

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. G. Knubben-Schweizer

**Fall-Kontroll-Studie auf Betriebs- und  
Tierebene über Bovine Neonatale Panzytopenie  
in Deutschland**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der  
Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Alexander Stoll

aus Augsburg

München 2013

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Gabriela Knubben-Schweizer

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Eckhard Wolf

Tag der Promotion: 20. Juli 2013

Meiner lieben Familie

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>2</b>
<b>1.</b>	<b>Bovines Virusdiarrhoe Virus (BVDV) .....</b>	<b>2</b>
1.1.	Kontrollprogramm in Deutschland.....	3
1.1.1.	Impfung und Impfstoffe .....	3
<b>2.</b>	<b>Bovine Neonatale Panzytopenie (BNP) .....</b>	<b>4</b>
2.1.	Definition .....	4
2.2.	Symptome.....	5
2.3.	Vorkommen.....	6
2.4.	Pathogenese .....	7
2.5.	Risikofaktoren .....	8
2.6.	Blutwerte .....	10
2.7.	Sektionsbefunde .....	10
2.8.	Differentialdiagnosen .....	11
2.9.	Behandlung und Prophylaxe .....	13
<b>III.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>14</b>
<b>1.</b>	<b>Faldefinition.....</b>	<b>14</b>
<b>2.</b>	<b>Fallrekrutierung .....</b>	<b>14</b>
<b>3.</b>	<b>Versuchsdurchführung .....</b>	<b>14</b>
3.1.	Einschlusskriterien .....	15
3.1.1.	Fallbetriebe.....	15
3.1.2.	BNP-Kälber .....	15
3.1.3.	Kontrollkälber .....	15
3.1.4.	Untersuchung der Blutproben der BNP- und Kontrollkälber.....	15
3.1.5.	Kontrollbetriebe .....	16
3.2.	Fragebogen .....	16
3.2.1.	Befragung der Fallbetriebe.....	16
3.2.2.	Befragung der Kontrollbetriebe .....	17
<b>4.</b>	<b>Dateneingabe.....</b>	<b>18</b>
<b>5.</b>	<b>Auswertung der Daten .....</b>	<b>18</b>

---

5.1.	Auswertung der Daten auf Betriebsebene.....	18
5.1.1.	Univariable Auswertung auf Betriebsebene.....	18
5.1.2.	Multivariable Auswertung auf Betriebsebene.....	19
5.2.	Auswertung der Daten auf Tierebene.....	19
5.2.1.	Auswertung der Blutwerte der BNP- und Kontrollkälber.....	19
5.2.2.	Univariable Auswertung auf Tierebene .....	20
5.2.3.	Multivariable Auswertung auf Tierebene .....	20
<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>21</b>
<b>1.</b>	<b>Allgemeine Auswertungen.....</b>	<b>21</b>
1.1.	BNP-Fallbetriebe.....	21
1.2.	BNP-Kälber .....	21
1.3.	Kontrollbetriebe .....	21
1.4.	Kontrollkälber .....	21
<b>2.</b>	<b>Auswertungen auf Betriebsebene .....</b>	<b>21</b>
2.1.	Univariable Auswertung auf Betriebsebene.....	21
2.2.	Multivariable Auswertung auf Betriebsebene.....	33
2.2.1.	Themenblock I - Allgemeine Betriebsdaten.....	33
2.2.2.	Themenblock II - Kolostrummanagement und Milchfütterung .....	34
2.2.3.	Themenblock III - Impfungen .....	35
2.2.4.	Themenblock IV - Routinemäßige Medikamentengaben .....	35
2.2.5.	Themenblock V - BVDV Historie und Impfung.....	35
2.2.6.	Themenblöcke I - V zusammengefasst .....	36
<b>3.</b>	<b>Auswertungen auf Tierebene .....</b>	<b>37</b>
3.1.	Blutwerte der BNP- und Kontrollkälber .....	37
3.2.	Univariable Auswertung auf Tierebene .....	38
3.3.	Multivariable Auswertung auf Tierebene .....	45
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>47</b>
<b>1.</b>	<b>Faldefinition für BNP .....</b>	<b>47</b>
<b>2.</b>	<b>Versuchsdurchführung.....</b>	<b>47</b>
<b>3.</b>	<b>Fallzahlen .....</b>	<b>48</b>
<b>4.</b>	<b>Auswertung.....</b>	<b>49</b>
<b>5.</b>	<b>Ergebnisse auf Betriebsebene.....</b>	<b>49</b>

---

5.1.	Ergebnisse der multivariablen Auswertung auf Betriebsebene.....	49
<b>6.</b>	<b>Ergebnisse auf Tierebene.....</b>	<b>52</b>
6.1.	Ergebnisse der Blutwerte der BNP- und Kontrollkälber.....	52
6.2.	Ergebnisse der multivariablen Auswertung auf Tierebene .....	53
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>55</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>57</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>59</b>
<b>IX.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>66</b>
	<b>BOVINE NEONATALE PANZYTOPENIE FRAGEBOGEN.....</b>	<b>66</b>
<b>X.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>84</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

BNP	Bovine Neonatale Panzytopenie
BPV	Bovines Parvovirus
BRSV	Bovines Respiratorisches Synzytialvirus
BTV	Blue Tongue Virus, Blauzungenkrankheit
BVDV	Bovines Virusdiarrhoe Virus
Cond. log reg	Bedingte logistische Regression (Conditional logistic regression)
EHD	Epizootische Hämorrhagie der Hirsche
IBR	Infektiöse Bovine Rhinotracheitis
n	Anzahl
n. b.	nicht berechenbar
NSAID	Nichtsteroidale Entzündungshemmer (Non-steroidal antiinflammatory drug)
PI	Persistent infiziert
p. n.	post natum
vs	versus

## **I. EINLEITUNG**

Fälle von ungeklärter Blutungsneigung bei Rindern unterschiedlichen Alters traten vor dem Jahr 2006 nur sporadisch auf. Seither ist ein beachtlicher Anstieg von Hämorrhagischer Diathese bei jungen Kälbern zu beobachten. Das Krankheitsbild erhielt 2009 den wissenschaftlichen Namen 'Bovine Neonatale Panzytopenie'.

Die ersten Fälle wurden in Bayern beobachtet und danach weitere in anderen Bundesländern Deutschlands, in verschiedenen europäischen Ländern (FRIEDRICH et al., 2011) und im Jahr 2011 auch in Neuseeland (MAF NZ, 2012). In Untersuchungen zu Risikofaktoren von BNP stellte sich heraus, dass ein Zusammenhang zwischen der Impfung von Kühen mit dem Impfstoff PregSure® BVD und der Entwicklung von BNP bei deren Kälbern besteht (PARDON et al., 2009; FRIEDRICH et al., 2011; LAMBTON et al., 2012; REICHMANN, 2012; SAUTER-LOUIS et al., 2012).

Die vorliegende Fall-Kontroll-Studie soll gezielt auf Betriebs- und Einzeltierebene Risikofaktoren für die Entstehung der Bovinen Neonatalen Panzytopenie ermitteln. Anhand eines umfangreichen Fragebogens wurden BNP-Fallbetriebe und Kontrollbetriebe im Hinblick auf Betriebsdaten, Kolostrummanagement, Impfungen, Medikamentengaben, BVDV-Historie und detaillierte Informationen zu den einzelnen Fall- bzw. Kontrolltieren evaluiert. Es wurden Blutproben von BNP-Kälbern und Kontrollkälbern untersucht. Die Studie wurde von der Firma Pfizer England finanziert und mit entsprechendem Versuchsaufbau auch in Belgien, Frankreich und den Niederlanden durchgeführt. Das Royal Veterinary College London, UK koordinierte das Projekt und wertete die gesammelten Daten gemeinschaftlich aus. Die vorliegende Studie beinhaltet ausschließlich die für Deutschland ermittelten Inhalte.

