

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. W. Klee

**Epidemiologische Untersuchung
zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie (BNP).
Eine Fall-Kontroll-Studie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Annette Ursula Carlin
aus Altötting

München 2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. J. Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. W. Klee

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. R. Straubinger

Tag der Promotion: 12. Februar 2011

Für meinen Opi

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	III
1 EINLEITUNG	4
2 LITERATURÜBERSICHT ZUR HÄMORRHAGISCHEN DIATHESE.....	6
2.1 GERINNUNGSSTÖRUNG	6
2.2 THROMBOZYTOPATHIE.....	7
2.3 THROMBOZYTOPENIE.....	7
2.3.1 <i>Periphere Zerstörung</i>	7
2.3.1.1 Idiopathische Thrombozytopenische Purpura	7
2.3.1.2 Infektion mit BVDV2	7
2.3.2 <i>Knochenmarkschädigung</i>	8
2.3.2.1 Intoxikationen.....	8
2.3.2.1.1 Intoxikation nach Medikation.....	10
2.3.2.2 Tumorleiden des Knochenmarks	11
2.3.2.3 Strahlenkrankheit	12
2.3.2.4 Idiopathische Knochenmarkschädigung	12
3 MATERIAL UND METHODEN	13
3.1 FALLDEFINITION FÜR KÄLBER	13
3.2 AUSWAHL DER FALLBETRIEBE	13
3.3 AUSWAHL DER KONTROLLBETRIEBE	13
3.4 DATENERHEBUNG	14
3.5 DATENEINGABE UND STATISTISCHE ANALYSE	16
4 ERGEBNISSE	19
4.1 BNP-FÄLLE	19
4.2 ERGEBNISSE DER FALL-KONTROLL-STUDIE.....	20
4.2.1 <i>Einfaktorielle univariate Analyse</i>	20
4.2.1.1 Vergleich Fallbetriebe (n=56) mit erster Gruppe Kontrollbetriebe (n=50)	20
4.2.1.2 Vergleich Fallbetriebe (n=56) mit zweiter Gruppe Kontrollbetriebe (n=50).....	20
4.2.1.3 Weitere Faktoren.....	23
4.2.2 <i>Mehrfaktorielle univariate („multivariable“) Analyse</i>	23
5 DISKUSSION	29
5.1 AUSWAHL DER FALLBETRIEBE	29
5.2 AUSWAHL DER KONTROLLBETRIEBE	29
5.3 DATENERHEBUNG	30
5.4 AUSWERTUNGEN	31

5.4.1	<i>Ergebnisse der einfaktoriellen univariaten Auswertung.....</i>	<i>31</i>
5.4.2	<i>Andere Faktoren, die Blutungsneigung auslösen können.....</i>	<i>34</i>
5.4.3	<i>Ergebnisse der mehrfaktoriellen univariaten Auswertung</i>	<i>36</i>
6	ZUSAMMENFASSUNG	39
7	SUMMARY	41
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	43
9	ANHANG: FRAGEBOGEN	52
10	DANKSAGUNG	60

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

BHV1	Bovines Herpes Virus Typ 1
BNP	Bovine neonatale Panzytopenie
BT	Bluetongue disease, Blauzungenkrankheit
BVDV2	Bovine Virusdiarrhoe Virus Typ 2
CCC	Chlorcholinchlorid
KI	Konfidenzintervall
ITP	Idiopathische thrombozytopenische Purpura
n	Anzahl der Probanden
nep	Nicht-zytopathogen
NSAIDs	Nichtsteroidale Antiphlogistika (Non-steroidal antiinflammatory drugs)
n. v.	Nicht verfügbar
PCV2	Porzines Circovirus Typ 2

1 Einleitung

Seit 2006 wird aus mehreren europäischen Ländern gehäuft über ein Krankheitsbild bei Kälbern aus Milchvieh- und Mutterkuhbetrieben berichtet, welches zuvor in dieser Form nur bei vereinzelt Fällen in der Literatur beschrieben wurde. Charakteristisch für dieses Krankheitsbild ist erhöhte Blutungsneigung. Ursache für Symptome wie Petechien an den Schleimhäuten, Nachbluten nach Injektionen, unterschiedlich starke Blutbeimengungen im Kot, spontane Hautblutungen und im Verlauf oft schwere Sekundärinfektionen sind Thrombozytopenie und Leukozytopenie, die teilweise sehr stark ausgeprägt sind und welche auf einen Knochenmarkschaden im Sinne einer Panmyelophthase zurückzuführen sind (FRIEDRICH et al., 2008; BRUGÈRE-PICOUX, 2009; CORBIÈRE et al., 2009; DOLL et al., 2009; GENTILE et al., 2009; PENNY et al., 2009; SMOLENAARS und MARS, 2009; BELL et al., 2009a; FRIEDRICH et al., 2009b; KAPPE et al., 2010; PARDON et al., 2010; SANCHEZ-MIGUEL et al., 2010). Nachdem das Krankheitsbild in den Medien als „Blutschwitzen“ und in der Fachliteratur als „Hämorrhagische Diathese“ (KLEE, 2009; FRIEDRICH et al., 2009b; PARDON et al., 2010), „Bleeding Calf Syndrome“ (BELL et al., 2009a) sowie „Hämorrhagisches Diathese Syndrom“ (CORBIÈRE et al., 2009; PENNY et al., 2009; SMOLENAARS und MARS, 2009; KAPPE et al., 2010) bezeichnet wurde, einigte man sich auf dem „Satellite Symposium on Haemorrhagic Diathesis in Calves“ am 2. Dez. 2009 in Marseille auf die Bezeichnung „Bovine neonatale Panzytopenie“ (BNP).

Die Kälber erkranken meist in einem Alter von ein bis drei Wochen. Es gibt keinen nennenswerten Unterschied in der Geschlechts- und Rasseverteilung. Die Krankheit tritt bei allen häufig gehaltenen Rassen auf, wie Deutsches Fleckvieh (Simmental), Deutsche Schwarzbunte (Holstein Friesian), Braunvieh (Brown Swiss), Weiß-Blaue Belgier, Charolais, Blonde d'Aquitaine, Limousin, Aberdeen Angus, Montbéliard sowie bei Kreuzungskälbern verschiedener Rassen (CORBIÈRE et al., 2009; DOLL et al., 2009; GENTILE et al., 2009; PENNY et al., 2009; SMOLENAARS und MARS, 2009; BELL et al., 2009a; FRIEDRICH et al., 2009b; KAPPE et al., 2010; PARDON et al., 2010).

Bisherige Untersuchungen zu diesem Krankheitsgeschehen lieferten keine verlässlichen Hinweise auf infektiöse oder toxische Ursachen (DOLL et al., 2009;

DOLL et al., 2010; FRIEDRICH et al., 2010; PARDON et al., 2010). KAPPE et al. (2010) vermuteten zwar einen Zusammenhang zwischen der BNP und dem Porzinen Circovirus Typ 2 (PCV2), da sie in ihren Untersuchungen die DNA des PCV2 bei fünf von 25 BNP-Kälbern sowie bei einem von acht Kontrolltieren nachweisen konnten. Dieser Befund konnte jedoch in anderen Untersuchungen nicht bestätigt werden (MÜLLER et al., 2009; WILLOUGHBY et al., 2010).

In der im Folgenden beschriebenen Fall-Kontroll-Studie sollten möglichst viele Faktoren hinsichtlich ihrer Assoziation zum Auftreten von BNP untersucht werden, auch um Grundlagen für weitere Untersuchungen zu schaffen.

2 Literaturübersicht zur hämorrhagischen Diathese

Beim Rind werden, wie bei anderen Tierarten, verschiedene Formen von und Ursachen für Blutungsneigung beschrieben. Die Symptome können je nach Ursache und Grad unterschiedlich lokalisiert und ausgeprägt sein. Es werden petechiale Blutungen an Schleimhäuten, Blutbeimengungen im Kot, anhaltende Blutungen nach geringen Insulten oder Injektionen, Hämatome, Anämie, oder auch Hämaturie beschrieben (STÖBER, 2006b, 2006a).

Die grundlegenden Pathomechanismen sind Gerinnungsstörungen aufgrund eines Mangels an Gerinnungsfaktoren, Thrombozytopathien und Thrombozytopenien.

2.1 Gerinnungsstörung

Ein angeborener Mangel an Blutgerinnungsfaktoren, wie zum Beispiel die **Faktor XI-Defizienz** beim Holstein-Rind, kann für eine solche Blutungsneigung verantwortlich sein (STÖBER, 2006c).

In **echtem** und **weißem Steinklee** (*Melilotus officinalis* bzw. *Melilotus albus*) sind Kumaringlykoside enthalten. Nach Umwandlung durch bestimmte Pilze (*Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*) entsteht Dikumarin, welches als Vitamin K-Antagonist verschiedene Gerinnungsfaktoren hemmt und somit hämorrhagische Diathese auslösen kann („Sweet clover disease“). Ebenfalls Vitamin K-antagonistisch wirken **Rodentizide** wie Warfarin oder Brodifacoum, welche synthetisch hergestellte Kumin- und Inandiolderivate sind. Da die Kühe nach Aufnahme von Süßklee nicht unbedingt selbst Vergiftungssymptome zeigen, aber deren neugeborene Kälber in den ersten Lebenstagen an dikumarinbedingter hämorrhagischer Diathese erkranken können, sind die Toxine anscheinend auch über die Milch übertragbar (STÖBER, 2006b).

Bei einer **Septikämie** als Folge verschiedener Infektionen, z.B. Salmonellose, Milzbrand, Tuberkulose, Pasteurellose oder Infektionen mit *E. coli*, Eiter- und Nekroseerregern und *Histophilus somni* kann ebenfalls Blutungsneigung auftreten. Die freiwerdenden Toxine (Endo- oder Exotoxine) führen zu disseminierter intravasaler Gerinnung und dadurch zu „Verbrauchs-koagulopathie“ (STÖBER, 2006a).

2.2 Thrombozytopathie

Verschiedene Erbkrankheiten verursachen eine Störung der Thrombozytenfunktion, wodurch eine erhöhte Blutungsneigung mit den beschriebenen Symptomen der hämorrhagischen Diathese ausgelöst wird. Bislang wurde die „**Simmental hereditary thrombopathy**“ vorwiegend in Nordamerika beschrieben (STEFICEK et al., 1993), die auch bei wenige Tage alten Kälbern auftreten kann. Die Hämostasestörung wird durch eine Thrombozytenfunktionsstörung, welche die Aggregation der Plättchen verzögert, ausgelöst. WEISSER et al. (2010) beschreiben in einem Fallbericht dieselben Befunde bei einem Kalb der Rasse Deutsches Fleckvieh.

Auch beim **Chédiak-Higashi- Syndrom** beruht die Gerinnungsstörung auf einer Störung der Thrombozytenfunktion. Die Krankheit wird bei den Rassen Hereford-, Brangus- und Japanisch-Schwarzes Rind in Kanada, Japan, den Niederlanden und den USA beschrieben (SHIRAISHI et al., 2002).

2.3 Thrombozytopenie

Eine starke Reduktion der Anzahl von Thrombozyten wird ebenfalls für eine gesteigerte Blutungsneigung verantwortlich gemacht. Ursache dafür kann eine periphere Zerstörung der Thrombozyten oder eine Knochenmarkerkrankung sein.

2.3.1 Periphere Zerstörung

2.3.1.1 Idiopathische Thrombozytopenische Purpura

Bei der Idiopathischen Thrombozytopenischen Purpura beruht die Blutungsneigung auf einem immunpathologischen Prozess, der zu peripherer Zerstörung von Thrombozyten führt (HANDIN, 2005).

2.3.1.2 Infektion mit BVDV2

Je nach Zeitpunkt der Infektion, der Virulenz (und Genotyp bzw. Biotyp) des Erregers und der Immunlage des Tieres löst das Bovine Virusdiarrhö-Virus (BVDV) verschiedene Krankheitsbilder aus. An dieser Stelle soll nur auf das „Hämorrhagische Syndrom“, welches durch eine akute Infektion mit nicht zytopathogenem (ncp) BVD-Virus des Genotyps 2 ausgelöst wird, eingegangen

werden. Die Blutgerinnungsstörung beruht auf einer hochgradigen Thrombozytopenie. Die Thrombozyten werden direkt durch das Virus zerstört (CORAPI et al., 1989; WALZ et al., 1999; HAMERS et al., 2000; DOLL und MOENNIG, 2006; BELL et al., 2009c). Abweichend davon erwähnen WOOD et al. (2004), dass nach experimenteller Infektion mit ncp BVDV2-Isolaten BVDV-Antigen in Knochenmarkzellen nachgewiesen werden konnte und es zu einer Reduktion von Myeloidzellen/Stammzellen kam.

2.3.2 Knochenmarkschädigung

Ursachen für hämorrhagische Diathese aufgrund von Knochenmarkschädigung werden im Folgenden genauer beschrieben.

2.3.2.1 Intoxikationen

Nach Aufnahme von grünem oder getrocknetem **Adlerfarn** (*Pteridium aquilinum*) oder Felsenfarn (*Cheilanthes sieberi*) über einen längeren Zeitraum oder in jahreszeitlich bedingt hohen Tagesdosen (1 % der Körpermasse), kann das enthaltene Ptaquilosid laut STÖBER (2006b) das Knochenmark schädigen. Zuerst wird die Myelo- und Thrombopoese gestört, in späteren Stadien auch die Erythropoese. Je nach Dauer und Intensität der Vergiftung kommt es zu (per)akut verlaufender hämorrhagischer Diathese oder chronischer vesikaler Hämaturie. HIRONO et al. (1984) beschreiben in ihrer Untersuchung die Knochenmarkschädigung mit massiver Reduktion der Anzahl an Megakaryozyten bei einem Kalb nach induzierter akuter Adlerfarnvergiftung. Daneben entwickeln die betroffenen Tiere häufig eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infekten, welche nicht selten septikämisch verlaufen. Erste Symptome der akuten Adlerfarnvergiftung sind Verminderung der Fresslust und zeitweilige Verstopfung; später magern die Tiere ab. Hämorrhagische Diathese setzt bei einzelnen Tieren erst nach einer etwa ein- bis dreimonatigen Fütterung ein, die zu über 30 % aus Adlerfarn besteht. Zuerst sinkt die Anzahl der Thrombozyten und Leukozyten, nach entsprechendem Blutverlust auch die der Erythrozyten. Die Kapillardurchlässigkeit ist erhöht und die Blutgerinnungszeit verlängert. Klinisch zeigen sich Störung des Allgemeinbefindens, Fressunlust, seröser Nasenausfluss, Blutungen aus Nase und Vulva/Präputium, Einblutungen in die vordere Augenkammer, „Blutschwitzen“ aus kleinsten Läsionen (z.B. Insektenstiche), Blutharnen, Petechien an allen Schleimhäuten, Blässe der Schleimhäute, blutiger

Kot (häufig Durchfall), erschwertes, röchelndes Atmen durch Kehlgangs- und Rachenödem, subkutane Blutergüsse und Erhöhung der Atem- und Herzfrequenz (STÖBER, 2006b). In einer Untersuchung von ALONSO-AMELOT et al. (1996) wurde Ptaquilosid in der Milch von Kühen gefunden, denen über einige Tage Adlerfarn in subtoxischen Mengen gefüttert wurde. Allerdings würde diese Menge an Ptaquilosid nicht ausreichen, um Vergiftungserscheinungen auszulösen.

