis auf.

Kalb 11 wies eine akute fibrinöse Pleuropneumonie auf.

Bei dem Kalb 12 fiel fibrinöse bis fibrinös-nekrotisierende Ileitis und Colitis, sowie eine fibrinöse Perikarditis bei der Sektion auf.

Kalb 13 zeigte eine hochgradige multifokale chronische fibrinöse Pleuropneumonie als auch eine geringgradige multifokale akute Enteritis.

Die bakteriologische Untersuchung von anlässlich der Sektion entnommenem Material ergab in einem Fall eine Mischflora unter Beteiligung von *Streptococcus bovis*. Im Darminhalt von drei Kälbern wurde eine Mischflora unter Beteiligung von *Clostridium perfringens* nachgewiesen. Bakteriologisch fand sich in der Lunge eines Kalbes eine Mischflora unter Beteiligung von *Pasteurella multocida*, *Mannheimia hämolytica* und *Arcanobakterium pyogenes*.

### 9.5 Muttertiere von Kälbern mit BNP

Daten von Müttern von der Falldefinition entsprechenden Kälbern mit BNP, die zwischen dem 01.07.2007 und dem 31.07.2010 gekalbt hatten, wurden gesondert betrachtet. In der AE1 gebaren 23 Muttertiere, in der AE2 14 Tiere Kälber, die später an BNP erkrankten.

Die Analyse der Daten von Muttertieren von Kälbern mit BNP zeigte, dass drei Muttertiere zweimal Kälber geboren hatten, die später an BNP (entsprechend Falldefinition) erkrankten. Demnach hatten insgesamt 3/37 (8,1 %) der betrachteten Muttertiere mehrere Kälber mit BNP (Tabelle 35). Eines der drei Muttertiere hatte bereits 2007 ein Kalb, das mit 14 Tagen verendete, dieses wurde jedoch nicht als Kalb mit BNP erfasst. 2009 erkrankte ihr bis dato viertes Kalb im Alter von acht Tagen an BNP und verstarb mit 15 Tagen, ihr 2010 geborenes fünftes Kalb erkrankte mit zwölf Tagen an BNP und verendete mit 14 Tagen. In den Jahren 2008 und 2009 wiesen die beiden anderen Mütter ihre jeweils ersten Kälber mit BNP auf. In der darauffolgenden Laktation dieser Muttertiere folgte je wieder ein an BNP erkranktes Kalb.