## **II. LITERATURÜBERSICHT**

### **1. Bovines Virusdiarrhoe Virus (BVDV)**

Das BVDV gehört zur Gattung der Pestiviridae innerhalb der Familie der Flaviviridae. Bei den BVD-Viren werden zwei Genotypen unterschieden. Der Genotyp 1 ist am weitesten verbreitet und der Genotyp 2 kommt nur bei 6-11 % der Isolate vor. Der Genotyp 2 ist häufig Verursacher der schweren, akuten Durchfallerkrankungen und des hämorrhagischen Syndroms mit Hämostasestörungen. Jeder Virusstamm kann in nicht zytopathogene und zytopathogene Biotypen eingeteilt werden. In Tieren, die persistent mit dem nicht zytopathogenen Biotyp infiziert sind, kann durch Mutation oder Rekombination des viralen Genoms der zytopathogene Biotyp entstehen, der damit die tödlich verlaufende Mucosal Disease auslöst. Persistent infizierte (PI) Tiere sind Tiere, die transplazentar bis zum 125. Tag der Gravidität ausschließlich mit dem nicht zytopathogenen Biotyp infiziert werden. Die noch immunologisch unreifen Embryos bzw. Feten entwickeln eine spezifische Immuntoleranz gegen dieses Virus. Sie beherbergen das BVDV und scheiden es zeitlebens aus, ohne Antikörper dagegen zu bilden. Bei Konfrontation von antikörpernaiven Muttertieren mit BVDV während anderer Trächtigkeitsabschnitte kann es zu einer intrauterinen Infektion mit unterschiedlichen Folgen wie Aborten, Missbildungen und lebensschwachen oder tot geborenen Kälbern kommen. Die transiente postnatale Infektion immunkompetenter Rinder kann zu einem subklinischen Verlauf mit vorübergehender Immunsuppression und eventuellen Sekundärinfektionen führen. Ferner können Störungen der Blutgerinnung aufgrund einer Thrombozytopenie und/oder Durchfall auftreten (DIRKSEN et al., 2006).

Infektionen mit dem Bovinen Virusdiarrhoe-Virus (BVDV) sind in Rinderpopulationen enzootisch, und sie verursachen weltweit statistisch signifikante wirtschaftliche Verluste in der Fleisch- und Milchindustrie (LUO et al., 2012). Außerdem machen die charakteristischen Merkmale des BVDV wie die genetische Vielfalt und die Fähigkeit, persistent infizierte Tiere (PI) zu induzieren, die Kontrolle dieser Krankheit zu einer Herausforderung (LARSON et al., 2004).

## **1.1. Kontrollprogramm in Deutschland**

Die Grundlage des Kontrollprogrammes in Deutschland ist die Verordnung zum Schutz der Rinder vor einer Infektion mit dem Bovinen Virusdiarrhoe-Virus (BVDV-Verordnung), die am 01.01.2011 in Kraft getreten ist (BMELV, 2013). Zuvor gab es in den verschiedenen Bundesländern teilweise freiwillige Bekämpfungsverfahren. Im Bundesland Bayern nahmen beispielsweise im Zeitraum von 2005 bis 2010 13.200 Rinderhalter (Zucht- und NutZRinder) am freiwilligen BVD/MD Bekämpfungsverfahren, welches staatlich gefördert wurde, teil (LGL BAYERN, 2013).

### **1.1.1. Impfung und Impfstoffe**

Gemäß der BVDV-Verordnung kann eine zuständige Veterinärbehörde in Deutschland die Impfung eines Rindes, der Rinder eines Bestandes oder eines bestimmten Gebietes gegen die BVDV-Infektion anordnen oder verbieten, soweit dies aus Gründen der Tierseuchenbekämpfung erforderlich ist. Bei der Impfung von weiblichen Rindern gegen die BVDV-Infektion ist die Impfung nach den Empfehlungen des Impfstoffherstellers so durchzuführen, dass ein fetaler Schutz vor einer BVDV-Infektion zu erwarten ist. Außerdem hat der Besitzer der zuständigen Behörde auf Verlangen unverzüglich Auskunft über die Anzahl der geimpften Rinder einschließlich deren Ohrmarkennummern, den Zeitpunkt der durchgeführten Impfungen sowie den angewandten Impfstoff zu geben (BMELV, 2013). In Deutschland gibt es Totimpfstoffe, die inaktivierte Viren enthalten, sowie Lebendimpfstoffe auf der Basis vermehrungsfähiger Viren. Es besteht die Möglichkeit, ausschließlich Totimpfstoffe oder die Kombination von Tot- und Lebendimpfstoffen im zweistufigen Impfverfahren zu verwenden. Bei Verwendung von PregSure® BVD (Totimpfstoff) mit Vacoviron® FS (Lebendimpfstoff) im zweistufigen Verfahren entstehen statistisch signifikant höhere Antikörpertiter als bei Verwendung der gebräuchlichen Impfstoffkombination von Mucobovin® (Totimpfstoff) und Vacoviron® (KÖNIG et al., 2006). KASONTA et al. (2012) verglichen das Impfverhalten zweier Regionen in Deutschland. Im Freistaat Bayern wurde im Allgemeinen der Impfstoff PregSure® BVD gemäß den Herstellerempfehlungen - Grundimmunisierung und eine jährliche Wiederholungsimpfung - seit der Zulassung für Deutschland im Jahr 2004 angewandt. In Niedersachsen erfolgte die BVDV Immunisierung im Allgemeinen im zweistufigen Impfprotokoll, das

eine erste Impfung mit einem inaktivierten BVDV Impfstoff und einer folgenden Boosterung mit einem attenuierten Lebendimpfstoff beinhaltet. Die Konsequenz davon ist, dass Kühe, die mit PregSure® BVD geimpft wurden, in Bayern im Allgemeinen mehr als zwei Impfdosen erhielten, während in Niedersachsen die Kühe maximal einmal mit PregSure® BVD geimpft wurden.

Aktuell (Stand 01. 03. 2013) zugelassen sind die inaktivierten Impfstoffe Bovilis® BVD-MD, Bovidec®, Mucobovin® und Rispoval® 3 sowie der attenuierte Lebendimpfstoff Vacoviron® FS (PAUL-EHRLICH-INSTITUT, 2013c). Die Zulassung für den inaktivierten Impfstoff PregSure® BVD ruht seit dem 30. August 2010, da nachgewiesen worden ist, dass es bei Kühen, die mit PregSure® BVD geimpft worden sind, zur Bildung von alloreaktiven Antikörpern kommt, die über das Kolostrum an Kälber weitergegeben werden und dort Blut- und Knochenmarkzellen zerstören können (PAUL-EHRLICH-INSTITUT, 2013b).

## **2. Bovine Neonatale Panzytopenie (BNP)**

### **2.1. Definition**

Die Definition des Krankheitsbildes Bovine Neonatale Panzytopenie wurde auf dem Satellite Symposium im Dezember 2009 in Marseille vorgestellt. Sie umfasst sechs Inklusionskriterien:

1. Blutungssymptomatik – typische Blutwerte für BNP liegen in manchen Fällen vor Auftreten oder bei fehlender klinischer Symptomatik vor
2. BVDV Testergebnis negativ (Panpestivirus PCR)
3. Thrombozytopenie < 200 G/L und Leukozytopenie < 4 G/L
4. Kälber, die unter vier Wochen alt sind
5. Keine Anzeichen von Septikämie
6. Sektionsbefund: Depletion des Knochenmarkes (Panmyelophthise) (FRIEDRICH et al., 2009b).