Trichothezene sind Mykotoxine, die als Stoffwechselprodukte verschiedener Pilze (z.B. *Fusarium*, *Cephalosporium* oder *Stachybotrys*) gebildet werden. Vergiftungen mit diesen Toxinen entstehen durch die Aufnahme von verdorbenem Futter (Getreide, Maissilage, Biertreber, Heu und Stroh) und kommen bei Pferden, Hunden, Geflügel, Katzen, Mäusen und Rindern vor (SHARMA, 1993; PARENT-MASSIN, 2004; STÖBER, 2006b). Die Symptome einer solchen Intoxikation sind Fressunlust, Speicheln, Nasenausfluss, entzündliche Veränderungen der Maulschleimhaut, Aborte, in schlimmen Fällen teilweise exsudative bis nekrotisierende Dermatitis von Flotzmaul, Kronsaum und Skrotum. Des Weiteren kann es durch die Knochenmarkschädigung und des damit verbundenen Fehlens der Neubildung der Thrombozyten zu hämorrhagischer Diathese kommen. HARRACH et al. (1983) beschreiben die klinischen Symptome der durch Mykotoxine ausgelösten Stachybotryotoxikose bei Schafen. Bei der Sektion der verendeten Tiere fanden sich ausgeprägte Einblutungen in die Unterhaut, an den Schleimhäuten und an den serösen Häuten.

Ein Zusammenhang zwischen aplastischer Anämie beim Rind und der Fütterung von **Trichloräthylen-extrahiertem Sojaschrot** wurde 1916 dargestellt. Die so genannte „Dürener Krankheit“ hat bis in die 50er Jahre des letzten Jahrhunderts in manchen Regionen zu erheblichen Verlusten geführt (CROSS, 1953; BRÜGGEMANN et al., 1958). Als toxische Komponente wurde später S-(1,2-Dichlorvinyl)-L-Cystein identifiziert. Neben Auswirkungen auf das hämatopoetische System wirkt es nephrotoxisch beim Kalb (NAGELKERKE und BOOGAARD, 1991). Im Experiment konnte bereits eine einmalige hohe Dosis von S-(1,2-Dichlorvinyl)-L-Cystein (oral oder intravenös verabreicht) beim Kalb schwere aplastische Anämie und damit Symptome der hämorrhagischen Diathese auslösen (MCKINNEY et al., 1957; SCHULTZE et al., 1959). Bei

Untersuchungen des Knochenmarks zeigte sich ausgeprägte Zellarmut (LOCK et al., 1996). BRÜGGEMANN et al. (1958) erwähnen in ihrer Arbeit, dass in einigen Fällen Kälber, deren Mütter mit Trichloräthylen-extrahiertem Sojaschrot gefüttert wurden, ebenfalls die „Dürener Krankheit“ entwickelten. Das Knochenmark kann sich allerdings nach Beenden der Schrotfütterung sehr langsam wieder erholen. Sojaschrot wird aber schon seit längerer Zeit nicht mehr mit Trichloräthylen extrahiert (STÖBER, 2006b).

In der Literatur wird **Östrogen-Vergiftung** als Ursache für Knochenmarkschädigung beim Hund mit aufgeführt (WEISS et al., 1999). Allerdings wird diese Vergiftung als Ursache für hämorrhagische Diathese beim Rind in der gesichteten Literatur nicht erwähnt.

2.3.2.1.1 Intoxikation nach Medikation

Nach Überdosierung einiger in der Veterinärmedizin angewendeter, aber teilweise schon seit Jahren für Lebensmittel liefernde Tiere verbotener Medikamente kann es zu Knochenmarkschädigung und nachfolgender hämorrhagischer Diathese kommen.

Furazolidon ist ein synthetisches Nitrofuranderivat, welches sowohl eine breite antibakterielle als auch eine antiprotozoische Wirkung mit unbedeutender Resistenzbildung aufweist. Es wurde zur oralen Behandlung verschiedener Infektionen des Gastrointestinaltraktes, inklusive Salmonellose, *Escherichia coli*-Infektion und Kokzidiosen bei Kälbern, Schweinen, Geflügel sowie bei Kleintieren eingesetzt (ALLEN et al., 1993). HOFMANN et al. (1972) berichten über die Wirkung von experimenteller Überdosierung von Furazolidon auf Kälber. Nachdem die Kälber über einen längeren Zeitraum Furazolidon verabreicht bekommen hatten, zeigten sich Symptome einer hämorrhagischen Diathese. Dabei spielten allerdings Dauer und Dosierung der Verabreichung bedeutende Rollen. Bei höherer Konzentration zeigten sich nach 14 bis 17 Tagen zentralnervöse Störungen. Petechiale Blutungen an den serösen Häuten und den inneren Organen, blutiger Darminhalt sowie Thrombozytopenie und Leukozytopenie treten erst nach experimenteller Dauermedikation mit Furazolidon in sehr hohen Tagesdosen (8,5 mg/kg) über einen Zeitraum von ca. sieben Wochen auf (HOFFMANN-FEZER et al., 1974; HOFMANN et al., 1974).

Allerdings ist der Einsatz von Furazolidon bei Lebensmittel liefernden Tieren seit 1995 verboten, da es ein hohes toxisches Potential sowohl für das Tier selbst als auch in Bezug auf Rückstände in Lebensmitteln besitzt (KROKER, 2006a).

Chloramphenicol ist ein rein synthetisch hergestelltes, bakteriostatisch wirkendes Antibiotikum. Das Wirkungsspektrum umfasst die meisten grampositiven und gramnegativen Bakterien, darüber hinaus kann es die Blut-Hirn-Schranke passieren, weswegen es auch zur Behandlung von Meningoenzephalitiden eingesetzt wurde. Als Nebenwirkung wird das Auftreten von aplastischer Anämie aufgrund von Knochenmarkschädigung beim Rind beschrieben, allerdings erst nach deutlicher Überdosierung (100 mg/kg täglich; JORNA und POSTEMA (1986)). Da ein Zusammenhang mit dem Auftreten von aplastischer Anämie auch beim Menschen diskutiert wird, ist die Anwendung von Chloramphenicol bei Lebensmittel liefernden Tieren in der EU seit 1994 verboten (KROKER, 2006a).

Nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAIDs; YOUNG, 2005) und **Sulfonamide** (AMMANN et al., 1996; YOUNG, 2005) können bei Überdosierung das Knochenmark schädigen. In der Humanmedizin wird außerdem beschrieben, dass diese Medikamente idiosynkratische Reaktionen bei disponierten Individuen unabhängig von der Dosierung auslösen können (YOUNG, 2005).

Zytostatische Chemotherapeutika werden zur Behandlung von Tumorerkrankungen eingesetzt. Allerdings haben sie außer bei Hunden und Katzen in der Veterinärmedizin keine Bedeutung. Das große Nebenwirkungspotential limitiert den Einsatz erheblich. Sie hemmen das Wachstum von rasch proliferierendem Gewebe wie der Haut und des hämatopoetischen Systems. Durch Myelosuppression mit Leukozytopenie und nachfolgender Thrombozytopenie kann es zu gesteigerter Blutungsneigung und Anämie kommen (KROKER, 2006b).

2.3.2.2 Tumorleiden des Knochenmarks

Alle Tumorerkrankungen des Knochenmarks führen zu einer schwer wiegenden Beeinträchtigung der Myelo-, Erythro- und Thrombozytopoese. Durch die Verminderung der zellgebundenen Abwehr kommt es vermehrt zu Infektionen der Haut, des Respirations- und Digestionstrakts sowie zu hypoplastischer Anämie und hämorrhagischer Diathese. Die **Monozyten-Leukose** ist eine seltene,

sporadisch auftretende Erkrankung der Rinder und betrifft Tiere im Alter von drei bis zwölf Jahren. Die Mastzellen-Retikulose ist beim erwachsenen Rind und auch beim neugeborenen Kalb beschrieben. An **lymphatischer Kälberleukose** erkranken die Kälber wahrscheinlich schon intrauterin, klinische Symptome treten meist erst während der ersten sechs Lebensmonate, selten erst im Alter von zwei Jahren auf. Alle Körperlymphknoten sind vergrößert, die Infektanfälligkeit ist erhöht, die Schleimhäute sind anämisch und weisen teils petechiale Blutungen auf. Durch die häufig auftretende Verminderung der Thrombozyten kann es zu hämorrhagischer Diathese kommen (STÖBER, 2006d).

2.3.2.3 Strahlenkrankheit

Bei der Strahlenkrankheit werden Schädigungen durch radioaktive Strahlen oder Röntgenstrahlen ausgelöst (GIESE und STÖBER, 2006). In einem Experiment ließ sich bei Kälbern eine ausgeprägte Hämatopoiesestörung mit nachfolgender hämorrhagischer Diathese induzieren (JOHANNSEN et al., 1978).

2.3.2.4 Idiopathische Knochenmarkschädigung

Es wurde bereits früher in der Literatur gelegentlich von Einzelfällen von hämorrhagischer Diathese bei Kälbern und Jungrindern berichtet. Auslöser für die gesteigerte Blutungsneigung ist eine meist stark ausgeprägte Thrombozytopenie aufgrund einer Knochenmarkschädigung. Allerdings konnte die Ursache für die Knochenmarkschädigung nicht geklärt werden (MÜLLER und STÖBER, 1987; LUNN und BUTLER, 1991; AMMANN et al., 1996; KIYOSHI et al., 2000; SHIMADA et al., 2007; BRAUN et al., 2008). In neueren Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen wird über eine Häufung von derartigen Fällen berichtet (FRIEDRICH et al., 2008; CORBIÈRE et al., 2009; KLEE, 2009; BELL et al., 2009a; FRIEDRICH et al., 2009a; PARDON et al., 2009a; BELL et al., 2009b; FRIEDRICH et al., 2009b; PARDON et al., 2009b; BELL et al., 2009c; FRIEDRICH et al., 2009c; BELL et al., 2009d; KAPPE et al., 2010; WILLOUGHBY et al., 2010). Zur Untersuchung der Epidemiologie dieser anscheinend neuen Krankheit soll die vorliegende Studie einen Beitrag leisten.

3 Material und Methoden

3.1 Falldefinition für Kälber

Als Goldstandard galt eine in der Sektion festgestellte Knochenmarkschädigung (Panmyelophthuse). Lag kein Sektionsbefund vor, wurde ein Fall nur dann als BNP eingestuft, wenn klinisch hämorrhagische Diathese und hämatologisch sowohl Thrombozytopenie (unter 200 G/l) als auch Leukozytopenie (unter 4 G/l) festgestellt wurden (FRIEDRICH et al., 2009a; FRIEDRICH et al., 2009b).

3.2 Auswahl der Fallbetriebe

Als Fallbetriebe galten solche Betriebe, bei denen mindestens ein Kalb mit BNP bestätigt wurde. Insgesamt wurden in der Fall-Kontroll-Studie die Betriebsleiter von 56 Fallbetrieben interviewt. Zu Beginn der Studie wurden alle Betriebsleiter befragt, die BNP-Kälber in die Klinik für Wiederkäuer gebracht hatten (n=27). Im Folgenden stieg die Anzahl der BNP-Kälber, die in die Klinik gebracht wurden, stetig und es wurden auch vermehrt Blutproben von kranken Kälbern in die Klinik geschickt. Aus diesen nachfolgenden Betrieben mit BNP-Kälbern (n=248) wurden die übrigen 29 Betriebe zufällig ausgewählt. Die geographische Lage des Betriebs spielte dabei keine Rolle.

3.3 Auswahl der Kontrollbetriebe

Das Definitionskriterium eines Kontrollbetriebs war, dass BNP bisher nicht aufgetreten war. Es wurden zwei Gruppen von Kontrollbetrieben erstellt. Die erste Gruppe Kontrollbetriebe (n=50) wurde zufällig aus der Klientel von Tierarztpraxen ausgewählt, in denen dieses Krankheitsbild noch nie in einem von ihnen betreuten Betrieb beobachtet wurde. Diese Tierarztpraxen wiederum wurden in einer separaten Studie zur regionalen Verteilung der BNP in Bayern ermittelt (Artikel in Vorbereitung). Insgesamt antworteten damals 435 Kolleginnen und Kollegen der 1060 angeschriebenen Großtierpraxen. Von den 322 Tierärzten, die angaben, dieses Krankheitsbild noch nicht in ihrer Praxis gesehen zu haben, wurden 50 zufällig ausgewählt. In diesen 50 Praxen wurden wiederum zufällig jeweils fünf Betriebe aus ihrem Kundenstamm ausgesucht. Aus

diesen insgesamt 250 Betrieben wurden die ersten 50 Kontrollbetriebe zufällig ermittelt.

Die zweite Gruppe von Kontrollbetrieben (n=50) wurde mittels Matching ausgewählt. Tierarztpraxen mit Fallbetrieben wurde eine Anzahl von Zufallszahlen geliefert, die der Zahl der in der Studie verwendeten Fallbetriebe aus der jeweiligen Praxis entsprach. Dabei wurden die Zufallszahlen so angepasst, dass sie der Anzahl der Kunden in dieser Praxis entsprachen. Anhand dieser Zufallszahlen suchten die Praxisinhaber aus ihrem Praxisverwaltungsprogramm die entsprechenden Betriebe aus. Wenn von diesen Betrieben kein BNP-Fall gemeldet worden war und sie kooperativ waren, wurden sie als Kontrollbetriebe aufgenommen. Die Bildung solcher „Betriebs-Paare“ innerhalb einer Tierarztpraxis war nur bei 45 Betrieben möglich; die restlichen fünf Kontrollbetriebe wurden aus den Betrieben anderer Praxen mit Fallbetrieben ausgewählt.