**Tabelle 35. Übersicht über die Anzahl Muttertiere mit einem bzw. zwei als BNP-Fall erfassten Kälbern**

	Häufigkeit	Prozent
1 Kalb mit BNP	34	91,9
2 Kälber mit BNP	3	8,1
Gesamt	37	100

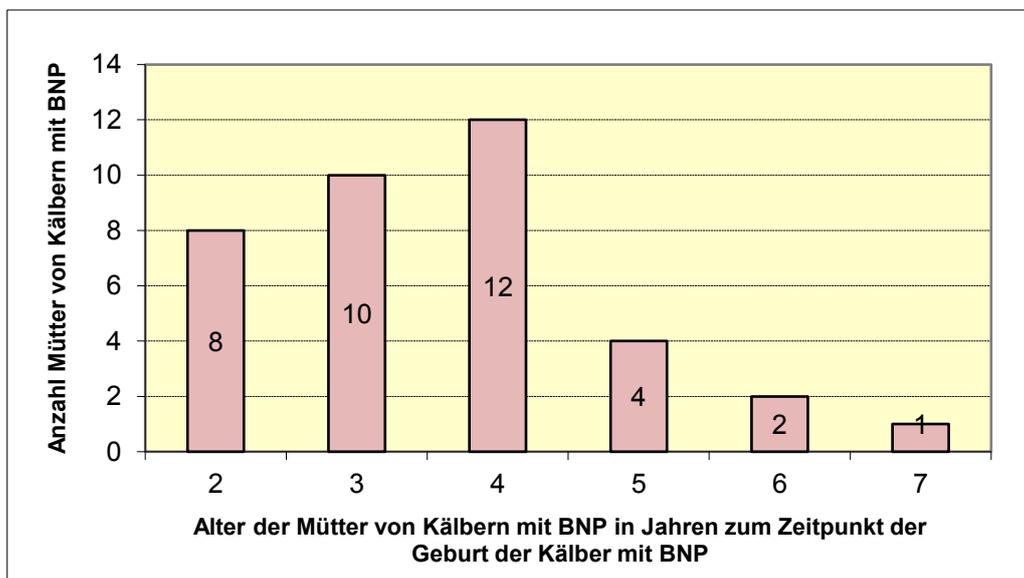
### Laktationszahl und Altersstruktur

Für den Beobachtungszeitraum wurden die Altersdaten der Mütter von Kälbern mit BNP erfasst. Zu diesen gehören: das Geburtsdatum und das Abgangsdatum, beziehungsweise der Todeszeitpunkt der jeweiligen Tiere. Von Tieren, die den Betrieb bis zum Ende der Beobachtungsperiode nicht verlassen hatten, wurde das Alter am 31.07.2010 berechnet.

Von insgesamt 37 Müttern, die ein Kalb mit BNP geboren hatten, handelte es sich bei acht Kühen (21,6 %) um Erstkalbinnen. Vierzehn Kühe (37,8 %) hatten bereits zweimal gekalbt,

und 15 Kühe (40,5 %) befanden sich in der dritten oder einer höheren Laktation. Eine Färse als auch zwei Höherlaktierende hatten in den folgenden Jahren je ein weiteres Kalb mit BNP. Die Mütter der an BNP erkrankten Kälber waren zum Zeitpunkt der Geburt ihres ersten Kalbes mit BNP durchschnittlich 42,9 Monate alt (entspricht ~ 3,6 Jahren) (Abbildung 16).

Sechszehn der 37 Muttertiere von Kälbern mit BNP waren zum Zeitpunkt der Datenerhebung am 31.07.2010 nicht mehr auf dem Betrieb. Zehn dieser Kühe wurden innerhalb von sechs Monaten nach Geburt eines Kalbes mit BNP geschlachtet. Am 31.07.2010 lebten demnach noch 21 Mütter von Kälbern mit BNP. Gründe für die Schlachtung waren in zwei Fällen Erkrankungen im Zusammenhang mit dem Stoffwechsel, in zwei Fällen Euterkrankheiten, in drei Fällen Klauen- bzw. Gliedmaßenkrankungen, in einem Fall Probleme mit der Fruchtbarkeit und in einem weiteren Fall eine zu geringe Milchleistung. Bei den restlichen sieben Tieren wurde als Abgangsgrund „sonstiges“ genannt. Das durchschnittliche Abgangsalter der 16 Mütter von Kälbern mit BNP betrug in den Jahren 2007 bis 2010 55,9 Monate, also zwischen vier und fünf Jahre. Dies lag geringfügig über dem allgemeinen Altersdurchschnitt beim Abgang der Muttertiere ohne Kälber mit BNP in dieser Zeit von 52 Monaten. Eine Ausnahme bildete ein Muttertier mit einem an BNP erkrankten Kalb in der AE1, welches zum Zeitpunkt des Abgangs 7,6 Jahre alt war (91,6 Monate).



**Abbildung 16.** Alter der Mütter von Kälbern mit BNP zum Zeitpunkt der Geburt des ersten Kalbes mit BNP (Angabe in Jahren)

Tabelle 36 zeigt die Anzahl der Kalbungen der Muttertiere über den Studienzeitraum. Hinzu kommt die Anzahl an Kälbern mit und ohne BNP.

**Tabelle 36. Zuordnung der Anzahl geborener Kälber mit und ohne BNP in den Jahren 2007 (01.07.-31.12.2007), 2008, 2009 und 2010 (01.01.2010-31.07.2010) zur jeweiligen Laktationsnummer ihrer Mütter.**

Anzahl Kalbungen der Muttertiere	Kalbungen 2007		Kalbungen 2008		Kalbungen 2009		Kalbungen 2010		Gesamt	
	Keine BNP	BNP	Keine BNP	BNP						
1	147	0	239	1	263	3	158	4	807	8
2	131	3	179	6	170	5	97	1	577	15
3	59	0	115	5	151	4	57	1	382	10
4	49	0	57	0	70	3	61	2	237	5
5	22	0	29	0	30	0	21	1	102	1
6	8	0	11	0	14	1	8	0	41	1
7-9	5	0	6	0	9	0	8	0	28	0
Gesamt	421	3	636	12	707	16	410	9	2174	40