Als Goldstandard hat sich der Sektionsbefund Knochenmarksdepletion (Panmyelophthise) bei Kälbern unter vier Wochen auch ohne Blutungssymptome durchgesetzt. Liegt kein Sektionsbefund vor, sind Anzeichen von

Blutungsneigung und entsprechende Blutbildveränderungen wie Thrombozytopenie  $< 200$  G/L und Leukozytopenie  $< 4$  G/L als BNP-Diagnose verwendet worden (KASONTA et al., 2012; REICHMANN, 2012; SAUTER-LOUIS et al., 2012).

Eine Falldefinition aus Belgien unterscheidet sich von den bereits erwähnten lediglich in Bezug auf die Leukozyten- und Thrombozytenwerte. Als BNP-Fall werden dort Kälber mit Leukozytopenie  $< 3$  G/L und Thrombozytopenie  $< 100$  G/L eingestuft. Der Ausschluss einer Septikämie wird im Rahmen der Definition nicht erwähnt (PARDON et al., 2010).

## **2.2. Symptome**

Die Bovine Neonatale Panzytopenie tritt bei Kälbern im ersten Lebensmonat auf, wobei der Beginn der klinischen Symptomatik gehäuft in der zweiten und dritten Lebenswoche zu beobachten ist (Mittelwert 12,7 Tage). Das klinische Bild der BNP ist grundsätzlich von einer Hämorrhagischen Diathese gekennzeichnet, wobei die betroffenen Kälber zunächst häufig durch ein gestörtes Allgemeinbefinden und Fieber ungeklärter Ursache auffallen (FRIEDRICH et al., 2009a).

Oftmals sind die ersten sichtbaren Anzeichen der Blutungsneigung unstillbares Nachbluten aus Injektionsstellen und nach Einziehen von Ohrmarken. Regelmäßige Befunde sind Blutbeimengungen im Kot bis hin zu Meläna, Petechien an allen sichtbaren Schleimhäuten und Ekchymosen (FRIEDRICH et al., 2009a; PARDON et al., 2010).

Hautblutungen sind nur bei 60 % der vorgestellten Kälber zu sehen gewesen. Der meist sehr schlechte Allgemeinzustand der erkrankten Kälber kann neben den Auswirkungen der Blutungsneigung auch auf schwere Begleiterkrankungen wie beispielsweise Sepsis, Durchfall oder Lungenentzündung zurückzuführen sein (FRIEDRICH et al., 2009a).

Subklinisch erkrankte Kälber werden nur im Rahmen der Blutuntersuchungen anhand einer vorliegenden Thrombozytopenie und Leukozytopenie identifiziert, ohne typische Symptome der Bovinen Neonatalen Panzytopenie zu zeigen (FRIEDRICH et al., 2011). Bei der Blutentnahme von Kontrollkälbern in Betrieben, die klinisch erkrankte BNP-Kälber hatten, konnten subklinische Fälle

festgestellt werden, die auch im weiteren Verlauf keine klinische Symptomatik entwickelten (PARDON et al., 2010).

### **2.3. Vorkommen**

Seit dem Jahr 2006 kann man einen beachtlichen Anstieg von jungen Kälbern mit Blutungsneigung in Milchviehbetrieben und Mutterkuhhaltungen beobachten (SAUTER-LOUIS et al., 2012). Die ersten berichteten Fälle stammten aus Bayern. Neben erkrankten Kälbern aus anderen deutschen Bundesländern (FRIEDRICH et al., 2011) gibt es mittlerweile auch bestätigte Fälle aus Belgien (PARDON et al., 2009), Frankreich (CORBIERE et al., 2009), Großbritannien (ELLIS-IVERSEN & COLLOFF, 2009), Italien (GENTILE et al., 2009), Irland (SANCHEZ-MIGUEL et al., 2010), Luxemburg (PAUL-EHRLICH-INSTITUT, 2013a), Neuseeland (MAF NZ, 2012), Niederlande (SMOLENAARS & MARS, 2009), Polen (BEDNARSKI et al., 2011), Spanien (ARMENGOL et al., 2010), Schottland (SAC, 2010) und Ungarn (PAUL-EHRLICH-INSTITUT, 2013a).

Es existieren keine Fallberichte aus den Ländern Dänemark, Österreich und Schweiz, (FRIEDRICH et al., 2011). In der Schweiz wurde bis 2008 gegen BVDV geimpft (zugelassene Impfstoffe Rispoval® BVD-MD und Bovilis® BVD-MD) (pers. Kommunikation BRUCKNER, 2013).

Zum 28.02.2011 waren europaweit 4.500 BNP-Fälle gemeldet, davon 3.000 aus Deutschland (PAUL-EHRLICH-INSTITUT, 2013a). Bei einem Datenabgleich der gemeldeten Fallzahlen des Paul-Ehrlich-Institutes und der registrierten BNP-Fälle der Klinik für Wiederkäuer LMU München wurde ein beachtliches „Underreporting“ festgestellt, da beispielsweise nur 32 % der in der Klinik gemeldeten BNP-Fälle auch an das Paul-Ehrlich-Institut gemeldet worden waren (REICHMANN, 2012).

Das Krankheitsbild der Bovinen Neonatalen Panzytopenie tritt bei beiden Geschlechtern gleichermaßen und ohne Rasseprädisposition u. a. bei Aberdeen Angus, Blonde d'Aquitaine, Braunvieh, Charolais, Fleckvieh, Holstein-Friesian, Limousin, Montebéliarde, Weißblaue Belgier und verschiedenen Rassekreuzungen auf (BELL et al., 2009; CORBIERE et al., 2009; SMOLENAARS & MARS, 2009; FRIEDRICH et al., 2009a; KAPPE et al., 2010; PARDON et al., 2010; SAUTER-LOUIS et al., 2012).

Grundsätzlich ist die Inzidenz von BNP gering (PARDON et al., 2010; FRIEDRICH et al., 2011), allerdings können aufgrund der hohen Mortalität für einzelne Betriebe bedeutende Verluste entstehen. Zur Inzidenz und Bedeutung subklinischer BNP-Fälle gibt es derzeit keine objektiven Daten (PARDON et al., 2010). Die von FRIEDRICH et al. (2011) für die gesamte Rinderpopulation geschätzte Inzidenz der BNP von 0,00005 % variiert laut REICHMANN (2012) innerhalb der einzelnen Fallbetriebe sehr stark und reicht von 0,3 % bis 20 %. Die Inzidenz von BNP variiert zwischen verschiedenen Regionen Deutschlands gravierend. Die Inzidenz in Bayern erreichte Werte bis 100 BNP-Fälle pro 100.000 Impfdosen von PregSure® BVD, während in Niedersachsen die Inzidenz bei 6 BNP-Fällen pro 100.000 Impfdosen von PregSure® BVD lag (KASONTA et al., 2012).

Auffallend ist eine Häufung von BNP-Fällen in den Sommer- und Herbstmonaten (FRIEDRICH et al., 2009a; PARDON et al., 2010). FRIEDRICH et al. (2009a) sehen darin eventuell einen Zusammenhang zwischen Hautblutungen und dem Auftreten von Insektenstichen in dieser Zeit.

#### **2.4. Pathogenese**

In epidemiologischen Studien wurde bereits die Verbindung zwischen dem Auftreten von BNP und der Verwendung des inaktivierten BVDV Impfstoffes PregSure® BVD hergestellt (PARDON et al., 2009; FRIEDRICH et al., 2009a; CARLIN, 2011; LAMBTON et al., 2012; REICHMANN, 2012; SAUTER-LOUIS et al., 2012).