3.4 Datenerhebung

Es wurde ein Fragebogen von acht Seiten erstellt, anhand dessen zahlreiche Informationen zu Fall- und Kontrollbetrieben telefonisch erhoben wurden. Die ersten fünf Seiten enthielten allgemeine Informationen, wie Betriebsmanagement, Fütterung von Kühen und Kälbern, prophylaktische Maßnahmen und Tiergesundheit. Diese Daten wurden zu allen Betrieben erfragt (**Tabelle 1**). Besonderes Augenmerk wurde auf den Einsatz von Medikamenten und routinemäßigen Impfungen der Kühe gelegt. Dabei wurden nach Möglichkeit genaue Angaben zu Impfdaten und den Zeiträumen, in denen Vorbeugemaßnahmen angewandt wurden, erfragt. Im Rahmen der Fütterung der Kühe und Kälber wurden alle üblicherweise verwendeten Futtermittel, aber auch Futterzusatzstoffe, wie Propylenglykol, Propionat, Rohglyzerin oder Silierhilfsmittel erfragt. Alle Variablen wurden mit ja ('1'), wenn sie während der letzten zwei Jahre verwendet wurden, oder mit nein ('0'), wenn sie niemals verwendet wurden oder der letzte Einsatz länger als zwei Jahre vor dem Interview lag, angegeben. Beim Einsatz von Impfungen wurden die Daten der vergangenen fünf Jahre erfasst, da ein möglicher Langzeiteffekt von Impfungen nicht ausgeschlossen werden kann.

Tabelle 1. Fragebogen, Inhalt der Seiten 1-5: Allgemeine Angaben zum Betrieb, gültig für Fall- und Kontrollbetriebe.

Parameter	Beschreibung
allgemeine Information	PLZ von Betrieb und Haustierarzt
allgemeine Information zum Betrieb	Tierzahl, Rasse, Zukauf, sonstige Tierarten
Aufstallung der laktierenden Kühe, Jungtiere, Masttiere	Anbindehaltung, Laufstall, Weide
Aufstallung der Kälber	Einzelbox, Iglu, Gruppenhaltung
Fütterung der laktierenden Kühe	Grundfutter, Kraftfutter, Mineralfutter
Futterzusatzstoffe	Propylenglykol, Rohglycerin, Propionat
sonstige Zusatzstoffe	Silierhilfsmittel, Halmverkürzer
Unterschiede in Fütterung der trockenstehenden Kühe, Jungtiere	im Vergleich zu den laktierenden Kühen
Zugang der Tiere zu Schachtelhalm, Adlerfarn oder Süßklee	ja/nein
Fütterung der Kälber	Biestmilchversorgung, Vollmilch, Milchaustauscher, Tränkeverfahren, Kraftfutter, Stroh, Heu, Leckstein, Wasserversorgung, andere Tränken
Vorbeuge	Halofuginon, Kolostrumersatz- oder Ergänzungspräparate
Impfungen	Mutterschutz, Schluckvakzine, BVD, BT, andere
Prophylaxe Kühe	Trockensteller, Gebärpäresseprophylaxe, Dippmittel, Mastitis-Euterinjektoren, sonstige regelmäßige Behandlungen
Kälberprobleme im Bestand	Durchfallerkrankungen, Lungenerkrankungen, Nabelerkrankungen, Trinkschwäche, nachgewiesene Erreger
Gehäufte Erkrankungen bei den Kühen, Rindern	Mastitis, Euterprobleme, Fruchtbarkeitsprobleme,
Status des Betriebes	BHV I, BT, BVD, Chlamydien: frei/geimpft/unbekannt
Desinfektion/Chemikalien	Kälberboxen, Iglus, Tränkeimer, Melkgeschirr, Insekten- und Nagerbekämpfung

Die Seiten 6 bis 8 des Fragebogens beinhalteten Informationen zu BNP-Kälbern wie die ersten Krankheitsanzeichen, Behandlungen und den Verlauf der Krankheit sowie zu den Müttern dieser Kälber. Deshalb wurden diese Seiten nur für Fallbetriebe vervollständigt.

3.5 Dateneingabe und statistische Analyse

Alle Auswertungen dieser Fall-Kontroll-Studie basierten auf Betriebsebene. Die Daten aller Betriebe wurden in eine Microsoft Access® Datenbank (Microsoft Inc., USA) eingegeben. Die abhängige Variable war der Status des Betriebes hinsichtlich des Auftretens von BNP.

Die Daten wurden mit den Programmen Microsoft Excel (Microsoft Inc., USA), SPSS (Version 18.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) und SAS (Version 9.2; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) ausgewertet.

Die Daten der Fall- und Kontrollbetriebe wurden in zwei getrennten Auswertungen verglichen. Zuerst wurden die 56 Fallbetriebe mit den 50 Kontrollbetrieben der ersten Gruppe und dann mit den 50 Kontrollbetrieben der zweiten Gruppe verglichen. Die einfaktorielle univariate Auswertung (im Folgenden „univariate Auswertung“ genannt) beinhaltete eine abhängige und eine unabhängige Variable. Im ersten Teil der Auswertung wurde dazu der Vergleich von Häufigkeitsdaten mittels Kreuztabellen und Berechnung von Chi-Quadrat-Tests mit Odds Ratios und deren 95 %-Konfidenzintervallen durchgeführt. Kontinuierliche Daten (Anzahl der Tiere auf dem Betrieb) wurden visuell mittels Boxplots und QQ-Plots auf Normalverteilung untersucht. Falls die Daten nicht normalverteilt waren, wurden sie mit Hilfe nicht-parametrischer Mann-Whitney U-Tests ausgewertet. Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern wurden mit Spearman's Korrelationskoeffizienten und Chi-Quadrat-Tests bewertet.

Nachfolgend wurde eine mehrfaktorielle univariate (sogenannte „multivariable“) Analyse durchgeführt, wobei es eine abhängige und mehrere unabhängige Variablen gibt. Parameter, die nur sehr selten (in weniger als 10 % der Fall- und Kontrollbetriebe) oder aber sehr häufig (in mehr als 90 % der Fall- und Kontrollbetriebe) eingesetzt wurden, konnten in der multivariablen Analyse nicht ausgewertet werden, da der Datensatz im Verhältnis zur Anzahl der ausgewerteten Parameter relativ klein war. Somit hätten die multivariablen Modelle

mathematisch zu keiner Lösung oder zu sehr großen Standardfehlern aufgrund nicht-vorkommender Kombinationen von Kovariaten geführt. Alle Parameter mit einem p-Wert von unter 0,2 in der univariaten Auswertung bezüglich des Fall/Kontroll-Status wurden auf Korrelationen innerhalb der Parameter untersucht und in eine multivariable logistische Regression mit automatischer schrittweiser Selektion aufgenommen. In dieser schrittweisen Selektion wurden unabhängige Parameter (also untersuchte Risikofaktoren) in das Modell eingeschlossen, falls ihr p-Wert unter 0,05 lag. Diese Parameter wurden dann nach ihrer Bedeutung für das Gesamtmodell beurteilt und im Modell behalten (falls $p < 0,05$) oder wieder entfernt (HOSMER und LEMESHOW, 2000). Dadurch wurde versucht, nicht-signifikante Parameter aus dem Modell zu entfernen, bevor neue signifikante eingefügt wurden. Alle möglichen Zwei-Weg-Wechselwirkungen (Interaktionen zwischen zwei Parametern) zwischen den signifikanten Haupteffekten im Modell wurden getestet. Auf mögliche beeinflussende Faktoren wurde mittels Mantel-Haenszel-stratifizierter Auswertung untersucht (DOHOO et al., 2003). In Situationen von quasi-kompletter-Separation zwischen Fall- und Kontrollbetrieben wurde eine Korrektur nach Firth angewandt (HEINZE und SCHEMPER, 2002; WEBB et al., 2004).

Aufgrund der starken Separation zwischen Fallbetrieben und Kontrollbetrieben, die sich nach Einschluss des Parameters *PregSure® BVD-Vakzine* in die logistischen Regressionsmodelle ergab, wurden separate Modelle gerechnet, die diesen Parameter nicht mit beinhalteten, um dadurch die Effekte der anderen Parameter abzuschätzen. Diese Faktoren wurden dann einzeln in eine Berechnung von Mantel-Haenszel-korrigierten Odds Ratios für *PregSure® BVD-Vakzine* und Fall-/Kontroll-Status einbezogen, um mögliche Confounding-Effekte oder Wechselwirkungseffekte zwischen den Faktoren und *PregSure® BVD-Vakzine* bezüglich des Fall-/Kontroll-Status zu beurteilen. Eine Yates-Korrektur (in SAS proc freq beinhaltet) wurde für Tabellen mit einer oder mehreren Nullwerten angewandt, um Odds Ratios zu erhalten. Dabei wird ein Korrekturfaktor von 0,5 eingefügt, falls Zellen Nullwerte enthalten (YATES, 1934; KLEINBAUM et al., 2007). Zusammenhänge zwischen den signifikanten Haupteffekten der logistischen Regressionsmodelle und *PregSure® BVD-Vakzine* wurden beurteilt.

Für die zweite Auswertung der Fallbetriebe gegen die „matched“ Kontrollbetriebe standen 45 Betriebspaare aus insgesamt 22 Tierarztpraxen zu Verfügung. Odds Ratios wurden für alle Parameter in einer gepaarten Auswertung berechnet. Falls diese gepaarte Auswertung aufgrund nicht-vorhandener Kombinationen an Paaren nicht möglich war, und es dadurch zu Division durch Null gekommen wäre, wurden ungepaarte Analysen für die univariate Auswertung durchgeführt. Als multivariable Methode wurde eine konditionelle logistische Regression angewandt. Im Falle der Nicht-Konvergenz eines solchen Modells wird eine schrittweise nicht-konditionelle logistische Regression durchgeführt. Zur Prüfung auf den Confounding Effekt des Matchings wurden die Ergebnisse des nicht-konditionellen mit denjenigen eines konditionellen logistischen Regressionsmodells verglichen, wobei alle signifikanten Faktoren, außer *PregSure® BVD-Vakzine*, aus dem nicht-konditionellen Modell berücksichtigt wurden. *PregSure® BVD-Vakzine* wurde ausgeschlossen, da ein konditionelles Modell mit diesem Parameter nicht konvergierte.

Es wurde wieder auf alle möglichen Zwei-Weg-Wechselwirkungen zwischen den signifikanten Haupteffekten im Modell getestet.

Alle logistischen Regressionsmodelle wurden auf Modellanpassung und Ausreißer mittels Hosmer-Lemeshow-Test und Chi-Quadrat-Test der Residuen untersucht. Regressionsdiagnostik wurde wie bei HOSMER und LEMESHOW (2000) beschrieben durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 BNP-Fälle

Insgesamt wurden aus 56 Fallbetrieben 137 bestätigte BNP-Fälle gemeldet. Aus 23 der Betriebe wurde lediglich ein Fall gemeldet, während 33 Betriebsleiter bis zu 9 betroffene Kälber meldeten (**Abbildung 1**).

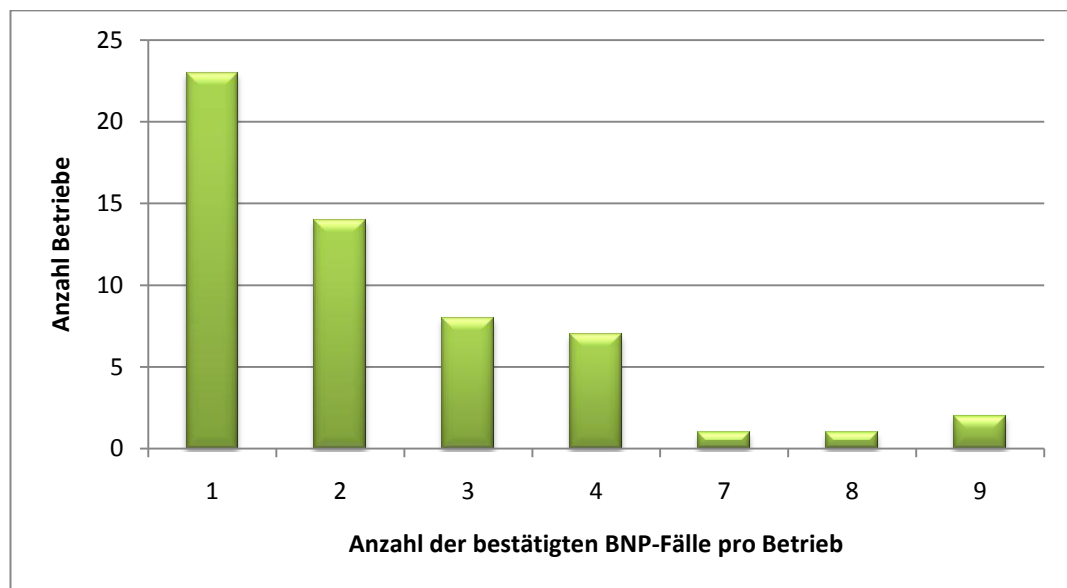


Abbildung 1. Anzahl der bestätigten BNP-Fälle pro Betrieb.

Kein Betriebsleiter berichtete von einer Erkrankung oder Behandlung der Mutter eines betroffenen Kalbes. Zusätzlich zu den bestätigten erkrankten Kälbern gaben Landwirte aus den Fallbetrieben an, weitere 109 in dieser Weise erkrankte Kälber gehabt zu haben. Diese Kälber fielen durch die typischen Symptome (Hautblutungen, blutiger Kot) der hämorrhagischen Diathese auf, allerdings gab es von diesen Kälbern keine Blutproben oder Sektionsbefunde, die sie als gesicherte Fälle bestätigt hätten.

4.2 Ergebnisse der Fall-Kontroll-Studie

4.2.1 Einfaktorielle univariate Analyse

4.2.1.1 Vergleich Fallbetriebe (n=56) mit erster Gruppe Kontrollbetriebe (n=50)

In der ersten Auswertung wurden die 56 Fallbetriebe mit der ersten Gruppe von 50 Kontrollbetrieben verglichen. Die univariate Analyse identifizierte einige statistisch signifikante Variablen (**Tabelle 2**). Am deutlichsten war der Effekt beim Parameter Verwendung des Impfstoffes *PregSure® BVD*. Von den 56 Fallbetrieben *impften 55 gegen BVD* und alle 55 verwendeten den Impfstoff *PregSure® BVD*, wohingegen nur 16 Kontrollbetriebe (n=50) *gegen BVD impften* und davon nur zwei den *Impfstoff PregSure® BVD* verwendeten. Der Leiter eines Kontrollbetriebs konnte sich nicht an den Namen des verwendeten Impfstoffs erinnern. Die Tatsache, dass 55 Fallbetriebe und nur zwei Kontrollbetriebe den Impfstoff *PregSure® BVD* verwendeten, führte zu einem sehr hohen Odds Ratio in der univariaten Analyse von 1293 (95 % KI: 114 – 14708). Ein anderer Faktor mit hoher Signifikanz war die Fütterung von *Leinmehl*. In zehn der 56 Fallbetriebe, aber in keinem der Kontrollbetriebe wurde *Leinmehl* gefüttert (eine 0,5 Korrektur für Nullwerte in der Tabelle ergab ein Odds Ratio von 22,8; 95% KI: 1,3 – 400,2).