## Impfsituation

### Impfungen gegen BVDV

Die Art der Grundimmunisierung der Tiere gegen BVDV variierte erheblich über die Jahre hinsichtlich des Impfstoffherstellers, des Alters der Tiere bei der Erstimpfung und der Anzahl der Auffrischimpfungen (Material und Methoden 3.1.9, Tabelle 6). Eine Übersicht über die Anzahl der Impfungen für die Grundimmunisierung gibt die Tabelle 37. Fünf der Mütter von Kälbern mit BNP wurden gegen die Bovine Virus Diarrhoe (BVD) mit Bovidec® (Bovidec® Virbac Ky 1203 BVDV-1a) (Virbac Tierarzneimittel GmbH, Bad Oldesloe, Deutschland) grundimmunisiert. Bei 20 der betroffenen Mütter erfolgte die Grundimmunisierung mit PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland).

**Tabelle 37.** Übersicht über die Anzahl der Impfungen für die Grundimmunisierung gegen BVD mit Bovidec® (Virbac Tierarzneimittel GmbH; Bad Oldesloe, Deutschland) oder PregSure® BVD (Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) aller Muttertiere, die in dem Beobachtungszeitraum gekalbt hatten und der Muttertiere der Kälber mit BNP. Selbiges für die AE2.

Anzahl der Impfungen für die Grundimmunisierung (GI)	Anzahl Muttertiere gesamt	Anzahl Muttertiere AE2	Anzahl Mütter der Kälber mit BNP	Anzahl Mütter der Kälber mit BNP in der AE2
1	31	14	2	1
2	746	429	16	6
3	194	115	7	4
Datum der GI unbekannt	368	223	12	3
Gesamt	1339	781	37	14

### Impfungen gegen BTV

Zehn Mütter von Kälbern mit BNP waren zum Zeitpunkt der Grundimmunisierung gegen die Blauzungenkrankheit im Jahr 2008 nicht tragend, für sieben Tiere lagen keine Daten zur Impfung vor. Zwölf Mütter, die im Jahre 2008 Kälber, die an BNP erkrankten, gebaren, waren vor der Geburt der Kälber geimpft worden. Für 461 Studentiere lagen keine Daten zur Blauzungenimpfung vor. 444 der Tiere waren tragend zum Zeitpunkt der ersten Grundimmunisierung im Sommer 2008. 24 Kühe waren zum Zeitpunkt der ersten Grundimmunisierung noch nicht tragend, befanden sich zum Zeitpunkt der Auffrischimpfung vier Wochen später im ersten Trächtigkeitsmonat.

Im April bzw. Mai 2009 erfolgte die Wiederholungsimpfung gegen das Blauzungenvirus. Zehn der Muttertiere von Kälbern mit BNP und 484 der Studentiere erhielten laut Daten keine Impfung.

## 9.6 Betriebsanamnesebogen

Datum: \_\_\_\_\_

Tierärztin/ Fragestellerin:

Betrieb: Name : \_\_\_\_\_

Strasse : \_\_\_\_\_

Ort : \_\_\_\_\_

Tel.-Nr: \_\_\_\_\_

Angaben zum Bestand:

Rasse: \_\_\_\_\_

Anzahl Kühe : \_\_\_\_\_ laktierend: \_\_\_\_\_

Färsen : \_\_\_\_\_

Kälber : \_\_\_\_\_ eigene Stallabteilung: ja / nein

Wechsel der Tiere zwischen den beiden Beständen (Orten)?

Wenn ja, welche? Regelmäßigkeiten?

Andere Tierarten im Kontakt? Welche? \_\_\_\_\_

Laufstall / Anbindestall Fressplatz-/ Liegeplatzverhältnis: \_\_\_\_\_

Aufstallung Färsen : \_\_\_\_\_

Aufstallung Trockensteher : \_\_\_\_\_

Umstallung rund um die Geburt? : \_\_\_\_\_(wann, wohin)

Aufstallung Kälber : \_\_\_\_\_

1. kurz nach der Geburt
2. Gruppenhaltung

Weidegang : ja / nein ( \_\_\_\_\_ ), wie

lange? \_\_\_\_\_

Kälber Zugang nach draußen? : \_\_\_\_\_

Futtermittel Kühe

Eigene Produktion? Wenn nein, von wo? : \_\_\_\_\_

Gras / Klee / Luzerne / grünes Getreide / Grassilage / Treber / Zuckerschnitzel / Heu / Stroh

Sonstige Futtermittel: \_\_\_\_\_

Futterzusatzstoffe: \_\_\_\_\_

Wasser, woher? : \_\_\_\_\_

Einstreu Kühe :