Basierend auf der Vermutung, dass BNP eine immunmedierte Erkrankung ist und das Kolostrum von Kühen, die bereits ein BNP-Kalb geboren haben, eine zentrale Rolle bei der Entstehung der Erkrankung spielt, wurden Tränkeversuche durchgeführt. Der Verdacht konnte sowohl von FRIEDRICH et al. (2011) als auch SCHRÖTER et al. (2011) bestätigt werden.

BRIDGER et al. (2011) und PARDON et al. (2011) fanden alloreaktive Antikörper im Serum von BNP-Müttern, die über das Kolostrum übertragen werden und sich an Oberflächenantigene der Leukozyten von neugeborenen Kälbern binden. Es wurde vermutet, dass alloreaktive Antikörper sich nicht nur an Leukozyten, sondern auch an Thrombozyten binden. Dieser Vorgang bedingt komplementmediert den Zelltod. Wahrscheinlich sind diese Antikörper auch auf

die Oberflächenantigene der Vorläuferzellen im Knochenmark gerichtet, was gegebenenfalls zu Knochenmarksdepletion führen kann (BRIDGER et al., 2011).

Durch experimentelle Immunisierungen konnte gezeigt werden, dass unterschiedliche Impfprotokolle eine große Rolle in der Bildung von alloreaktiven Antikörpertitern spielen und somit einen großen Einfluss auf die Induktion von unerwünschten Reaktionen haben können. Dabei waren die Titer der alloreaktiven Antikörper bei Muttertieren, die nach dem zweistufigen Impfprotokoll (siehe 1.1.1.) immunisiert wurden, statistisch signifikant niedriger als bei Muttertieren, die die Grundimmunisierung und Wiederholungsimpfungen mit PregSure® BVD erhielten (KASONTA et al., 2012).

Im Tierversuch mit Meerschweinchen und Kälbern konnte anhand der Impfung mit PregSure® BVD die Bildung alloreaktiver Antikörper induziert werden und eine Kreuzreaktion der BNP assoziierten alloreaktiven Antikörper mit der MDBK (Madin Darby bovine kidney) - Zelllinie, die zur Produktion des Impfstoffes PregSure® BVD verwendet wurde, festgestellt werden (BASTIAN et al., 2011). Diese alloreaktiven Antikörper sind höchstwahrscheinlich eine Unterklasse der IgG1 (ASSAD et al., 2012). Als mögliches Zielantigen für diese Antikörper wurde der Major-Histokompatibilitätskomplex I (MHC I) identifiziert, der wahrscheinlich bei der Pathogenese von BNP eine Rolle spielt. Es konnte nicht ausgeschlossen werden, dass auch andere Antigene an der Entstehung von BNP beteiligt sind (DEUTSKENS et al., 2011; FOUCRAS et al., 2011).

## **2.5. Risikofaktoren**

Im Rahmen einer vorangegangenen Fall-Kontroll-Studie auf Betriebsebene (CARLIN, 2011; SAUTER-LOUIS et al., 2012) sollten verschiedene Risikofaktoren für BNP in Süddeutschland ermittelt werden. Anhand der Antworten auf den damaligen Fragenbogen (8 Seiten) wurden 56 BNP-Fallbetriebe mit zwei Gruppen von jeweils 50 Kontrollbetrieben verglichen. Die Auswertung der Studie ergab zwei statistisch signifikante Risikofaktoren: Zum einen die Verwendung des BVDV Impfstoffes PregSure® BVD mit einer Odds Ratio von 426 (95 % KI: 20-9095) und zum anderen die Anwendung von weiteren regelmäßigen Behandlungen wie beispielsweise Parasitenbekämpfung und Impfung gegen Kälbergrippe mit einer Odds Ratio von 14,3 (95 % KI: 1,4-151,9). Aus diesen Ergebnissen wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass der Einsatz

von PregSure® BVD ein sehr hohes Risiko für die Entstehung von BNP darstellt (CARLIN, 2011; SAUTER-LOUIS et al., 2012).

Eine Fall-Kontroll-Studie aus Großbritannien (LAMBTON et al., 2012) verglich auf Tierebene retrospektiv Daten von 56 BNP-Kälbern mit 58 Kontrollkälbern aus Betrieben mit nicht vorhandener BNP-Historie. Durch persönliche Befragung der Besitzer der Fall- und Kontrollkälber anhand eines Fragebogens wurden Daten gesammelt. Der Fragebogen beinhaltete Fragen zu den Herden, Kälbern, Müttern und Stieren der Fall- und Kontrollkälber. Die Ergebnisse zeigten sich wie folgt: *Anwendung von PregSure® BVD bei Müttern* mit einer Odds Ratio von 40,78 (95 % KI: 10,14-163,91), *Lokalisation der Herde in Schottland* mit einer Odds Ratio von 9,71 (95 % KI: 1,92-49,14), *Je länger eine Herde schon auf dem Betrieb gehalten wurde* mit einer Odds Ratio von 0,97 (95 % KI: 0,94-0,99; Fallbetriebe waren im Durchschnitt 30,9 Jahre etabliert, während Kontrollbetriebe im Durchschnitt 40,4 Jahre etabliert waren) und *Haltung der Kälber im Außenbereich* mit einer Odds Ratio von 0,11 (95 % KI: 0,02-0,53). Auch diese Studie zeigte eine starke Verbindung zwischen BNP und der Anwendung von PregSure® BVD bei Müttern betroffener Kälber (LAMBTON et al., 2012).

REICHMANN (2012) verglich bei einer weiteren retrospektiven Fall-Kontroll-Studie BNP-Fallbetriebe mit hoher und niedriger Inzidenz. Das Verfüttern von Mischkolostrum wurde häufiger in Betrieben mit hoher Inzidenz durchgeführt. Außerdem setzten die Landwirte aus diesen Betrieben das Erstkolostrum über eine größere Anzahl von Mahlzeiten ein. In Betrieben mit niedriger Inzidenz wurde bei der BVDV Impfung seltener eine Grundimmunisierung durchgeführt als bei Betrieben mit hoher Inzidenz. PregSure® BVD wurde in Betrieben mit hoher Inzidenz tendenziell länger eingesetzt. Es wurden BNP-Muttertiere registriert, die ihr erstes BNP-Kalb in einem Zeitraum von bis zu vier Jahren nach der letzten BVDV Impfung geboren haben. Die Anzahl der Laktationen der Muttertiere erbrachte bei dieser Studie kein statistisch signifikantes Ergebnis. Es waren über 50 % der BNP-Muttertiere Zweit- oder Drittgebärende. Des Weiteren wurde bei dieser Studie eine Erhöhung der Behandlungen von Kälbern unter vier Wochen aufgrund anderer Kälberkrankheiten festgestellt und vermutet, dies sei eine Folge von subklinisch auftretender BNP.

Als weiterer Risikofaktor für die Entstehung von BNP ist das Vertränken von Mischkolostrum zu nennen. Bei einem Tränkeversuch von SCHRÖTER et al.

(2011) erhielten Kälber vier bis sechs Stunden post natum ca. 2,5 Liter Kolostrum von Kühen, die bereits ein BNP-Kalb hatten. Es wurden drei Versuchsgruppen gebildet. In Gruppe I erhielten sechs Kälber das Kolostrum jeweils einer einzelnen Kuh, in Gruppe II erhielten sechs Kälber das Kolostrum einer einzigen Kuh und in Gruppe III erhielten zehn Kälber Mischkolostrum von insgesamt 10 Donorkühen. Klinische Anzeichen für BNP entwickelten 50 % der Kälber in Versuchsgruppe I, 67 % der Kälber in Versuchsgruppe II und 100 % der Kälber in Versuchsgruppe III. Das Vertränken von Mischkolostrum führte auch zur höchsten Letalität im Vergleich mit den anderen Versuchsgruppen (SCHRÖTER et al., 2011).