4.2.1.2 Vergleich Fallbetriebe (n=56) mit zweiter Gruppe Kontrollbetriebe (n=50)

Verglich man die Fallbetriebe (n=56) mit der zweiten Gruppe von Kontrollbetrieben (n=50), die mittels Matching auf Tierarztpraxis ausgewählt wurden, so konvergierten die logistischen Regressionsmodelle für viele Parameter nicht, und es konnte keine gepaarte Auswertung durchgeführt werden. Solche Faktoren waren z.B. die Fütterung von *Vollmilch* oder die Verwendung des Impfstoffs *PregSure® BVD*, für die nicht alle Paar-Kombinationen vorlagen. Von den 45 Betriebspaaren gab es 32-mal die Kombination, dass im Fallbetrieb der Impfstoff *PregSure® BVD* eingesetzt wurde, im dazugehörigen Kontrollbetrieb aber nicht. Bei zwölf Betriebspaaren wurde sowohl im Fallbetrieb, als auch im Kontrollbetrieb der Impfstoff *PregSure® BVD* eingesetzt.

Tabelle 2. Ergebnisse der univariaten Auswertung. Vergleich der Fallbetriebe (n=56) mit 50 zufällig ausgewählten Kontrollbetrieben (Gruppe 1; aufgeführt sind nur statistisch signifikante Werte).

Variable	Fallbetriebe (n=56)	Gruppe 1 Kontrollbetriebe (n=50)	Univariater p-Wert (Kontroll- gruppe 1)
Allgemeine Informationen zum Betrieb			
Anzahl der Jungtiere	Median 29,5	Median 40,0	0,039
Zukauf von Rindern	2/56	10/50	0,018
Laufstall	25/55	33/50	0,034
Fütterung der Kühe			
Gerste	32/56	39/50	0,022
Leinmehl	10/56	0/50	0,001
Zuckerrübenschnitzel	19/56	8/50	0,034
Heu	53/56	36/50	0,001
Stroh	24/56	39/50	<0,001
Propylenglykol	21/56	8/50	0,013
Fütterung der Kälber			
Heu	49/56	50/50	0,014
Wasser zur freien Verfügung	49/56	50/50	0,014
Kolostrumersatz- oder Ergänzungspräparate*	9/56	2/50	0,041
Prophylaktische Maßnahmen			
Verwendung von Halofuginon	11/56	3/50	0,038
Mutterschutzimpfung	33/56	17/50	0,018
Impfung gegen BVD	55/56	16/50	<0,001
PregSure® BVD	55/55	2/16	<0,001
Prophylaktische und therapeutische Maßnahmen bei den Kühen			
Dippmittel	14/56	24/50	0,014
Mastitis-Euterinjektoren	29/56	38/50	0,010
Häufige Kälberkrankheiten			
Durchfall	29/56	14/50	0,013
Bronchopneumonie	19/56	6/50	0,008
Verschiedenes			
Halmverkürzer	12/56	33/50	<0,001
BVD-Status (geimpft/frei/unbekannt)	55/0/1 (56)	16/10/24 (50)	<0,001

* In einigen Fallbetrieben wurden Kolostrumersatzpräparate erst nach dem Auftreten der ersten BNP-Fälle eingesetzt, somit ist diese Variable verzerrt.

In einem Paar verwendeten beide Betriebe den Impfstoff nicht. Allerdings gab es keine Paarung, bei der im Kontrollbetrieb *PregSure® BVD* eingesetzt wurde, aber im Fallbetrieb nicht. Eine nicht-konditionelle univariate Analyse ergab ebenfalls einige signifikante Zusammenhänge zwischen verschiedenen Parametern und dem Vorhandensein von BNP in dem Betrieb (**Tabelle 3**). Ein Parameter mit hohem Odds Ratio war die Verwendung von *PregSure® BVD*. Insgesamt wurde in 17 der 50 Kontrollbetrieben gegen BVD geimpft, wovon bei 13 der Impfstoff *PregSure® BVD* eingesetzt wurde, was zu einem OR von 156,5 führt (95 % KI: 19,6-1248,3).

Tabelle 3. Ergebnisse der nicht-bedingten univariaten Auswertung. Vergleich der Fallbetriebe (n=56) mit der zweiten Gruppe Kontrollbetriebe (n=50; aufgeführt sind nur statistisch signifikante Werte).

Variable	Fallbetriebe (n=56)	Gruppe 2 Kontrollbetriebe (n=50)	Univariater p-Wert (Kontroll- gruppe 2)
Fütterung der Kühe			
Raps	32/56	42/50	0,003
Propylenglykol	21/56	7/50	0,006
Fütterung der Kälber			
Heu	49/56	50/50	0,010
Wasser zur freien Verfügung	49/56	49/50	0,063
Kolostrumersatzpräparate*	9/56	1/50	0,013
Prophylaktische Maßnahmen			
Mutterschutzimpfung	33/56	20/50	0,052
sonstige regelmäßige Behandlungen (Grippeimpfung beim Kalb, Parasitenvorbeuge)	20/56	4/50	0,002
Impfung gegen BVD	55/56	17/50	<0,001
PregSure® BVD	55/55	13/17	<0,001
Prophylaktische und therapeutische Maßnahmen bei den Kühen			
Mastitis-Euterinjektoren	29/56	45/50	0,001
Verschiedenes			
Halmverkürzer	12/56	37/50	<0,001
BVD-Status (geimpft/frei/ unbekannt)	55/0/1 (56)	17/2/31 (50)	<0,001

* In einigen Fallbetrieben wurden Kolostrumersatzpräparate erst nach dem Auftreten der ersten BNP-Fälle eingesetzt, somit ist diese Variable verzerrt.

4.2.1.3 Weitere Faktoren

In **Tabelle 4** werden die Faktoren dargestellt, welche, wie in der Literaturübersicht dargestellt, Blutungsneigung beim Rind auslösen können. Diese Faktoren wurden vorliegender Fall-Kontroll-Studie mit untersucht, lieferten aber keine signifikanten Ergebnisse.

Tabelle 4. Einige Blutungsneigung auslösende Faktoren, die in der BNP-Fall-Kontroll-Studie untersucht wurden, jedoch keine signifikanten Ergebnisse ergaben.

Variable	Fallbetriebe (n=56)	Kontrollbetriebe (n=100)
Zugang zu Schachtelhalm, Adlerfarn oder Süßklee	3/56 hatten evtl. Zugang (6/56 hatten Weidegang)	5/100 hatten evtl. Zugang (17/56 hatten Weidegang)
Nachweis bestimmter Erreger	15/56	21/100
Sulfonamide	1/56	1/100
Rattenbekämpfung	30/56	46/100

Faktoren wie *Trichloräthylen-extrahierter Sojaschrot* oder Verwendung von Medikamenten wie *Chloramphenicol* und *Furazolidon* wurden nicht erfragt. Zur Behandlung mit *nichtsteroidalen Antiphlogistika* gab es nur Angaben von den Leitern der Fallbetriebe. Keine auswertbaren Angaben wurden zu *verschiedenen Erbkrankheiten, Tumorerkrankungen* sowie dem Einsatz von *zytostatischen Chemotherapeutika* oder der Exposition gegenüber *Röntgenstrahlen* gemacht.

4.2.2 Mehrfaktorielle univariate („multivariable“) Analyse

Verwendete man eine Firth-Korrektur für quasi-komplette Separation im logistischen Regressionsmodell in der ersten Auswertung, blieb außer der Verwendung der BVD-Vakzine *PregSure® BVD* ($p < 0,001$; OR: 703; 95 % KI: 88 – 5634) kein Faktor signifikant, auch nicht die Verfütterung von *Leinmehl*.

Die Ergebnisse der multivariablen logistischen Regression unter Ausschluss der beiden Variablen *BVD-Impfung* und Verwendung des Impfstoffs *PregSure® BVD* werden in Tabelle 5 dargestellt. Dabei wurden die Faktoren *andere Tierarten* auf

dem Betrieb und der *Zukauf von Rindern* von der multivariablen logistischen Regression ausgeschlossen, da sie nur selten genannt wurden (< 10 %). Ebenso wurden die Variablen *Rasse*, Fütterung der Kühe mit *Heu* und *Grassilage* und *freier Zugang zu Wasser* für die Kälber ausgeschlossen, da diese sowohl in Fallbetrieben, als auch in Kontrollbetrieben sehr häufig genannt wurden (**Tabelle 2 und Tabelle 3**).

Tabelle 5. Ergebnisse der schrittweisen logistischen Regression im Vergleich Fallbetriebe (n=56) gegen Kontrollbetriebe der ersten Gruppe (n=50) ohne Einbeziehung von PregSure® BVD-Vakzine.

Parameter	Signifikanz (p)	OR	95 % Konfidenzintervall
Verfütterung von Gerste an Kühe	0,046	0,319	0,104 - 0,982
Verwendung von Dippmitteln	0,002	0,148	0,045 - 0,483
Halmverkürzer	<0,001	0,052	0,015 - 0,187
Respiratorische Gesundheitsprobleme bei Kälbern*	0,021	4,556	1,26 - 16,43
Mutterschutzimpfung*	0,002	6,283	1,99 - 19,84

*Risikofaktoren ($OR > 1$)

Mögliche Zwei-Weg-Wechselwirkungen waren nicht signifikant. Signifikante Korrelationen gab es zwischen der Verwendung des Impfstoffs *PregSure® BVD* und allen Faktoren, die in diesem logistischen Regressionsmodell übrig blieben: *Kälberkrankheiten/Bronchopneumonie*: $p=0,042$; *Mutterschutzimpfung* bei den Kühen: $p=0,012$; Fütterung von *Gerste*: $p=0,013$; die Verwendung von *Halmverkürzern*: $p<0,001$ und regelmäßige Anwendung von *Dippmitteln*: $p=0,007$.

Der Zusammenhang zwischen *PregSure® BVD-Vakzine* und dem Auftreten von BNP (Fälle/Kontrollen) wurde für jeden dieser signifikanten Faktoren korrigiert und ein angepasstes Odds Ratio berechnet (**Abbildung 2**).

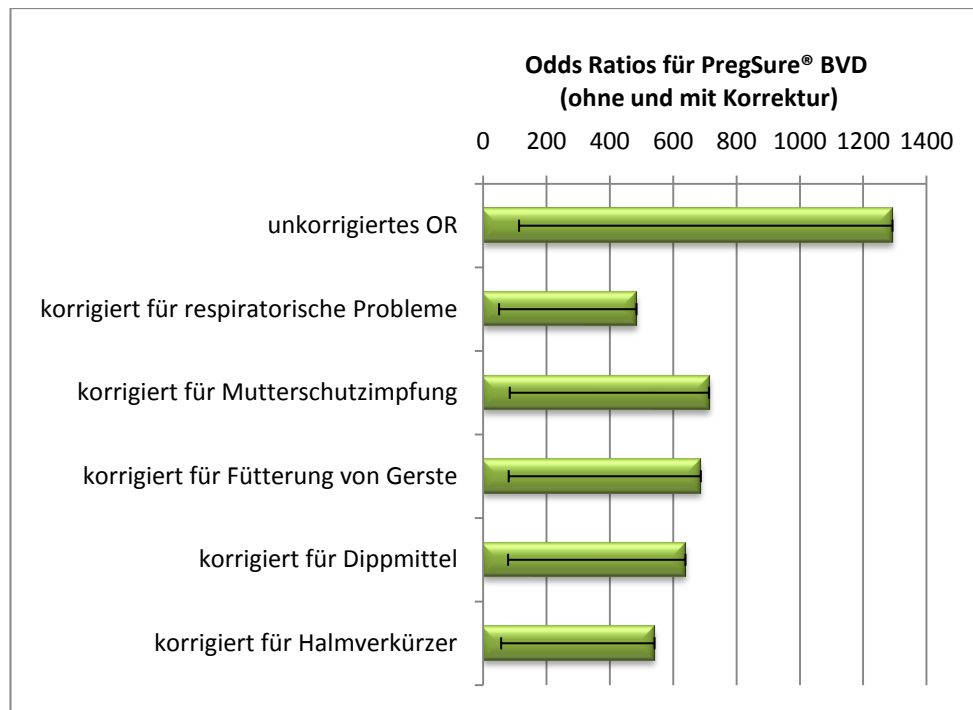


Abbildung 2. Odds Ratios für PregSure® BVD-Vakzine ohne Korrektur und mit Korrektur nach Mantel-Haenszel für verschiedene Faktoren. (Die horizontalen Linien stellen die untere Grenze des 95 % Konfidenzintervall dar.)

In einem weiteren logistischen Regressionsmodell wurden die Parameter bestimmt, die in Zusammenhang mit der Verwendung von PregSure® BVD-Vakzine stehen (**Tabelle 6**).

Tabelle 6. Ergebnisse der schrittweisen logistischen Regression der Faktoren, die mit der Verwendung von PregSure® BVD-Vakzine zusammenhängen (n=106 Betriebe, davon 56 Fallbetriebe und 50 Kontrollbetriebe der ersten Gruppe).

Parameter	Signifikanz (p)	OR	95 % Konfidenzintervall
Verfütterung von Gerste an Kühe	0,023	0,274	0,090 – 0,836
Verwendung von Dippmitteln	<0,001	0,148	0,048 - 0,451
Halmverkürzer	<0,001	0,073	0,022 - 0,241
zusätzliche Elektrolyt-Tränken bei Durchfall*	0,046	3,187	1,021 - 9,949
Mutterschutzimpfung*	0,001	6,098	2,014 – 18,466

*Risikofaktoren (OR>1)

Im Vergleich der Fallgruppe (n=56) mit der zweiten Kontrollgruppe (n=50) konnte eine konditionelle logistische Regression nicht durchgeführt werden, da das Modell für viele Parameter nicht konvergierte. In die nicht-konditionelle schrittweise logistische Regression wurden einige Parameter nicht mit eingeschlossen, da sie nur selten genannt wurden. Dies waren *Zukäufe von Rindern, Kälberprobleme/Trinkschwäche*, Anwendung von *Schluckimpfungen* oder *Kolostrumersatzpräparaten* bei Kälbern und die Verwendung von *Kalzium-Boli* bei Kühen. Andere Faktoren wurden zumeist in allen Betrieben verwendet. Solche Faktoren waren Fütterung der *Kälber* mit *Vollmilch* oder *Heu* und Fütterung der *Kühe* mit *Heu* oder *Maissilage*.