Abkalbe-/Krankenbox? :

Einstreu? : wenn Stroh: Sorte :

Lagerung :

Geburten (Anzahl)/Jahr sowie /Monat :

Totgeburten (48h)/Jahr :

Anzahl „Blutschwitzer“/Jahr sowie /Monat :

Tote Kälber (< 4 Wochen) / Monat :

**Krankheiten/ Kühe** (siehe ITB, Diagnosen in Herde)

	Anzahl/ Jahr
Schweregeburten	
Stoffwechsel- und Verdauungsstörungen	
Fortpflanzungsstörungen	
Eutererkrankungen	
Erkrankungen des Bewegungsapparats	
Kälberkrankheiten	
Sonstige Erkrankungen	

**Seuchenstatus** Tabelle s.u.

Anhang

! Umstellung auf einen anderen Impfstoff? Wenn ja, wann? Auf welchen?

BHV-1: unverdächtig Impfbestand (Impfstoff): \_\_\_\_\_

BVD/MD: unverdächtig

unbekannt

Impfbetrieb Diagnose: ja / nein

Jungtierfenster/Virämiker \_\_\_\_\_

Impfung seit wann: \_\_\_\_\_

Impfstoff: \_\_\_\_\_

vorher: \_\_\_\_\_

Grundimmunisierung:

Bestandsimpfung?: \_\_\_\_\_

Alter Erstimpfung: \_\_\_\_\_

BTV: gab es einen positiven Nachweis? Wenn ja,  
wann \_\_\_\_\_

(AG bzw. AK vor der Impfung)

Bei welchen Tieren? \_\_\_\_\_

Sonstige Befunde und festgestellte Krankheitserreger aus Fremdlaboren oder anderer Diagnostik (Kopien):

Mutterschutzimpfung: ja / nein

Impfstoff:

Änderungen im Impfregime innerhalb der letzten 3 Jahre?

Prophylaktische Maßnahmen (Impfungen innerhalb der letzten 3 Jahre),

ggf. Extrablatt verwenden

	<u>Impfstoff 1</u>	<u>Impfstoff 2</u>	<u>Impfstoff 3</u>	<u>Impfstoff 4</u>
--	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

## Anhang

Handelsname				
Datum erste Impfung				
Datum zweite Impfung				
Wiederholungsimpfung Datum				
Wiederholungsimpfung Datum				

### **Krankheiten in der Aufzucht?**

Diarrhoe                      nein / ja

Bronchopneumonie        nein / ja

Nabel                        nein / ja

Arthritiden                nein / ja

### **Nachgewiesene Erreger/ Aufzucht?**

Kryptosporidien:        nein / ja

Kokzidien:                nein / ja

### **Fütterung**

	Alter	Menge/Konz.	Hersteller
Vollmilch			
MAT			
Heu			
Wasser			
TMR			
Sonstiges			

Umstellung im Tränkeregime innerhalb der letzten drei Jahre? \_\_\_\_\_

**Erkrankte/ verstorbene Kälber**

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_ Ohrmarkennummer: \_\_\_\_\_

Gewicht (kg): \_\_\_\_\_

Kalbeverlauf: \_\_\_\_\_

Gabe von Kolostrum: \_\_\_\_\_ Stunden nach Geburt

Herkunft des Kolostrums (bitte unterstreichen): Eigenk. Fremdk. Mischk.  
anderes \_\_\_\_\_

Art des Kolostrum: frisch tiefgefroren

Anmerkungen (z.B. Prüfung mit Kolostrumspindel):

Kolostrummanagement:

erkrankt am: \_\_\_\_\_

Krankheitsverlauf des Kalbes, alle klinischen Symptome, therapeutische Maßnahmen,  
Laborbefunde, Sektionsbericht

Arzneimittelbehandlungen (z.B. Immunglobuline, Antibiotika, Vitamine) vor Auftreten der  
Symptome:

**Ausgang der Erkrankung (bitte unterstreichen)**

wiederhergestellt  
überlebt

noch in Behandlung  
unbekannt

mit Folgeschäden

gestorben *oder* euthanasiert am.....