## **2.6. Blutwerte**

Die Blutwerte von BNP-Kälbern zeigen eine massive Leukozytopenie sowie Thrombozytopenie, die auch bei Anwendung verschiedener Referenzbereiche (siehe 2.1.) die untere Referenzgrenze meist deutlich unterschreiten (FRIEDRICH et al., 2009b; PARDON et al., 2010).

Die Leukozytopenie betrifft Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten. Während Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten bei einem typischen Krankheitsfall mit letalem Ausgang langsam abfallen, steigen sie bei überlebenden Kälbern wieder an. Eine leicht verlängerte Prothrombinzeit, sowie eine selten verlängerte aktivierte Thromboplastinzeit sind neben einer Hypoproteinämie zu verzeichnen (PARDON et al., 2010).

FRIEDRICH et al. (2009a) stellten bei den betroffenen Kälbern zu Beginn der Erkrankung eine hämorrhagische Anämie fest, mit fortschreitender Krankheitsdauer auch eine aplastische Anämie.

## **2.7. Sektionsbefunde**

Blutungen unterschiedlichen Ausmaßes in allen inneren Organen sind typische Befunde der Sektion und treten gehäuft in der Serosa des Magendarmtraktes, subkutan an Hals, Brustkorb und Gliedmaßen, subepi- und subendokardial, in der Skelettmuskulatur und unter der Milzkapsel auf. Die Tierkörper sind aufgrund des Blutverlustes stets anämisch (FRIEDRICH et al., 2009a; KAPPE et al., 2010; PARDON et al., 2010). Obwohl bei der histopathologischen Untersuchung ein Austritt von roten Blutkörperchen aus den Gefäßen festgestellt werden kann, zeigt sich keine Vaskulopathie (Schädigung des Endothels oder des perivaskulären Gewebes, transmurale Entzündung) (FRIEDRICH et al., 2009a; PARDON et al.,

2010). Eine lymphoide Depletion wird in T- und B-Zellarealen der Milz und Lymphknoten diagnostiziert (PARDON et al., 2010).

Der Hauptbefund der histologischen Untersuchung ist eine Depletion der drei Vorläuferzelllinien von Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten des Knochenmarkes (Panmyelophthase). Untersucht werden hierfür Sternum und/oder Femur (FRIEDRICH et al., 2009a; KAPPE et al., 2010; PARDON et al., 2010). In manchen Fällen verbleiben kleine Areale von hämatopoetischem Gewebe im Knochenmark (KAPPE et al., 2010).

## **2.8. Differentialdiagnosen**

Als Differentialdiagnosen für BNP kommen einige infektiöse und nichtinfektiöse Erkrankungen in Frage, die bereits ausführlich von unterschiedlichen Autoren evaluiert und größtenteils ausgeschlossen worden sind.

Da KAPPE et al. (2010) in wenigen BNP-Kälbern ein Circovirus fanden, das dem Porcinen Circovirus Typ 2b sehr ähnlich ist, wurde ein ätiologischer Zusammenhang mit der Entstehung der Krankheit vermutet, der von WILLOUGHBY et al. (2010) nicht bestätigt werden konnte.

Bei den regelmäßig durchgeführten Untersuchungen auf BVDV, BTV (FRIEDRICH et al., 2009a; KAPPE et al., 2010; PARDON et al., 2010; BUCK et al., 2011) und EHD-Virus (PARDON et al., 2010) waren die Ergebnisse stets negativ.

Im Darm von Kälbern wurden bei der histologischen Untersuchung keine Hinweise auf eine Infektion mit dem Bovinen Parvovirus gefunden, und das Virus konnte nicht isoliert werden (PARDON et al., 2010).

Tests auf das Toxin DCVC (S-(1,2-Dichlorovinyl)-L-Cystein) verliefen negativ. DCVC ist ein Metabolit von Trichloräthylen, das ehemals bei der Sojaschrotextraktion verwendet wurde (FRIEDRICH et al., 2009a; KAPPE et al., 2010).

Eine Gruppe von Mykotoxinen, die Trichothezene, besitzt das Potential der Knochenmarksschädigung. Bei Untersuchungen von Futtermittelproben konnten sie nicht nachgewiesen werden (FRIEDRICH et al., 2009a; KAPPE et al., 2010).

CARLIN (2011) schließt die Aufnahme von Adlerfarn und dem echten und

weißen Steinklee und eine damit einhergehende Vergiftung aufgrund detaillierter Befragungen in ihren landwirtschaftlichen Studienbetrieben fast vollständig aus.

Auch wenn der Zugang zu Rodentiziden nicht in allen befragten Fall- und Kontrollbetrieben gänzlich ausgeschlossen werden konnte, kommen diesen auf Dicumarol basierenden Mitteln keine Bedeutung in der Entstehung von BNP zu, da sie keine Knochenmarksschädigung auslösen (DIRKSEN et al., 2006) und nicht als Risikofaktoren identifiziert wurden (CARLIN, 2011; SAUTER-LOUIS et al., 2012).

Der Einsatz von Furazolidon sowie Chloramphenicol ist in der EU bei Lebensmittel liefernden Tieren verboten. Diese Substanzen können daher als Ursache für BNP ausgeschlossen werden. Stichprobenartige Untersuchungen zeigten zudem negative Ergebnisse (FRIEDRICH et al., 2009a).

Bei Überdosierung von NSAIDs oder Sulfonamiden kann es zur Knochenmarksschädigung kommen. Es existieren jedoch keine Hinweise auf unverhältnismäßige Vorbehandlungen von erkrankten Kälbern (FRIEDRICH et al., 2009a; KAPPE et al., 2010).

Des Weiteren gibt es keine Hinweise auf die Exposition von BNP-Kälbern gegenüber radioaktiven Strahlen oder Röntgenstrahlen (FRIEDRICH et al., 2009a; CARLIN, 2011).

Einzelfälle von Kälbern mit idiopathischer Blutungsneigung wurden in der Vergangenheit beschrieben, jedoch waren dies Einzelfälle und kamen nicht gehäuft vor (LUNN & BUTLER, 1991; AMMANN et al., 1996; SHIMADA et al., 2007; BRAUN et al., 2008).

In Untersuchungen, die sich mit der Bedeutung der genetischen Komponente bei der Entstehung der BNP beschäftigt hatten, stellten KRAPPMANN et al. (2010) keine Übereinstimmung von einer Mutation des Gerinnungsfaktors XI und dem BNP-Status fest. Allerdings wird eine genetische Prädisposition der Kälber, welche an BNP erkranken, nach wie vor vermutet.

Es besteht kein Zusammenhang zwischen BNP und anderen Erbkrankheiten wie der „Simmental hereditary thrombopathy“ und dem Chédiak-Higashi-Syndrom (SAUTER-LOUIS et al., 2012).

Bei Holstein-Friesian wurde der Genort für MHC II von BALLINGALL et al.

(2011) untersucht. Es konnten keine Hinweise auf eine Assoziation mit der Pathogenese von BNP gefunden werden.

Aufgrund des gleichmäßig verteilten Auftretens der Bovinen Neonatalen Panzytopenie bei unterschiedlichen Rinderrassen, kann nicht von einer alleinigen genetischen Ursache dieser Erkrankung ausgegangen werden (FRIEDRICH et al., 2009a).