Die Auswertung der nicht-konditionellen logistischen Regression unter Einschluss von *PregSure® BVD-Vakzine* ergab Signifikanzen für fünf Parameter (**Tabelle 7**). Eine Korrektur nach Firth war nicht notwendig. Sowohl die Anwendung von *PregSure® BVD-Vakzine*, als auch die Verwendung von *sonstigen regelmäßigen Behandlungen* (z.B. Entwurmungen, Pour-on Präparate, Impfung gegen Kälbergrippe) stellten Risikofaktoren dar, wobei das Odds Ratio von *PregSure® BVD-Vakzine* um das Vielfache höher war als jenes von *anderen prophylaktischen Maßnahmen*. Die Gabe von *Vitamin E und Selen* (6/56 vs. 12/50), als auch die häufige Verwendung von *Mastitis-Euterinjektoren* (30/56 und 46/50) und die Anwendung von *Halmverkürzern* (12/56 und 37/50) stellten „protektive“ Faktoren für das Vorhandensein von BNP dar.

Tabelle 7. Ergebnisse der schrittweisen logistischen Regression im Vergleich Fallbetriebe (n=56) gegen Kontrollbetriebe der zweiten Gruppe (n=50).

Parameter	Signifikanz (p)	OR	95 % Konfidenzintervall
Gabe von Vitamin E /Selen	0,040	0,113	0,014 – 0,905
häufige Verwendung von Mastitis-Euterinjektoren	0,009	0,032	0,002 – 0,421
Halmverkürzer	0,004	0,083	0,015 – 0,448
sonstige regelmäßige Behandlungen (z.B. Parasitenbekämpfung, Impfung gegen Kälbergrippe)*	0,027	14,29	1,35 – 151,87
Verwendung von PregSure® BVD-Vakzine*	<0,001	425,80	19,94 – 9095,36

*Risikofaktoren (OR>1)

Die Ergebnisse eines nicht-konditionellen Modells unter Verwendung oben genannter signifikanter Faktoren (**Tabelle 7**) - außer dem Faktor *PregSure® BVD-Vakzine* – und eines konditionellen Modells derselben Faktoren sind in **Tabelle 8** gegenübergestellt.

Die Werte der Signifikanzen der einzelnen Faktoren und die erhaltenen Odds Ratios aus beiden Modellen weichen wenig voneinander ab.

In dem logistischen Regressionsmodell mit *PregSure® BVD-Vakzine* gab es keine signifikanten Interaktionen. Die Anwendung von *PregSure® BVD-Vakzine* korrelierte mit verschiedenen Faktoren (**Tabelle 9**).

Tabelle 8. Vergleich der Ergebnisse einer nicht-konditionellen und einer konditionellen logistischen Regression von Fallbetrieben (n=56) mit den Kontrollbetrieben der zweiten Gruppe (n=50) unter Ausschluss von PregSure® BVD-Vakzine.

Parameter	Nicht-konditionelles Modell		Konditionelles Modell	
	Signifikanz (p)	OR (95 % KI)	Signifikanz (p)	OR (95 % KI)
Gabe von Vitamin E /Selen	0,082	0,248 (0,051 – 1,191)	0,081	0,118 (0,011 – 1,299)
häufige Verwendung von Mastitis-Euterinjektoren	<0,001	0,083 (0,020 – 0,351)	0,009	0,089 (0,014 – 0,551)
Halmverkürzer	<0,001	0,090 (0,029 – 0,276)	0,006	0,151 (0,039 – 0,587)
andere regelmäßige Behandlungen (z.B. Parasitenbekämpfung, Grippeimpfung)*	0,002	11,121 (2,362 – 52,363)	0,012	13,140 (1,751 – 98,623)

*Risikofaktoren (OR>1)

Tabelle 9. Ergebnisse der schrittweisen logistischen Regression der Faktoren, die mit der Verwendung von PregSure® BVD-Vakzine zusammenhängen (n=106 Betriebe, davon 56 Fallbetriebe und 50 Kontrollbetriebe der zweiten Gruppe.)

Parameter	Signifikanz (p)	OR	95 % Konfidenzintervall
häufige Verwendung von Mastitis-Euterinjektoren	0,007	0,146	0,036 – 0,592
Haltung der Kühe im Laufstall	0,002	0,145	0,042 – 0,499
Halmverkürzer	<0,001	0,088	0,027 – 0,288
Fütterung von Zuckerrübenschnitzeln*	0,041	4,36	1,06 – 17,89
Mutterschutzimpfung*	0,001	8,67	2,36 – 31,87

*Risikofaktoren (OR>1)

5 Diskussion

5.1 Auswahl der Fallbetriebe

Ein Fallbetrieb wird durch das Auftreten mindestens eines bestätigten BNP-Falles definiert. Ein möglicher Zusammenhang zwischen der Vakzine *PregSure® BVD* und dem Auftreten der BNP wurde in der landwirtschaftlichen Presse (AGRARHEUTE.COM, 2009) schon seit einiger Zeit diskutiert. Dies könnte die Auswahl der Fallbetriebe beeinflussen, da Landwirte, in deren Betrieben *PregSure® BVD* eingesetzt wurde, möglicherweise eher dazu bereit waren, Kälber in die Klinik für Wiederkäuer zu bringen oder Blutproben zu schicken. Auf diese Weise würden die Fälle „offiziell“ dokumentiert, was die Chancen auf mögliche spätere Schadensersatzforderungen erhöhen könnte. Allerdings ist diese Spekulation weit hergeholt, zumal das Thema eines möglichen Schadensersatzes niemals während der Gespräche mit den Landwirten erwähnt wurde. Darüber hinaus wurden viele der Betriebe schon vor dieser Pressemitteilung befragt. Ein Vergleich der Daten von Kälbern und Management der für die Fall-Kontroll-Studie ausgewählten Fallbetriebe mit verfügbaren Daten anderer BNP-Fallbetriebe in der Datenbank zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied. Daher ist davon auszugehen, dass kein Bias entstand.

5.2 Auswahl der Kontrollbetriebe

Die Auswahl der Kontrollbetriebe war mit einer gewissen Unsicherheit verbunden, da es möglich war, dass BNP-Fälle in subklinischer Form oder als ungeklärte Todesfälle auftraten. Des Weiteren konnte in jedem als Kontrolle definierten Betrieb zu einem späteren Zeitpunkt nach dem Interview ein BNP-Fall aufgetreten sein. Aus einer anderen Studie (Publikation in Vorbereitung) ging hervor, dass aus einigen Tierarztpraxen viele BNP-Fälle gemeldet wurden, wohingegen aus direkt benachbarten Praxen keine Fälle bekannt waren. Allerdings können viele Fälle unbekannt geblieben sein, da BNP keine melde- oder anzeigepflichtige Erkrankung ist. Deswegen wurden zwei Gruppen von Kontrollbetrieben ausgewählt. Die erste Gruppe (n=50) wurde aus Praxen ausgewählt, die bis zu diesem Zeitpunkt keine BNP-Fälle in den von ihnen

betreuten Betrieben beobachtet hatten. Daher war die Wahrscheinlichkeit hoch, dass es sich bei diesen Betrieben tatsächlich um Betriebe ohne BNP handelte. Da möglicherweise die Tierarztpraxis einen beeinflussenden Effekt besaß, wurde eine zweite Gruppe von Kontrollbetrieben zufällig aus den Praxen ausgewählt, unter deren Klientel BNP-Fälle aufgetreten waren, um eine mögliche regionale Beeinflussung auszuschließen. Aus den oben beschriebenen Gründen kann allerdings das Risiko, irrtümlicherweise als Kontrollbetrieb eingestuft zu werden, bei der zweiten Gruppe größer sein. Die zufällige Auswahl der Kontrollbetriebe sollte die mögliche Beeinflussung der Auswahl, insbesondere der zweiten Gruppe, durch Tierärzte reduzieren. Da einige Tierärzte die Beteiligung einer bestimmten Vakzine am Krankheitsgeschehen vermuteten, könnten sie deshalb nicht-impfende Betriebe ausgewählt haben. Es gab keinen Unterschied im Anteil von BVD-Impfbetrieben zwischen der ersten Kontrollgruppe (n=16/50) und der zweiten Kontrollgruppe (n=17/50). Somit ist davon auszugehen, dass die Auswahl der Kontrollbetriebe nicht beeinflusst wurde.

5.3 Datenerhebung

Ein möglicher Bias könnte sich bei den Interviews ergeben haben. Allerdings wurden alle Interviewer angewiesen, Suggestivfragen zu vermeiden. Sieben Betriebsleiter/innen waren aus unbekanntem Gründen oder aus Zeitmangel nicht bereit, an der Befragung teilzunehmen. Falls diese unbekanntem Gründe in einem möglichen Zusammenhang mit der Entstehung der Krankheit standen, könnten sie sich auf das Ergebnis der Auswertung ausgewirkt haben. Da sich aber die Angaben der teilnehmenden Betriebe in Bezug auf verschiedene prophylaktische Maßnahmen oder andere Faktoren erheblich unterschieden, schien es unwahrscheinlich, dass diese geringe Anzahl der nicht teilnehmenden Betriebe (insgesamt sieben Betriebe) einen Einfluss auf die Auswertung hatte. Allerdings konnte eine mögliche Verzerrung der Ergebnisse durch einen sogenannten „recall bias“ nicht vollständig ausgeschlossen werden. Im Allgemeinen wurden die Daten der letzten zwei Jahre erhoben. Allerdings wurden einige Daten, wie Angaben zu Impfungen, über den Zeitraum der letzten fünf Jahre erhoben. Es waren jedoch keine Informationen über Einzeltierimpfungen verfügbar, da bei Impfungen keine Pflicht zur Dokumentation herrscht, die eine genaue Zuordnung von Impfstoff und Zeitpunkt zum Einzeltier ermöglicht hätte. Aus diesem Grund war es

möglich, dass Betriebe Impfstoffe zu früheren Zeitpunkten (vor Markteinführung von PregSure® BVD) verwendeten, die Leiter sich aber nicht daran erinnerten, oder sich an die Produktnamen der verwendeten Impfstoffe nicht erinnern konnten. Jedoch sind in der Datenbank viele Kommentare der Landwirte enthalten, die aussagen, dass sie gewisse Impfungen und andere prophylaktische Maßnahmen vor mehr als fünf Jahren durchgeführt haben. Veränderte Erfassungsgüte („recall bias“) war eher möglich bei spezifischen Details über betroffene Kälber als über die Tatsache, ob Fälle aufgetreten waren oder nicht. Daraus wird geschlossen, dass solch ein recall bias, falls er denn auftrat, keine Auswirkungen auf die Ergebnisse der Studie hatte.

5.4 Auswertungen

Die Auswertung der Daten wurde dadurch erschwert, dass sehr viele Parameter in dem Fragebogen enthalten waren und die Stichprobenzahl sowohl der Fall- als auch der Kontrollbetriebe im Verhältnis dazu sehr viel geringer war. Bei der Auswertung der zweiten Kontrollgruppe konvergierten die konditionellen Modelle einiger Parameter nicht, da Nullzellen in den Kreuztabellen enthalten waren. Diese kamen dadurch zustande, dass einige Kombinationen zwischen Fall- und Kontrollbetrieben nicht vorhanden waren, wie z.B. die Kombination, dass ein Kontrollbetrieb PregSure® BVD-Vakzine einsetzte, aber der dazu gepaarte Fallbetrieb nicht. Aus diesem Grund wurde eine univariate nicht-bedingte Auswertung ohne Rücksicht auf das Matching durchgeführt.

5.4.1 Ergebnisse der einfaktoriellen univariaten Auswertung

In der univariaten Analyse beider Auswertungen ergab sich als Faktor mit dem höchsten Odds Ratio der Impfstoff PregSure® BVD. In 55 der 56 Fallbetriebe, aber nur in zwei der 50 Kontrollbetriebe der ersten Gruppe und in 13 der 50 zweiten Kontrollbetriebe wurde diese Vakzine eingesetzt. Somit ergab sich aus der zweiten Auswertung ein sehr viel geringeres Odds Ratio als in der ersten. Das ist nicht überraschend, da Tierarztpraxen aus logistischen und wirtschaftlichen Gründen meist nur einen BVD-Impfstoff verwenden.

Andere Parameter, die in der univariaten Auswertung signifikante Risikofaktoren darstellten, waren Fütterung von *Leinmehl*, *Zuckerrübenschnitzeln* und *Heu* in der

Kuhration. Auffallend war, dass alle drei Parameter jeweils nur in der ersten Auswertung (56 Fallbetriebe im Vergleich mit den 50 Kontrollbetrieben der ersten Gruppe) signifikante Werte ergaben, nicht jedoch in der zweiten (56 Fallbetriebe im Vergleich mit den 50 Kontrollbetrieben der zweiten Gruppe). Der größte Unterschied ergab sich bei der Fütterung von *Leinmehl* zwischen den beiden Kontrollgruppen. In zehn der Fallbetriebe wurde *Leinmehl* gefüttert, in keinem Betrieb aus der ersten Kontrollgruppe und in zehn Betrieben aus der zweiten Kontrollgruppe. Daraus ergab sich in der ersten Auswertung ein p-Wert von 0,001, in der zweiten war dieser Parameter nicht mehr signifikant ($p=0,778$). Da Fallbetriebe und die zweite Gruppe der Kontrollbetriebe aus der jeweils gleichen Tierarztpraxis stammten, herrschten somit auch gleiche regionale Bedingungen, was möglicherweise ein Grund der ähnlichen Fütterung war.

Die Aussage mancher praktizierender Tierärzte, dass BNP vor allem in besser geführten Betrieben aufgetreten ist, könnte durch den Befund gestützt werden, dass Prophylaxemaßnahmen wie der Einsatz von *Propylenglykol* zur Ketoseprophylaxe, sowie *Mutterschutzimpfung*, *andere regelmäßige Behandlungen* (z. B. Grippeimpfung beim Kalb, Entwurmungen) und *Impfung gegen BVD* häufiger in Fallbetrieben durchgeführt wurden.

Auch bei den Kälbern wurden häufiger *Kolostrumersatz- oder Ergänzungspräparate* und *Halofuginon* als Durchfallprophylaxe eingesetzt. Der Einsatz von *Halofuginon* kann alleine genommen nicht beurteilt werden, aber im Zusammenhang mit der häufigeren Anwendung anderer prophylaktischer Maßnahmen in Fallbetrieben könnte dies wiederum Rückschlüsse auf die Qualität des Betriebsmanagements zulassen und darauf hinweisen, dass die Leiter dieser Betriebe bereit sind Investitionen im Bereich der Tiergesundheit zu tätigen.

Allerdings war die Häufigkeit von *Kälberkrankheiten wie Bronchopneumonie oder Durchfallerkrankungen* in Fallbetrieben größer als in Kontrollbetrieben. Daraus könnte sich auch eine Erklärung für den Einsatz von *Kolostrumersatz- oder Ergänzungspräparaten* und *Halofuginon* ergeben. Dabei könnte man darüber spekulieren, ob in Betrieben, in denen das Krankheitsgeschehen BNP beobachtet wurde, eventuell weitere Kälber, die nicht unmittelbar durch klinische Symptome auffällig wurden, trotzdem subklinisch erkrankten und dies eine deutliche Schwächung der Immunität solcher Tiere zur Folge hat. Somit wären solche Tiere deutlich anfälliger für Neugeborenenenerkrankungen. Dies kann nicht geklärt

werden, da im Fragebogen nicht gefragt wurde, ob sich die Kälbergesundheit durch das Auftreten von BNP verändert hat.