**Mutter**

**Vater** Herdbuchnr.:

Rasse: \_\_\_\_\_

Ohrmarkennummer:

Gewicht (kg):

Alter:

Anzahl der Geburten:

Datum der Besamung:

Laktationsnummer:

Letzte Impfungen(wann) BHV-1 : \_\_\_\_\_

BVD : \_\_\_\_\_

Mutterschutz : \_\_\_\_\_

BTV : \_\_\_\_\_

Trockensteller(welcher, wann) : \_\_\_\_\_

Entwurmung/Fliegenbekämpfung

(womit, wann?) : \_\_\_\_\_

Sonstiges : \_\_\_\_\_

**Milchleistungen**

Jahr 2007

Jahr 2008

Jahr 2009

**Sonstiges**

Umgebung- Auffälligkeiten (Industrie o.ä.)?

Kälberbetreuung nachts?

Prämien?

Anzahl Menschen für die Betreuung der Kälber?

## Veröffentlichungen

Müller KE, Witt K, Weber CN. Bovine Pancytopenia in Germany. Bovine Neonatal Proceedings of the Pancytopenia Symposium XXVI World Buiatrics Congress; 2010 Nov 14-18; Santiago, Chile; 2010; 8.

Witt K, Weber CN, Meyer J, Buchheit-Renko S, Müller KE. Haematological analysis of calves with bovine neonatal pancytopenia. Veterinary Record. 2011; 169: 228.

Witt K, Müller KE, Conraths FJ, Gethmann J. First evidence for the involvement of the sire in the pathogenesis of Bovine Neonatal Pancytopenia. Proceedings of the 27. World Buiatrics Congress; 2012 Jun 3-8; Lissabon, Portugal; 2012; 89.

Witt K, Müller KE, Conraths FJ, Gethmann J. Studien zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie. 3. Jahrestagung der Deutschen Buiatrischen Gesellschaft (DVG-Kongress 2011); 2011 Nov 11-13; Berlin, Deutschland.

Witt K. Epidemiologische Untersuchungen zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie“ (BNP) Abstract und vorgestellt im Rahmen des Doktorandensymposiums der Freien Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, 01.07.2011.

Müller KE, Witt K. u.a. Arbeitspaket 2: Epidemiologische Fall-Kontroll-Studie, Einfluss von Management-Faktoren auf die BNP-Inzidenz in zwei Milchviehbetrieben. Ergebnisprotokoll des Verbundprojektes des BMELV „Ursachenermittlung der Bovinen Neonatalen Panzytopenie“ am 25.07.2012.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau Univ.-Prof. Dr. Kerstin E. Müller, die mir dieses spannende Thema überlassen und mir viele wertvolle Hinweise und konstruktive Vorschläge gegeben hat. Ich verdanke ihr darüber hinaus die hilfreiche Unterstützung und die große Geduld, mit der sie mich über die Zeit der Doktorarbeit begleitet hat.

Christian Korb und Anja Müller danke ich für die Zeit, die sie sich genommen haben, um meine Fragen stets freundlich und zugewandt zu beantworten.

Ein riesengroßer Dank geht an Dr. Jörn Gethmann, der mir zu jeder Tages- und Nachtzeit tatkräftig zur Seite stand und mich hervorragend beraten hat. Einen besseren Betreuer hätte ich nicht haben können.

Auch Frau Dr. Susanne Buchheit-Renko gilt mein Dank für die intensive Beratung und große Motivation in der Anfangszeit des Dissertationvorhabens.

Großer Dank gebührt auch Dr. Kristin Einbock für ihre Hilfe beim Gegenlesen der Arbeit und Eva Engelhardt-Wendt für die inspirierende Vorbereitung der Verteidigung.

Weiterhin möchte meinen Eltern, Regina Witt und Dr. Freddy Huth, ganz besonders danken. Ihr habt mich in vielfacher Weise unterstützt und mich immer ermutigt, die Arbeit zu einem guten Ende zu bringen.

Außerdem danke ich meinen Großeltern, Inge und Ulrich Witt, die immer an meine Fähigkeiten geglaubt haben.

Ein großer Dank gilt auch Anja Walter, die mich zu Pferde in den letzten Jahren immer wieder liebevoll aufgebaut hat und so auch zur Fertigstellung der Arbeit beigetragen hat.

Zuletzt möchte ich meine Kinder Konstantin und Alexander erwähnen, die mich in Zeiten meiner Büroarbeiten beim Spielen vermisst haben.

## **Selbständigkeitserklärung**

Hiermit versichere ich, Katharina Witt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 06.Februar 2019











9 783863 879617

**mbv**berlin | mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-86387-961-7