## **2.9. Behandlung und Prophylaxe**

Die Behandlung von BNP-Kälbern beruht grundsätzlich auf einer symptomatischen Therapie, die sich am Allgemeinbefinden und möglichen Begleiterkrankungen (z.B. Durchfall, Lungenentzündung, Fieber) orientiert. Gegebenenfalls notwendige Bluttransfusionen stellen meist nur eine lebensverlängernde Maßnahme dar (KLINIK FÜR WIEDERKÄUER LMU MÜNCHEN, 2013). In Klinik und Praxis existieren unterschiedliche Behandlungsprotokolle, die eine Vielzahl von Antibiotika, NSAIDs oder hochdosiertem Kortison beinhalten. Aussagen über den Krankheitsverlauf können nur schwer getroffen werden, da die Überlebensrate von BNP-Fällen unabhängig von der Behandlung sehr gering ist (10 %). In seltenen Fällen konnte eine Spontanheilung ohne vorangegangene Behandlung beobachtet werden (PARDON et al., 2010).

Im Jahr 2010 ist mit einem Kolostrumsubstitutionsversuch bewiesen worden, dass acht Kälber von Kühen, die im Vorjahr BNP-Kälber geboren haben, gesund geblieben sind, nachdem ihnen das Kolostrum von Kühen aus zwei Betrieben ohne BNP-Historie verabreicht worden ist (BELL et al., 2010).

Deshalb wird empfohlen, auf die Verwendung von Kolostrum einer Kuh, die in der Vergangenheit schon ein BNP-Kalb zur Welt gebracht hat, und auch auf die Verabreichung von Fremd- und Mischkolostrum zu verzichten. Vorzugsweise soll Kolostrum der Nachzucht verwendet werden, die nicht mit PregSure® BVD geimpft worden ist (KLINIK FÜR WIEDERKÄUER LMU MÜNCHEN, 2013).

### **III. MATERIAL UND METHODEN**

#### **1. Falldefinition**

Als BNP-Fälle wurden Kälber aus Deutschland bis zum Alter von 28 Tagen mit Blutungssymptomatik wie blutigem Kot, Hautblutungen, Petechien und Ekchymosen sowie perakut verendete Kälber mit BNP-typischen Blutwerten und/oder Sektionsbefunden eingestuft. Die Inklusionskriterien für BNP waren bei den Blutwerten Thrombozytopenie ( $< 200$  G/L) und Leukozytopenie ( $< 4$  G/L) und beim Sektionsbefund die Depletion des Knochenmarkes (Panmyelophthase).

#### **2. Fallrekrutierung**

Die Studie startete mit einem Aufruf im Deutschen Tierärzteblatt im Mai 2011. Es folgten weitere Inserate in Fachzeitschriften für Landwirte und Tierärzte in ganz Deutschland. Der Appell an Tierärzte und Landwirte lautete, bei Kälbern mit auftretender Blutungssymptomatik Kontakt zur Klinik für Wiederkäuer LMU München aufzunehmen bzw. Blutproben (EDTA und Serum) der verdächtigen Kälber und/oder Sektionsbefunde schon verendeter Kälber einzusenden. Die Blutproben wurden im Labor der Klinik für Wiederkäuer LMU München ohne anfallende Kosten für die Einsender untersucht. Über Telefonate mit den jeweiligen Betriebsleitern und Hoftierärzten wurde das Prozedere der Studie erläutert und die Zusage einer angemessenen Aufwandsentschädigung gegeben. Im Jahr 2011 wurden auf diesem Weg die BNP-Fälle für die Studie akquiriert. Zwei zusätzliche, bestätigte BNP-Fälle wurden aus dem Jahr 2010 in die Studie mit aufgenommen.

#### **3. Versuchsdurchführung**

Die vorliegende Studie wurde als Teil einer Multi-Country-Studie in Zusammenarbeit mit Arbeitsgruppen in den Niederlanden (GD Animal Health Service, Universität Utrecht) in Frankreich (INRA/ONIRIS, Nantes) und in Belgien (Universität Gent) durchgeführt. Die Gesamtstudie wurde von einer Arbeitsgruppe des Royal Veterinary Colleges, London, UK koordiniert und von der Firma Pfizer® Animal Health finanziell unterstützt.

### **3.1. Einschlusskriterien**

#### **3.1.1. Fallbetriebe**

Als Fallbetriebe wurden landwirtschaftliche Betriebe in Deutschland eingestuft, die mindestens ein BNP-Kalb gemäß Faldefinition vorweisen konnten. Produktionsrichtung und Betriebsgröße waren bei der Auswahl für die Studie nicht von Bedeutung.

#### **3.1.2. BNP-Kälber**

BNP-Kälber waren Kälber, die die Kriterien der Faldefinition (siehe 1.) erfüllten. Die zuständigen Hoftierärzte entnahmen den verdächtigen Kälbern Blut und sandten die Proben zur Auswertung an das Labor der Klinik für Wiederkäuer LMU München.

Die Blutproben (EDTA und Serum) wurden nach der Auswertung (siehe 3.1.4) jeweils in 1,5 ml Eppendorf Gefäße pipettiert, mit Kryotiketten beschriftet und bei -26°C asserviert.

Nach Sektion bereits verendeter Kälber wurden die Sektionsberichte ebenfalls an die Klinik für Wiederkäuer LMU München übermittelt.

#### **3.1.3. Kontrollkälber**

Als Kontrollkälber wurden Kälber ausgewählt, die in einem Fallbetrieb geboren wurden, zwischen 0-28 Tagen alt waren und zum Zeitpunkt der Probennahme keine Anzeichen hämorrhagischer Diathese aufwiesen. Die zuständigen Hoftierärzte sollten je Fallbetrieb von bis zu vier Kontrollkälbern Blutproben (EDTA und Serum) entnehmen. Lagen zwei bzw. drei BNP-Kälber in einem Fallbetrieb vor, sollten von bis zu acht bzw. von bis zu zwölf Kontrollkälbern Blutproben genommen und an das Labor der Klinik für Wiederkäuer LMU München gesendet werden.

Nach der Auswertung (siehe 3.1.4) wurden die Proben in 1,5 ml Eppendorf Gefäße pipettiert, mit Kryotiketten beschriftet und bei -26°C asserviert.

#### **3.1.4. Untersuchung der Blutproben der BNP- und Kontrollkälber**

Die Untersuchung der Blutproben der BNP- und Kontrollkälber erfolgte im Labor der Klinik für Wiederkäuer LMU München. Zur Ermittlung der Zellzahl wurde das Vollblut (EDTA) mit dem Gerät poch-100 i V Diff der Firma Sysmex

analysiert. Das Serum wurde zur Bestimmung der Enzyme und Substrate mit dem Hitachi 912 der Firma Roche untersucht.

### **3.1.5. Kontrollbetriebe**

Als Kontrollbetriebe wurden landwirtschaftliche Betriebe definiert, die bis dato keine bestätigten BNP-Fälle bzw. keine Kälber mit Blutungssymptomatik hatten. Pro Fallbetrieb sollten je sechs Kontrollbetriebe aus den Praxisgebieten der entsprechenden Hoftierärzte genannt werden, von welchen zwei bis vier Kontrollbetriebe je nach Verfügbarkeit nach dem Zufallsprinzip ausgewählt und telefonisch befragt wurden.

## **3.2. Fragebogen**

Der Fragebogen dieser Fall-Kontroll-Studie wurde in Zusammenarbeit aller beteiligten Arbeitsgruppen (siehe 3.) entwickelt. Es konnte ein ausführlicher Fragebogen (15 Seiten, siehe Anhang) erstellt werden, der auf damaligen Erkenntnissen über die Entwicklung von BNP und Ergebnissen vorheriger epidemiologischer Studien basiert.