Protektive Faktoren, also solche Parameter, die häufiger in Kontroll- als in Fallbetrieben eingesetzt wurden oder vorkamen, waren die *Anzahl der Jungtiere*, *Zukauf von Rindern* und *Haltung der Kühe im Laufstall*.

Die durchschnittliche *Anzahl von Jungtieren* ist in Kontrollbetrieben höher als in Fallbetrieben. Man kann darüber spekulieren, ob Betriebe mit höherer Remontierungsrate eine relativ höhere Anzahl an Jungtieren halten. Aus diesem Grund könnte die Kuhherde im Durchschnitt jünger sein und jüngere Kühe könnten wiederum nicht so häufig geimpft worden sein.

Dafür sprach wiederum, dass in diesen Betrieben weniger *Tiere zugekauft* wurden als in Kontrollbetrieben. Ein Betrieb mit Tierstapel von hohem züchterischem Wert achtete eventuell mehr auf geschlossene Betriebsstrukturen. Die Kühe in Fallbetrieben werden häufiger in Anbindehaltung aufgestallt. Allerdings gab es hierfür keine plausible Erklärung, da es keinen Zusammenhang zwischen der Aufstallung der Kühe und dem Gesundheitsstatus des Betriebs zu geben schien.

Des Weiteren wurde den Kühen in Kontrollbetrieben häufiger *Gerste* oder *Raps* gefüttert und sie hatten häufiger Zugang zu *Stroh*. *Halmverkürzer* wurden in Kontrollbetrieben häufiger eingesetzt als in Fallbetrieben. In der Untersuchung vorausgegangenen Diskussionen war die Vermutung geäußert worden, dass die Verwendung von *Halmverkürzern* (z.B. Chlorcholinchlorid, CCC) mit dem Krankheitsgeschehen in irgendeiner Weise in Zusammenhang stehen könnte. In jedem Fall wird in dieser Studie die Hypothese einer Beteiligung sowohl von *Halmverkürzern* als auch von *Raps*, *Gerste* und *Stroh* am Krankheitsgeschehen widerlegt, da all diese Faktoren häufiger in Kontrollbetrieben als in Fallbetrieben verwendet werden.

Bei der Kälberfütterung ergaben sich für die Parameter *Heu* und *Wasser zur freien Verfügung* zwar in der univariaten Auswertung (nur in der ersten Analyse) statistisch signifikante Werte, allerdings kann auf deren weitere Auswertung verzichtet werden, da nur in einzelnen Fällen den Kälbern kein *Heu* gefüttert und ihnen *Wasser* nicht *frei zur Verfügung* gestellt wurde.

Die Verwendung von *Dippmitteln* und *Mastitis-Euterinjektoren* stellte weitere protektive Faktoren dar. Hierfür bietet sich keine plausible Erklärung an.

5.4.2 Andere Faktoren, die Blutungsneigung auslösen können

Die Häufung von BNP-Fällen und die ersten Fälle von Blauzungenkrankheit (Bluetongue disease, BT) traten in Deutschland ungefähr zur gleichen Zeit auf. Diese zeitliche Beziehung zwischen BNP und BT und die darauf folgende Pflichtimpfung gegen BT ließ einen möglichen kausalen Zusammenhang vermuten. Allerdings wurden viele BNP-Fälle vor dem Beginn der Pflichtimpfung gegen BT gemeldet. Des Weiteren wurden zu Beginn der Studie alle bis dahin eingelieferte Patienten und ihre Mütter, sowie Blutproben von BNP-Kälbern und deren Müttern auf Blue-Tongue Virus und Antikörper untersucht. Das Ergebnis war in allen Fällen negativ. Dadurch kann ein Zusammenhang sowohl mit der Infektion als auch mit der Impfung gegen BT ausgeschlossen werden.

Wie in der Literaturübersicht beschrieben gibt es eine Reihe von Faktoren, die mit dem Auftreten von Blutungsneigung in Verbindung gebracht wurden. Aus diesem Grund wurden solche Faktoren mit in den Fragebogen aufgenommen. Allerdings ergab sich für keinen der nachfolgend aufgeführten Parameter ein signifikantes Ergebnis. Sie können aufgrund der eigenen Untersuchungen hinreichend sicher als Ursache für BNP ausgeschlossen werden:

Es gibt keinen Hinweis darauf, dass Erbkrankheiten, wie die Faktor XI-Defizienz (STÖBER, 2006c), die „Simmental hereditary thrombopathy“ (STEFICEK et al., 1993) oder das Chédiak-Higashi Syndrom (SHIRAISHI et al., 2002) die Ursache für dieses Blutungsgeschehen sind. Auch eine plötzliche massive Häufung von Fällen mit Thrombozytopenischer Purpura (HANDIN, 2005) ist unwahrscheinlich.

Vergiftungen mit echtem und weißem Steinklee (STAUFENBIEL, 2006) oder Adlerfarn (HIRONO et al., 1984; ALONSO-AMELOT et al., 1996; STÖBER, 2006d, 2006b) können als Ursache so gut wie ausgeschlossen werden. Im Fragebogen wurde explizit nach diesen Pflanzen gefragt, aber nur in ein paar Betrieben (Fallbetriebe 3/56; Kontrollbetriebe 5/100) wurde die Möglichkeit eingeräumt, dass ein Zugang zu diesen Pflanzen nicht ausgeschlossen werden könne. Darüber hinaus hätten diese schädlichen Agentien über einen längeren

Zeitraum aufgenommen werden müssen. Weiterhin spricht gegen diese Hypothese, dass die Rinder in nur wenigen Fall- und Kontrollbetrieben Weidegang hatten. Auch hatten die Tiere in keinem Fall- oder Kontrollbetrieb Zugang zu Rodentiziden (STÖBER, 2006b), wodurch diese als potentielle Ursache ebenfalls ausscheiden.

Eine Häufung von Blutungsneigung aufgrund von Vergiftung nach Überdosierung von Medikamenten wie Chloramphenicol (JORNA und POSTEMA, 1986), Furazolidon (HOFMANN, 1972; HOFFMANN-FEZER et al., 1974; HOFMANN et al., 1974; ALLEN et al., 1993), nichtsteroidalen Antiphlogistika (YOUNG, 2005) und Sulfonamiden (AMMANN et al., 1996; YOUNG, 2005) ist ebenfalls nicht wahrscheinlich. Nach dem Einsatz von Chloramphenicol und Furazolidon wurde nicht explizit gefragt, aber es ist nicht anzunehmen, dass in der letzten Zeit gehäuft in Betrieben Medikamente eingesetzt wurden, deren Einsatz schon seit 1994 bzw. 1995 (KROKER, 2006a) für Lebensmittel liefernde Tiere verboten ist. Darüber hinaus ist davon auszugehen, dass bei gegebenenfalls illegaler Anwendung eine wahrheitsgemäße Antwort nicht zu erwarten gewesen wäre. Auch die Strahlenkrankheit, Tumorerkrankungen, zytostatische Chemotherapeutika und Trichloräthylen-extrahierter Sojaschrot können als Ursache ausgeschlossen werden. Sojaschrot wird schon seit langer Zeit nicht mehr mit Trichloräthylen extrahiert (STÖBER, 2006c), weswegen dies als Ursache für BNP nicht in Frage kommt. Es ist schier unmöglich, dass Kälber in dieser großen Anzahl mit Röntgenstrahlen oder radioaktiver Strahlung in Berührung kamen und auch Tumorerkrankungen sind bei Kälbern höchst unwahrscheinlich.

Auch wenn in der Literatur immer wieder von Einzelfällen mit Blutungsneigung durch Thrombozytopenie aufgrund Knochenmarkschädigung unbekannter Ursache berichtet wurde (SHIMADA et al., 2007; BRAUN et al., 2008; FRIEDRICH et al., 2009b; FUKUNAKA et al., 2010) und die Symptome und Befunde der BNP den früher beschriebenen Fällen sehr ähnlich sind, handelt es sich in Anbetracht des massiven Anstiegs der Zahl von BNP-Kälbern nicht mehr um Einzelfälle unbekannter Ursache und für dieses Krankheitsgeschehen muss es eine Erklärung geben.

5.4.3 Ergebnisse der mehrfaktoriellen univariaten Auswertung

Die multivariable Auswertung hatte zum Ziel, diese zuvor identifizierten Faktoren gemeinsam zu bewerten. Allerdings führte die Einbeziehung des Impfstoffs *PregSure® BVD* in der ersten Auswertung zu einer „quasi-kompletten Separation“ in der logistischen Regression. Separation entsteht oft bei geringen Anzahlen von Fall- und Kontrollbetrieben, zahlreichen Variablen und einzelnen Variablen mit extremem Vorhersagewerten (HEINZE und SCHEMPER, 2002). Es gibt Verfahren, welche die Maximum-Likelihood für solche Separationen korrigieren, wie z.B. die Korrektur nach Firth (WEBB et al., 2004). Selbst mit dieser Korrektur blieb in der logistischen Regression jedoch nur ein Parameter übrig, die Verwendung von *PregSure® BVD-Vakzine*, mit einem sehr hohen Odds Ratio (OR = 1293).

Wurde *PregSure® BVD-Vakzine* zur Identifizierung weiterer Risikofaktoren nicht in die Auswertung mit eingeschlossen, ergaben sich zwei signifikante Parameter als Risikofaktoren: Die bei *Kälbern* in Fallbetrieben häufiger auftretenden *respiratorischen Probleme* (19/56 Fall- und 6/50 Kontrollbetriebe) und der häufigere Einsatz von *Mutterschutzimpfungen* (32/56 Fall- und 17/50 Kontrollbetriebe) in solchen Betrieben. Als Faktoren mit negativer Korrelation zu dem Auftreten von BNP blieben die Anwendung von *Dippmitteln* (14/56 vs. 24/50), Fütterung von *Gerste* (32/56 vs. 39/50) und Verwendung von *Halmverkürzern* (12/56 vs. 33/50) übrig, die in Fallbetrieben weniger häufig eingesetzt wurden.

Wenn nun die Anwendung von *PregSure® BVD-Vakzine* mit solchen Faktoren korrelierte, ist es möglich, dass diese zu einem Confounding-Effekt führen. Mit Hilfe von Mantel-Haenszel-korrigierten Odds Ratios konnten für *PregSure® BVD-Vakzine* angepasste Odds Ratios erhalten werden, die für mögliche Confounding-Effekte solcher Parameter korrigiert wurden (DOHOO et al., 2003). Dabei ergaben sich Odds Ratios von 485 bis 714, welche also wesentlich niedriger waren als das univariate Odds Ratio.

Konditionelle logistische Regressionsmodelle wären das Mittel der Wahl bei einer Kontrollgruppe, die durch Matching selektiert wurde. Mittels Matching sollte eine Kontrolle für Confoundereffekte erreicht werden (GEFELLER et al., 1997). Allerdings kam es zu keiner mathematischen Lösung dieser Modelle für viele

Parameter, weshalb eine nicht-bedingte logistische Regression durchgeführt wurde. Wie aus dem Vergleich der Ergebnisse einer konditionellen mit denen einer nicht-konditionellen logistischen Regression unter Berücksichtigung derselben Faktoren ersichtlich ist, wurden durch die Wahl eines nicht-konditionellen Modells keine erheblichen Verzerrungen induziert.

Nachdem die Anwendung von *PregSure® BVD-Vakzine* in der zweiten Kontrollgruppe häufiger war als in der ersten (13 von 50 gegenüber 2 von 50 in der ersten Kontrollgruppe), kam es zu keiner quasi-kompletten Separation, weshalb eine Korrektur nach Firth nicht nötig war. Von den zuvor diskutierten Risikofaktoren der univariaten Auswertung blieben nur die Anwendungen von *PregSure® BVD-Vakzine* und *andere regelmäßige Behandlungen* übrig. Als protektive Faktoren blieben die Anwendung von *Mastitis-Euterinjektoren*, *Halmverkürzern* und Gabe von *Vitamin E/Selen* übrig. Allerdings ist das Ergebnis hinsichtlich des Einsatzes von *Vitamin E/Selen* vorsichtig zu interpretieren, da dieser Faktor in der univariaten Auswertung nicht signifikant war und in der multivariablen Auswertung ein sehr großes Konfidenzintervall zeigte.

Die Verwendung von *PregSure® BVD-Vakzine* hatte das höchste Odds Ratio mit 426. Das bedeutet, dass das Risiko für einen Betrieb, der *PregSure® BVD-Vakzine* einsetzte, 426 mal so hoch war wie für einen Betrieb, der diesen Impfstoff nicht einsetzte. Dieses Odds Ratio in der multivariablen logistischen Regression ist um ein Vielfaches höher als dasjenige aus der univariaten Analyse und mit 426 ähnlich groß wie die korrigierten Odds Ratios im Vergleich mit der ersten Kontrollgruppe.

Somit deuten alle Analysen darauf hin, dass, selbst wenn andere Faktoren in das Modell mit einbezogen werden, der Effekt von *PregSure® BVD-Vakzine* nicht durch diese Faktoren erklärt werden kann. Dieser Faktor war schon früh in den epidemiologischen Untersuchungen vermutet worden, als Betriebsleiter der ersten 20 bis 30 BNP-Kälber, die an die Klinik überwiesen wurden, nach Impfungen befragt wurden und alle diese spezifische Vakzine nannten.

Abschließend kann gefolgert werden, dass die Auswertungen auf eine starke Beteiligung von *PregSure® BVD-Vakzine* bezüglich des Auftretens von BNP in den entsprechenden Betrieben hinweisen. Auch bei anderen Autoren finden sich

ähnliche Ergebnisse (PARDON et al., 2009a). Daten von allen bestätigten BNP-Fällen, die der Klinik gemeldet wurden, bekräftigen diese Vermutung. Bis Juli 2010 wurden 416 Fälle gemeldet, von denen bei 409 Fällen (98,3 %) der Impfstoff *PregSure® BVD* eingesetzt wurde. Entweder waren die Mütter der betroffenen Kälber selbst oder die Kühe, deren Kolostrum die Kälber erhalten hatten, mit diesem Impfstoff immunisiert worden.

Die Daten der vorliegenden Studie waren jedoch nicht ausreichend, um detaillierte Informationen über die verschiedenen Impfschemata, wie z.B. zweifache Grundimmunisierung plus jährlicher Nachimpfung im Gegensatz zu sporadischer Impfung vergleichend auszuwerten. Diese Details müssen in einer weiteren Studie untersucht werden. Die vorliegende Fall-Kontroll-Studie hatte zum Ziel, bestimmte Risikofaktoren zu identifizieren. Das ist gelungen. Die Studie kann keine Aussagen über den Pathomechanismus der Erkrankung liefern.