### **3.2.1. Befragung der Fallbetriebe**

Die Befragung der Fallbetriebe erfolgte über einen Fragebogen, der in einem persönlichen Gespräch zwischen Betriebsleiter und betreuendem Hoftierarzt beantwortet wurde. Der Fragebogen war so konzipiert, dass die sinnvolle Beantwortung der Fragen nur in Zusammenarbeit beider Parteien möglich war. Dazu sollten zu Beginn der Befragungen 12 Hoftierärzte zur Dauer und Machbarkeit der Interviews Stellung beziehen. In Tabelle 1 werden die Themen des Fragebogens zusammenfassend dargestellt.

**Tabelle 1. Zusammenfassung des Fragebogens, der im Rahmen einer multinationalen Studie über BNP in Fall- und Kontrollbetrieben eingesetzt wurde (Der detaillierte Fragenbogen ist im Anhang einzusehen)**

<p><b>1. Betriebsdaten (sowohl Fall-, als auch Kontrollbetriebe befragt)</b></p> <p>Produktionsrichtung, Anzahl der Tiere in der Herde, Management-Änderungen den letzten 12 Monaten, durchschnittliche 305 Tage Laktationsleistung der Tiere, Haltung anderer Spezies wie Schafe und Ziegen, Aufzucht von Jungtieren, Zukauf und Verkauf</p>
---

	<p>Kälber- und Biestmilchmanagement</p> <p>Milchfütterung der Kälber</p> <p>Impfungen innerhalb der letzten 12 Monate</p> <p>Routinemäßige Medikamentengaben innerhalb der letzten 12 Monate</p> <p>BVDV Historie, BVDV Impfungen und BNP-Historie</p>
<b>2.</b>	<p><b>Gegenwärtiger BNP-Fall (nur Fallbetriebe befragt)</b></p> <p>Signalement des BNP-Kalbes und der Kontrollkälber</p> <p>Klinische Symptome der BNP-Kälber, Behandlungen, Blutergebnisse</p> <p>Informationen zu Ausgang der Krankheit, Sektionsberichte</p> <p>Klinische Anzeichen der Kontrollkälber zum Zeitpunkt der Probennahme</p> <p>Kolostrumversorgung des BNP-Kalbes und der Kontrollkälber</p> <p>Milchfütterung des BNP-Kalbes und der Kontrollkälber</p>
<b>3.</b>	<p><b>Mütter der BNP- und Kontrollkälber (nur Fallbetriebe befragt)</b></p> <p>Alter, Rasse, Anzahl der Laktationen, 305 Tage Laktationsleistung, geschätzter Zuchtwert, Herkunft, Ausgang vorheriger Kalbungen</p> <p>Impfungen bis in das Jahr 2005 zurück</p> <p>Behandlungen während der Trächtigkeit, beim Trockenstellen oder während der Früh lactation</p>
<b>4.</b>	<p><b>Väter der BNP- und Kontrollkälber (nur Fallbetriebe befragt)</b></p> <p>KB-Nummer, Name, Rasse, Bulle schon Vater anderer BNP-Kälber</p>

### 3.2.2. Befragung der Kontrollbetriebe

Die Befragung der zufällig ausgewählten Kontrollbetriebe erfolgte telefonisch durch eine wissenschaftliche Mitarbeiterin der Klinik für Wiederkäuer LMU München. Die Interviewdauer betrug zwischen 10 und 20 Minuten. Die Kontrollbetriebe sollten zeitnah zum aufgetretenen BNP-Fall, höchstens bis zu sechs Wochen danach befragt werden. In wenigen Fällen wurde der Zeitraum von sechs Wochen überschritten.

## **4. Dateneingabe**

Die Daten der beantworteten Fragebogen wurden in eine speziell dafür entwickelte Online-Datenbank eingegeben, die durch die Arbeitsgruppe in Gent, Belgien erstellt wurde. Im Anschluss an die Dateneingabe wurde vom Administrator der Datenbank ein Output der Daten des jeweiligen Landes in Form einer Excel-Tabelle erstellt. Ein Großteil der Daten wurde bereits bei der Dateneingabe numerisch kodiert. Variablen, die im Fragebogen als Text angegeben wurden (z.B. Name des Impfstoffes), wurden sowohl im Textformat als auch in einem Ja/Nein Format eingegeben.

## **5. Auswertung der Daten**

Die Auswertung der Daten wurde mit Hilfe der Programme Microsoft Office Excel 2007, Microsoft Office Access 2007, SPSS Statistics (Version 19) und SAS (Version 9.2) durchgeführt.

Die Studie beinhaltete zwei getrennte Auswertungsziele: Vergleich der BNP-Fall- und Kontrollbetriebe auf Betriebsebene und Vergleich auf Tierebene innerhalb der BNP-Fallbetriebe. Hierbei wurden die BNP-Kälber mit den Kontrollkälbern verglichen.

### **5.1. Auswertung der Daten auf Betriebsebene**

#### **5.1.1. Univariable Auswertung auf Betriebsebene**

Bei der univariablen Auswertung wurden die kategorischen und kontinuierlichen Variablen auf statistisch signifikante Unterschiede zwischen Fall- und Kontrollbetrieben überprüft. Hierzu wurden von den kategorischen Variablen Kreuztabellen angefertigt und Chi-Quadrat-Tests nach Pearson berechnet. Mit den kontinuierlichen Variablen wurden Boxplots angefertigt. Desweiteren wurden ein Mann-Whitney-U Test durchgeführt und Medianwerte errechnet (BORTZ & SCHUSTER, 2010). Dabei wurden die Daten der Fall- und Kontrollbetriebe als unabhängig voneinander betrachtet.

Im Fragebogen wurden die Daten zu Impfungen auf Betriebsebene nur für die letzten 12 Monate evaluiert, weshalb eine neue Variable *PregSure® BVD bei Muttertieren verwendet* (Ja/Nein) erstellt wurde, um die Informationen zu dieser Impfung auf die vergangenen Jahre zu erweitern. Hierfür wurde die Variable

Welcher BVDV Impfstoff wurde in der Vergangenheit verwendet mit herangezogen. Außerdem wurde eine weitere neue Variable *Herdengröße gesamt* erstellt.

### 5.1.2. Multivariable Auswertung auf Betriebsebene

Es wurden die Variablen mit einem p-Wert von unter 0,10 in der univariablen Auswertung mit Hilfe einer schrittweisen logistischen Regression (rückwärts mit Wald-Kriterium) ausgewertet (HOSMER & LEMESHOW, 2000). Zuvor wurden die Variablen auf Kolinearität überprüft. Bei Variablen, die miteinander korrelierten, wurde diejenige in das multivariable Modell eingebracht, die den niedrigsten p-Wert in der univariablen Analyse hatte. Variablen, die sehr häufig (>90 %) oder sehr selten (<10 %) genannt wurden, wurden nicht in die multivariable Auswertung mit aufgenommen.

Aufgrund der hohen Anzahl der Variablen wurde die multivariable Auswertung zunächst in den folgenden Themenblöcken durchgeführt:

Themenblock I	Allgemeine Betriebsdaten
Themenblock II	Kolostrummanagement und Milchfütterung
Themenblock III	Impfungen
Themenblock IV	Routinemäßige Medikamentengaben
Themenblock V	BVDV Historie und Impfung.

Die statistisch signifikanten Variablen ( $p < 0,05$ ) aus den einzelnen Themenblöcken wurden schließlich in einem gemeinsamen schrittweisen logistischen Modell ausgewertet.