6 Zusammenfassung

Annette Carlin (2011)

Epidemiologische Untersuchung zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie (BNP). Eine Fall-Kontroll-Studie

In der Klinik für Wiederkäuer der LMU München wurde eine Fall-Kontroll-Studie angefertigt, um Risikofaktoren zu identifizieren, die möglicherweise mit der steigenden Anzahl von Kälbern mit den klinischen Symptomen der Bovinen neonatalen Panzytopenie (BNP) in Zusammenhang stehen. Es wurden die Daten von 56 Milchviehbetrieben, die mindestens einen bestätigten BNP-Fall gemeldet hatten mit zwei Gruppen von jeweils 50 Betrieben, in denen noch kein Fall von BNP aufgetreten war verglichen. Von den Kontrollbetrieben wurden 50 innerhalb der Tierarztpraxis gepaart („Matching“). Es wurden zwei Auswertungen erstellt: 1) Fallbetriebe (n=56) im Vergleich mit der ersten Kontrollgruppe (n=50; zufällig ausgewählt aus Tierarztpraxen ohne BNP-Fälle) und 2) Fallbetriebe (n=56) im Vergleich mit der zweiten Kontrollgruppe (n=50; „matched“ Kontrollbetriebe innerhalb der Tierarztpraxis). Alle Parameter, für die sich in der univariaten Auswertung ein p-Wert $<0,2$ ergeben hatte, wurden in logistische Regressionsmodelle mit schrittweiser Regression und Korrektur nach Firth aufgenommen. Aus der ersten Auswertung ergab sich als einziger Risikofaktor der Einsatz von *PregSure® BVD-Vakzine* mit einem Odds Ratio von 1293 (95 % KI: 114-14708). Als Ergebnis eines logistischen Regressionsmodells, welches unter Ausschluss des Parameters *PregSure® BVD-Vakzine* erstellt worden war, erhielt man fünf signifikante Faktoren. Jede signifikante Variable aus diesem Modell wurde später mittels Mantel-Haenszel-Auswertung auf mögliche Confounder oder Wechselwirkungseffekte zwischen den Faktoren und *PregSure® BVD-Vakzine* bezüglich der Fallzugehörigkeit untersucht. Diese angepassten Odds Ratios für *PregSure® BVD-Vakzine* lagen zwischen 485 und 714. In der zweiten Auswertung konvergierten konditionelle logistische Regressionsmodelle nicht, weshalb nicht-konditionelle logistische Regressionsmodelle angewandt wurden.

Die Auswertung der nicht-konditionellen logistischen Regression ergab Signifikanzen für fünf Parameter, davon stellten drei Parameter protektive Faktoren dar: Die Gabe von *Vitamin E/Selen*, die häufigere Anwendung von *Mastitis-Euterinjektoren* und die Verwendung von *Halmverkürzern* im Getreideanbau. Sowohl die Verwendung von *PregSure® BVD-Vakzine*, als auch die *Anwendung von anderen regelmäßigen Behandlungen* (z.B. Parasitenbekämpfung, Impfung gegen Kälbergrippe) stellten Risikofaktoren für das Auftreten von BNP in Betrieben dar. Für die Anwendung anderer regelmäßiger Behandlungen ergab sich ein Odds Ratio von 14,3 (95 % KI: 1,4-151,9), dagegen ergab sich für die Anwendung von *PregSure® BVD-Vakzine* das höchste Odds Ratio von 426 (95 % KI: 20-9095). Es kann daraus geschlossen werden, dass die Anwendung von *PregSure® BVD-Vakzine* eine starke Beteiligung am Auftreten der BNP in Betrieben hat. Das Ziel der vorliegenden Studie war es, Risikofaktoren zur Entstehung der Krankheit zu identifizieren, was auch gelang. Allerdings kann diese Studie keine Aussagen über den Pathomechanismus dieser Erkrankung liefern.

7 Summary

Annette Carlin (2011)

Epidemiological Investigations on Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP). A Case-Control-Study

A case control study was conducted at the Clinic for Ruminants, LMU Munich to identify possible risk factors associated with the observed increase in numbers of calves showing clinical signs of Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP).

The characteristics of 56 dairy farms with at least one confirmed case of BNP were compared to two sets of 50 dairy farms with no history of BNP, of which 50 farms were matched by veterinary practice. Two analyses were conducted: 1) case farms (n=56) vs. first set of control farms (n=50) and 2) case farms (n=56) vs. second set of control farms (n=50). All parameters with $p < 0.2$ in the univariate analysis were included in logistic regression models with stepwise regression and Firth's correction to account for quasi-complete separation. In the first analysis, only the use of *PregSure® BVD vaccine* was a risk factor with an odds ratio of 1293 (95% CI: 114 - 14708). In a logistic regression without the factor *PregSure® BVD vaccine*, five factors remained in the model. Each significant variable from this model was subsequently subjected to a Mantel-Haenszel analysis to evaluate possible confounding or interaction effects between the variable and *PregSure® BVD vaccine* with respect to the case/control status. These adjusted odds ratios for *PregSure® BVD vaccine* ranged between 485 and 714. In the second analysis, conditional logistic regression models did not converge. Therefore non-conditional logistic regression models were conducted. In the non-conditional analysis five parameters remained in the model, three of which were protective factors: the use of *vitamin E and selenium*, the frequent use of *mastitis tubes*, and the use of *stem growth regulators* in grain production. The use of *PregSure® BVD vaccine* and *other prophylactic measures* such as control of parasites were risk factors for the presence of BNP on farms. Other frequent *interventions resulted* in an odds ratio of 14.3 (95% CI: 1.4 – 151.9), while the use of *PregSure® BVD vaccine* had the highest odds ratio of 426 (95% CI: 20 - 9095). Therefore it can be concluded that the use of *PregSure® BVD vaccine* was

highly associated with the presence of BNP on farms. The present study aimed at identifying risk factors for the disease, which was achieved in this study. However, it did not allow for any conclusions about the pathomechanism for the disease.

8 Literaturverzeichnis

agrarteheute.com. Dossier Blutschwitzer. München/Stuttgart: 2009:
<http://www.agrarheute.com/?redid=29110>. 10.03.2009.

Allen DG, Pringle JK, Smith D. In: Handbook of Veterinary Drugs. Philadelphia (USA): JB Lippincott Company, 1993;

Alonso-Amelot ME, Castillo U, Smith BL, Lauren DR. Bracken ptaquiloside in milk. *Nature* 1996; 382: 587.

Ammann VJ, Fecteau G, Helie P, Desnoyer M, Hebert P, Babkine M. Pancytopenia associated with bone marrow aplasia in a Holstein heifer. *Can Vet J* 1996; 37: 493-5.

Bell CR, Scott PR, Penny CD. Ten Cases of "Bleeding Calf Syndrome" in a Scottish beef herd: Epidemiology. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum, 2009a, Marseille; 5.

Bell CR, Scott PR, Penny CD. Ten cases of "Bleeding Calf Syndrome" in a Scottish beef herd: Clinical signs and haematology, and treatment attempts. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum 2009b, Marseille; 17.

Bell CR, Scott PR, Penny CD. Ten cases of "Bleeding Calf Syndrome" in a Scottish beef herd: Post mortem findings. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum 2009c, Marseille; 21.

Bell CR, Scott PR, Penny CD. Ten cases of "Bleeding Calf Syndrome" in a Scottish beef herd: Investigation into pathogenesis and aetiology. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum 2009d, Marseille; 25.

Braun U, Schmid T, Muggli E, Forster E, Nuss K. Hämorrhagien bei 3 Kälbern infolge Thrombozytopenie. Schweiz Arch Tierheilkd 2008; 150: 553-7.

Brugère-Picoux J. Bleeding disorder in young calves in France. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum 2009, Marseille; 10.

Brüggemann J, Bronsch K, Karg H, Dahme E. Pathophysiologische Studien und klinische Beobachtungen zur Dürener Krankheit. Zbl. Vet.-Med. 1958; 5: 634-64.

Corapi WV, French TW, Dubovi EJ. Severe thrombocytopenia in young calves experimentally infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. J Virol 1989; 63: 3934-43.

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. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum 2009, Marseille; 11-3.

Cross RF. Observations on the bovine hemorrhagic disease caused by trichloroethylene-processed soybean oil meal. J Am Vet Med Assoc 1953; 122: 103-5.

Dohoo IR, Wayne M, Stryhn H. Confounder bias, analytic control and matching. In: Veterinary Epidemiological Research. 2 edn. Charlottetown: University of Prince Edward Island, 2003; 235-71.

Doll K, Moennig V. Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal-Disease-Komplex. In: Innere Medizin und Chirurgie des Rindes 5. edn. Stuttgart: Parey, 2006; 572-81.

Doll K, Wenzel L, König M, Thiel H-J, Reinacher M, Prenger-Beringhoff E, Weiß R, Morit A, Bauer N. Krankheitsverlauf bei Kälbern mit hämorrhagischer Diathese. Vortragszusammenfassung. In: 2. Tagung der Deutschen Buiatrischen

Gesellschaft - DVG 2009, Berlin; 20-2.

Doll K, Wenzel L, König M, Thiel H-J, Reinacher M, Prenger-Beringhoff E, Weiß R, Moritz A, Bauer N. Clinical, haematological and bone marrow findings in calves with haemorrhagic diathesis ("Bleeding Calf Syndrome"). In: Proc. XIth Middle European Buiatrics Congress 2010, Brno

Friedrich A, Rademacher G, Böttcher J, Kappe E, Hafner-Marx A, Weber B, Klee W. Gehäuftes Auftreten von hämorrhagischer Diathese bei Kälbern in süddeutschen Beständen. In: 7. Berlin-Brandenburgischer Rindertag 2008; 71-2.

Friedrich A, Rademacher G, Carlin A, Klee W. Ein aktuelles Problem: gehäuftes Auftreten von hämorrhagischer Diathese bei jungen Kälbern. Klinik und Epidemiologie. Vortragszusammenfassung. In: 2. Tagung der Deutschen Buiatrischen Gesellschaft - DVG 2009a, Berlin; 17-9.

Friedrich A, Rademacher G, Weber BK, Kappe EC, Carlin A, Assad A, Sauter-Louis C, Hafner-Marx M, Büttner M, Böttcher J, Klee W. Gehäuftes Auftreten von hämorrhagischer Diathese infolge Knochenmarkschädigung bei jungen Kälbern. Tierärztl. Umschau 2009b; 64: 423-31.

Friedrich A, Carlin A, Assad A, Sauter-Louis C, Rademacher G, Klee W. Increase in the incidence of a bleeding disorder in young calves: Epidemiological data from Germany. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum 2009c, Marseille; 15-6.

Friedrich A, Büttner M, Weber BK, Müller M, Carlin A, Assad A, Schumann D, Rademacher G, Sauter-Louis C, Hafner-Marx A, Klee W. Clinical signs of Bovine Neonatal Pancytopenia (Bleeding Calf Syndrome) and experimental production of the disease. In: Proc. XIth Middle European Buiatrics Congress 2010, Brno; 15.

Fukunaka M, Toyoda Y, Kobayashi Y, Furuoka H, Inokuma H. Bone Marrow

Aplasia with Pancytopenia and Hemorrhage in a Japanese Black Calf. *J Vet Med Sci* 2010; 72: 1655-6.

Gefeller O, Brenner H, Windeler J, Pfahlberg A. Zur Auswahl von Kontrollpersonen in Fall-Kontroll-Studien. *Z. f. Gesundheitswiss.* 1997; 5: 32-41.

Gentile A, Rosignoli C, Pravettoni D, Testoni S, Bettini G, Belloli A. Pancytopenia and haemorrhagic diathesis in calves: Italian experience. In: *Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves"*, *Europ. Buiatrics Forum* 2009, Marseille; 14.

Giese W, Stöber M. Strahlenkrankheit. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes* 5. edn. Stuttgart: Parey, 2006; 1279.

Hamers C, Couvreur B, Dehan P, Letellier C, Lewalle P, Pastoret PP, Kerkhofs P. Differences in Experimental Virulence of Bovine Viral Diarrhoea Viral Strains Isolated from Haemorrhagic Syndromes. *The Veterinary Journal* 2000; 160: 250-8.

Handin RI. Disorders of platelet and vessel wall. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw-Hill, 2005; 673-80.

Harrach B, Bata A, Bajmocy E, Benko M. Isolation of satratoxins from the bedding straw of a sheep flock with fatal stachybotryotoxicosis. *Appl Environ Microbiol* 1983; 45: 1419-22.

Heinze G, Schemper M. A solution to the problem of separation in logistic regression. *Stat Med* 2002; 21: 2409-19.

Hirono I, Kono Y, Takahashi K, Yamada K, Niwa H, Ojika M, Kigoshi H, Niiyama K, Uosaki Y. Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. *Vet Rec* 1984; 115: 375-8.

Hoffmann-Fezer G, Hoffmann R, Hofmann W. Untersuchungen über die chronische Furazolidon-Vergiftung beim Kalb. 2. Verlaufsuntersuchungen am Knochenmark. Dtsch Tierarztl Wochenschr 1974; 81: 59-63.

Hofmann W. Hämorrhagische Diathese beim Kalb infolge chronischer Furazolidon-Vergiftung. Dtsch Tierarztl Wochenschr 1972; 79: 289-92.

Hofmann W, Hoffmann R, Hoffmann-Fezer G. Untersuchungen über die chronische Furazolidon-Vergiftung beim Kalb. 1. Klinische, hämatologische und morphologische Untersuchungen. Dtsch Tierarztl Wochenschr 1974; 81: 53-8.

Hosmer D, Lemeshow S Applied Logistic Regression. 2 edn. Toronto: John Wiley & Sons, 2000;

Johannsen U, Koch F, Mehlhorn G, Panndorf H, Neumeister K. Untersuchungen zur Pathomorphologie und Pathogenese der Strahlenkrankheit des Kalbes und Jungrindes nach Röntgenganzkörperbestrahlung. Arch. exper. Vet.med. 1978; 32: 623-43.

Jorna IP, Postema HJ. [Chloramphenicol at a veal-calf stock farm]. Tijdschr Diergeneeskde 1986; 111: 471-5.

Kappe EC, Halami MY, Schade B, Alex M, Hoffmann D, Gangl A, Meyer K, Dekant W, Schwarz BA, Johne R, Buitkamp J, Böttcher J, Müller H. Bone marrow depletion with haemorrhagic diathesis in calves in Germany: characterization of the disease and preliminary investigations on its aetiology. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2010; 123: 31-41.

Kiyoshi M, Kaoru K, Yukihiro K, Kazuko N, Kiyoshi M, Toshihiro T, Kiwao T, Keiji O. Hemorrhagic disease of calf successively occurred in identical mother cattle. J. Clin. Vet. Med. 2000; 18: 50-4.

Klee W. "Als würden sie Blut schwitzen". Hämorrhagische Diathese bei jungen Kälbern. Deutsches Tierärzteblatt 2009; 57: 612-4.

Kleinbaum G, Kupper L, Nizam A. Applied Regression Analysis and Multivariable Methods. 4 edn Cengage Learning Services, 2007;

Kroker R. Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen. In: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. Stuttgart: Parey, 2006a; 234-78.

Kroker R. Chemotherapie von Tumorerkrankungen. In: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. Stuttgart: Parey, 2006b; 336 ff.

Lock EA, Sani Y, Moore RB, Finkelstein MB, Anders MW, Seawright AA. Bone marrow and renal injury associated with haloalkene cysteine conjugates in calves. Arch Toxicol 1996; 70: 607-19.

Lunn DP, Butler DG. Idiopathic thrombocytopenic purpura in a Holstein bull. Can Vet J 1991; 32: 559-61.

McKinney L, Weakley F, Eldridge A, Campbell R, Cowan J, Picken J, Biester H. S-(1,2-Dichlorovinyl)-L-Cysteine: an agent causing fatal aplastic anaemia in calves. J Am Chem Soc 1957; 79: 3932-3.

Müller K, Weber C, Meyer JM, Gruber A. Monitoring of health and selected parameters of blood biochemistry and haematology in neonates and their dams on farms with bovine haemorrhagic syndrome. In: Europ. Buiatrics Forum 2009, Marseille; 18.

Müller M, Stöber M. Neonatale thrombozytopenische Purpura bei einem schwarzbunten Bullenkalb. Tierärztl. Prax. 1987; 15: 361-4.

Nagelkerke JF, Boogaard PJ. Nephrotoxicity of halogenated alkenyl cysteine-S-conjugates. Life Sci 1991; 49: 1769-76.

Pardon B, De Bleecker K, Steukers L, Dierick J, Saey V, Maes S, Vercauteren G, De Clercq K, Ducatelle R, Deprez P. Neonatal haemorrhagic diathesis in Belgium: Epidemiology. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum 2009a, Marseille; 8-9.

Pardon B, Saey V, Dierick J, Maes S, Vercauteren G, De Clercq K, Ducatelle R, Steukers L, De Bleecker K, Deprez P. Neonatal haemorrhagic diathesis in Belgium: Gross pathology and cytologie of blood and the haematopoetic system. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum 2009b, Maseille; 23-4.

Pardon B, Steukers L, Dierick J, Ducatelle R, Saey V, Maes S, Vercauteren G, De Clercq K, Callens J, De Bleecker K, Deprez P. Haemorrhagic Diathesis in Neonatal Calves: An Emerging Syndrome in Europe. *Transbound Emerg Dis* 2010; 57: 135-46.

Parent-Massin D. Haematotoxicity of trichothecenes. *Toxicol Lett* 2004; 153: 75-81.

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

Sanchez-Miguel C, McElroy M, Walsh E. Bovine neonatal pancytopenia in calves in Ireland. *Vet Rec.* 2010; 166: 664.

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: 1015-25.

Sharma RP. Immunotoxicity of mycotoxins. *J Dairy Sci* 1993; 76: 892-7.

Shimada A, Onozato T, Hoshi E, Togashi Y, Matsui M, Miyake Y, Kobayashi Y,

Furuoka H, Matsui T, Sasaki N, Ishii M, Inokuma H. Pancytopenia with bleeding tendency associated with bone marrow aplasia in a Holstein calf. *J Vet Med Sci* 2007; 69: 1317-9.

Shiraishi M, Ogawa H, Ikeda M, Kawashima S, Ito K. Platelet dysfunction in Chediak-Higashi syndrome-affected cattle. *J Vet Med Sci* 2002; 64: 751-60.

Smolenaars A, J, G., Mars M, H. Epidemiology and diagnostic results of haemorrhagic disease syndrome in The Netherlands. In: Proc. Satellite Symp. "Haemorrhagic Diathesis in Calves", Europ. Buiatrics Forum. 2009, Marseille; 7.

Staufenbiel R. Krankheiten des Blutes; Fütterung-, mangel- oder vergiftungsbedingte Krankheiten des Blutes. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes* 5. edn. Stuttgart: Paray, 2006; 226.

Steficek BA, Thomas JS, Baker JC, Bell TG. Hemorrhagic diathesis associated with a hereditary platelet disorder in Simmental cattle. *J Vet Diagn Invest* 1993; 5: 202-7.

Stöber M. Krankheiten des Blutes; Infektionsbedingte Krankheiten des Blutes. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes* 5. edn. Stuttgart: Parey, 2006a; 214-21.

Stöber M. Krankheiten des Blutes; Fütterungs-, mangel- oder vergiftungsbedingte Krankheiten des Blutes. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes* 5. edn. Stuttgart: Parey, 2006b; 226-52.

Stöber M. Krankheiten des Blutes; Erbliche und andersbedingte Missbildungen des Blutes. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes* 5. edn. Stuttgart: Parey, 2006c; 202-6.

Stöber M. Krankheiten des Knochenmarks. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. Stuttgart: Parey, 2006d; 266-8.

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. *J Vet Diagn Invest* 1999; 11: 505-14.

Webb M, Wilson J, Chong J. An Analysis of Quasi-complete Binary Data with Logistic Models: Applications to Alcohol Abuse Data. *Journal of Data Science* 2004; 2: 273-85.

Weiss DJ, Evanson OA, Sykes J. A retrospective study of canine pancytopenia. *Vet Clin Pathol* 1999; 28: 83-8.

Weisser P, Korte W, Rohr S, Kiossis E, Riesen W, Stolla R. "Hereditäre Thrombozytopathie Simmentaler Rinder" (HTS) beim Deutschen Fleckvieh. *Prakt. Tierarzt* 2010; 91: 236-44.

Willoughby K, Gilray J, Maley M, Dastjerdi A, Steinbach F, Banks M, Scholes S, Howie F, Holliman A, Baird P, McKillen J. Lack of evidence for circovirus involvement in bovine neonatal pancytopenia. *Vet Rec.* 2010; 166: 436-7.

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 diarrhea virus. *Can J Vet Res* 2004; 68: 42-8.

Yates F. Contingency table involving small numbers and the χ^2 test. Supplement to the the *Journal of the Royal Statistical Society* 1934; 1: 217-35.

Young NS. Aplastic anemia, myelodysplasia, and related bone marrow failure syndromes. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine* 16. edn. New York: 2005; 617-26.

9 Anhang: Fragebogen

Fragebogen zur bovinen neonatalen Panzytopenie		
Datum der Abfrage		
Betriebsdaten:	Name	Vorname
Str./H.Nr.		
PLZ/Ort		
Tel.		
Haustierarzt:	Name	Vorname
PLZ/Ort		
Tel.		
Dürfen die Daten für eine eventuelle Meldung weitergegeben werden?		
Ja		
nein		
Tierbestand (bitte Anzahl angeben)		
melkende Kühe	Rasse(n)	bei versch. Rassen- welche betroffen:
Masttiere		
Jungrinder/Kalbinnen		
Kälber		
wurden Kühe zugekauft, insbesondere Mütter von betroffenen Kälbern?		
Kuh/Kühe mehrmals betroffen?		
sonstige Tierarten		
Vorbericht: Wie viele Kälber waren innerhalb der letzten 2 Jahre betroffen? Bitte kurz Krankheitsverlauf schildern		

Aufstallung (Anbindehaltung, Laufstall, Weidegang...)			
Kühe		Weidegang?	
Trockensteher (gleicher Stall?)		Weidegang?	
Kalbinnen (1.Trächtigkeit/ gleicher Stall?)		Weidegang?	
Kälber (Einzelbox, Gruppe...)			
wer betreut Kälber?			
Fütterung Laktierende Kühe (bitte ankreuzen)			
Heu	Weizen	Zuckerrübenschnitzel	
Maissilage	Hafer	Treber	
Grassilage	Gerste	Melasse	
Frisches Gras	Roggen		
Klee	Körnermais		
Luzerne	Soja		
Ackerbohne	Rapsschrot		
Kohlarten	Leinmehl		
Erbsen			
andere			
Falls fertige Kraftfuttermischung, bitte Name/Firma angeben			
Futterzusatzstoffe		Wenn ja, seit wann?	
Propylenglykol			
Propionat			
Rohglycerin			
Silierhilfsmittel			
Halmverkürzer			
andere			
<i>Gab es irgendwelche Veränderungen in letzter Zeit/ vor den ersten Fällen?</i>			
was ist bei trockenstehenden Kühen/Kalbinnen anders?			
Haben die Tiere Zugang zu:	ja	nein	eventuell

Schachtelhalm			
Adlerfarn			
Süßklee			
Fütterung der Kälber			
erste Biestmilchgabe	Menge		
Biestmilch der eigenen Mutter oder von anderer Kuh?			
Tränkeverfahren (Nippelimer, an Kuh,...)			
weitere Fütterung:			
Vollmilch	Menge		
Milchaustauscher	Marke	Dosierung	
Andere Tränken (z.B. Elektrolyttränke, ...)			
Name			
Menge	Zeitpunkt		
alle Kälber? Oder nur z.B. bei Durchfall?			
Kraftfutter			
Kälbermüsli	Name		
Kälberkorn	Name		
Kälberstarter	Name		
Bruch	Name		
seit wann?			
wurde es auch gefressen?			
Heu	Wasser	Stroh	
sonstiges	Leckstein		
"Vorbeuge" (bei Impfungen wenn möglich bitte Impfdaten der letzten 3 Jahre angeben)			
Halocur	ja	nein	
seit wann?			
regelmäßig?			
wann?			
Kolostrumersatz-/ergänzungspräparat	ja	nein	
Name			
seit wann?			

Mutterschutzimpfung	ja	nein
Impfstoff		
seit wann?		
regelmäßig?		
wann?		
Schluckvakzine	ja	nein
Name		
BVD/MD-Impfung	ja	nein
Impfstoff	seit wann?	alle geimpft?
Datum Impfung (der letzten 2 Jahre)		
Grundimmunisierung		
Wiederholung		
wird zu einem bestimmten Zeitpunkt geimpft?		
auch andere Impfstoffe?		
Blauzungen-Impfung	ja	nein
Impfstoff		
Datum Impfung		
Sonstige Prophylaxe		
Prophylaxe bei allen Kühen		
Trockensteller		
Festliegeprophylaxe		
Saure Salze		
Vit E/Selen		
Boli (Spurenelemente)		
Dippmittel		
Antibiotika (Injektionslösung)		
Mastitis (Eutertuben)		
Sterilitäts-/Zystenbeh. (Hormone)		

Sulfonamide			
Kälberprobleme im Bestand	ja	nein	
DF			
Bronchopneumonie/Kälbergrippe			
Nabelerkrankungen			
Trinkschwäche			
andere			
nachgewiesene Erreger			
gehäufte Erkrankungen bei den Kühen/ Rindern ?			
Status des Betriebes	frei	geimpft	unbekannt
BVD-Status			
BHV1-Status			
Blauzunge			
Chlamydien			
Sonstiges			
Desinfektion / Chemikalien	Name	Seit wann?	
Boxen/Iglus der Kälber			
Tränkeimer			
Melkgeschirr			
Melkgeschirr (Kolostrum)			
Insektenbekämpfung			
Nagerbekämpfung			
Kontakte zu Giften möglich?			
Sonstiges			

Angaben zu BNP-Kälbern

1) wurde das Kalb/die Kälber vor dem Auftreten der ersten Blutungsanzeichen behandelt und ist dann z.B. durch Nachbluten aus der Injektionsstelle aufgefallen?

krank

Durchfall		
Fieber		
Grippe		
Trinkschwäche		
Nabelentzündung		
Sonstiges		
2) oder war das Kalb/die Kälber gesund und ist durch die Blutungen aufgefallen?		
gesund		
Blutungsstellen:		
Symptome		
bei BNP-Kälbern wurden welche Symptome festgestellt?		
trinkt schlecht		
Fieber		
Blutung aus intakter Haut		
Blutung nach Injektion/Verletzung		
Blut im Kot		
spontanes Bluten aus Anus		
Petechien Maulschleimhaut/ am Auge/ Nase...		
Auffälliger Mücken-/Fliegenbefall		
Behandlung erkrankter Kälber		
Bluttransfusion		
Antibiotika		
Antiphlogistika		
Vit K		
Vit E/Selen		
Eisen		
Sonstiges		
Behandlung der Mutter während Trächtigkeit		
wogegen?	womit?	wann?

Verlauf bei erkrankten Kälbern (bitte Anzahl angeben)		
überlebt	gestorben	euthanasiert
Sektionsbefund falls ein oder mehrere Kälber in die Sektion gegeben wurden		

Kalb					Mutter			
Ohrmarke	Geburtsdatum	Alter bei Erkrankung	Rasse	Geschlecht	Ohrmarke	x-te Kalbung	Vater Kuh	Vater Kalb

10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. W. Klee für die Überlassung des interessanten Themas und die großzügige Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten am Lehrstuhl bedanken. Sehr herzlich möchte ich mich für die gute, geduldige Betreuung und große Unterstützung vor allem in der Endphase bedanken.

Frau Dr. Annette Friedrich und Herrn Dr. G. Rademacher möchte ich meinen Dank für die Betreuung des Projekts und vor allem stete Hilfsbereitschaft in allen Fragen aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Carola Sauter-Louis für die große Unterstützung sowohl bei allen epidemiologischen und statistischen, als auch bei eigentlich allen anderen Problemen und Fragen. Ihre Fröhliche Begeisterung war beeindruckend.

Der Firma Pfizer Animal Health danke ich für die Finanzierung des Projekts.

Den Landwirten und deren betreuenden Tierarztpraxen möchte ich ganz besonders danken für deren Mithilfe bei diesem Projekt und den geduldigen Auskünften bei teilweise sehr langen Telefonaten.

Ganz herzlich bedanke ich mich auch bei den Pflegern, die jederzeit hilfsbereit zur Stelle waren.

Meinen Mitdotorandinnen Frau Aryan Assad und Frau Frederike Reichmann gilt mein besonderer Dank für die große Hilfe bei der Datenerhebung.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Familie Wapler bedanken. Sowohl bei meinen „ersten Krabbelversuchen“ in der Großtierpraxis, als auch bei allen anderen Belangen hatte ich während der Zeit der Dissertation stets große Unterstützung.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei meiner Familie, die mein großer Rückhalt ist und von der ich in jeder Situation Unterstützung bekam; vor allem Anneli und Jörg danke ich sehr herzlich für den letzten Schliff.

Mein ganz besonderer Dank gilt Thomas, der mir in allen Situationen aufmunternd und unterstützend zur Seite gestanden hat.