## 5.2. Auswertung der Daten auf Tierebene

### 5.2.1. Auswertung der Blutwerte der BNP- und Kontrollkälber

Von der Gesamtanzahl der gesammelten Blutwerte der BNP- und Kontrollkälber wurde eine Excel Tabelle angelegt und die Werte der Leuko- und Thrombozyten wurden miteinander verglichen. Für die visuelle Darstellung der Daten wurden ein Streu-Punktediagramme und eine Kreuztabellen erstellt.

### 5.2.2. Univariable Auswertung auf Tierebene

Bei der univariablen Auswertung der Daten auf Tierebene innerhalb der Fallbetriebe wurden die Variablen nach folgenden Methoden auf Signifikanz überprüft: Zur Ermittlung der p-Werte wurden für die kategorischen Variablen Kreuztabellen erstellt und mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson statistisch signifikante Zusammenhänge untersucht. Für die kontinuierlichen Variablen wurden Boxplots erstellt und die Daten mittels Mann-Whitney-U Test auf Unterschiede zwischen Fall- und Kontrolltieren geprüft. Diese Auswertung korrigierte jedoch nicht für das Matching der Tiere innerhalb der Betriebe. Aus diesem Grund wurden Mantel-Haenszel korrigierte Zusammenhangsmaße und bedingte logistische Regressionen (univariable und univariate) berechnet (HOSMER & LEMESHOW, 2000).

Die Variable *BVDV Impfungen der Mütter der BNP-Kälber und Kontrollkälber* wurde in folgende Variablen (jeweils ja/nein) aufgeteilt, um die verschiedenen Impfstoffe miteinander vergleichen zu können: *PregSure® BVD*, *Bovilis® BVD*, *Bovidec® BVD*, *Mucobovin®* und *Vacoviron® FS*. Außerdem wurden zwei neue Variablen *Anzahl der verwendeten BVDV Impfstoffe (1-3)* und *Verschiedene Impfstoffe, PregSure® BVD zuerst verwendet (Ja/Nein)* gebildet.

### 5.2.3. Multivariable Auswertung auf Tierebene

Alle Variablen mit  $p < 0,10$  in der univariablen bedingten logistischen Auswertung wurden in ein multivariables, schrittweises, konditionelles logistisches Regressionsmodell (rückwärts mit Wald-Kriterium) gegeben (HOSMER & LEMESHOW, 2000). Die Variable mit dem höchsten p-Wert wurde entfernt und das Modell erneut gestartet. Dieser Vorgang wurde so lange wiederholt bis alle Variablen, die in diesem Modell verblieben, statistisch signifikant waren ( $p < 0,050$ ). Die Möglichkeit der Kolinearität zwischen Variablen wurde zu Beginn der Auswertung durch Prüfung auf Korrelationen und schrittweisem Ausschluss von sich beeinflussenden Variablen ausgeschlossen. Die konditionelle logistische Regression berücksichtigt den Matching-Faktor „Betrieb“.

## **IV. ERGEBNISSE**

### **1. Allgemeine Auswertungen**

#### **1.1. BNP-Fallbetriebe**

Insgesamt konnten 81 BNP-Fallbetriebe beprobt und befragt werden. 68 Betriebe von den 81 Fallbetrieben hatten ein bestätigtes BNP-Kalb, 12 Betriebe je zwei bestätigte BNP-Kälber und ein Betrieb drei bestätigte BNP-Kälber.

#### **1.2. BNP-Kälber**

Insgesamt wurden die Daten von 94 BNP-Kälbern entsprechend der Faldefinition in die Studie aufgenommen. Hiervon wurden 34 Fälle ausschließlich durch Blutergebnisse, 33 Fälle ausschließlich durch Sektionsbefunde und 27 Fälle durch Blutergebnisse und durch Sektionsbefunde bestätigt.

#### **1.3. Kontrollbetriebe**

Es wurden insgesamt 212 Kontrollbetriebe telefonisch von einer wissenschaftlichen Mitarbeiterin der Klinik für Wiederkäuer LMU München befragt.

#### **1.4. Kontrollkälber**

Es konnten Daten und Blutproben von insgesamt 322 Kontrollkälbern ausgewertet werden. Von den insgesamt 94 BNP-Fällen wurden bei 64 BNP-Fällen je vier Kontrollkälber (n=256) rekrutiert, bei zwölf BNP-Fällen konnten je drei Kontrollkälber (n=36) in die Studie aufgenommen werden, bei 14 BNP-Fällen wurden je zwei Kontrollkälber (n=28) und bei zwei BNP-Fällen wurde jeweils ein Kontrollkalb (n=2) erfasst. Bei zwei BNP-Fällen konnte kein Kontrollkalb beprobt werden, da sich zu diesem Zeitpunkt neben dem BNP-Kalb keine weiteren Kälber im Alter von 0-28 Tagen auf den Betrieben befanden.

### **2. Auswertungen auf Betriebsebene**

#### **2.1. Univariable Auswertung auf Betriebsebene**

Bei der univariablen Auswertung auf Betriebsebene wurden insgesamt 115 kategorische und 25 kontinuierliche Variablen analysiert. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der univariablen Auswertung auf Betriebsebene dargestellt und die 35

statistisch signifikanten Variablen mit p-Werten ( $p < 0,05$ ) fett hervorgehoben.

**Tabelle 2. Ergebnisse der univariablen Auswertung auf Betriebsebene von 81 BNP-Fallbetrieben und 212 Kontrollbetrieben**

Variable	Kontrollbetriebe (n=212)	BNP-Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
<b>Themenblock I Allgemeine Betriebsdaten</b>				
Produktionsrichtung			<b>0,042</b>	293
Gemischt	61	13		
Milchvieh	141	66		
Mast, Mutterkuhhaltung	10	2		
Gesamtzahl des Milchviehs	n=202	n=78	0,058	
Medianwert	100	114		
Gesamtzahl der Masttiere, Mutterkühe	n=71	n=15	0,830	
Medianwert	30	60		
Herdengröße Milchvieh			0,142	272
Zunahme	52	13		
Abnahme	21	13		
Gleich	129	44		
Herdengröße Masttiere, Mutterkühe			0,520	83
Zunahme	6	2		
Abnahme	6	2		
Gleich	58	9		
Herdengröße gesamt	n=212	n=81	0,096	
Medianwert	110	120		
Anzahl der laktierenden und trockenstehenden Kühe Milchvieh	n=202	n=79	<b>0,025</b>	
Medianwert	47	60		
Anzahl der laktierenden und trockenstehenden Mutterkühe	n=212	n=81	0,321	
Medianwert	1	1		
Milchvieh - durchschnittliche 305- Tage Laktationsleistung	n=200	n=72	<b>0,018</b>	
Medianwert	7500	8000		
Andere Tierarten auf dem Betrieb				
Schafe			0,312	293
Nein	201	79		
Ja	11	2		
Falls Ja: Anzahl	n=212	n=81	0,387	
Medianwert	1	1		

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
Ziegen			0,474	293
Nein	203	79		
Ja	9	2		
Falls Ja: Anzahl	n=212	n=81	0,483	
Medianwert	1	1		
Saisonale Abkalbung			0,470	292
Nein	202	79		
Ja	9	2		
Zukauf von Milchkühen			0,482	281
Nein	173	69		
Ja	30	9		
Färsen zur Zucht			n. b.	287
Stammen aus dem eigenen Betrieb				
Nein	0	0		
Ja	207	80		
Wie viel % der Nachzucht stammen aus dem eigenen Betrieb	n=207	n=63	0,146	
Medianwert	100	100		
Auf einem Aufzuchtbetrieb aufgezogen			0,163	293
Nein	207	81		
Ja	5	0		
Wie viel % der Nachzucht auf einem Aufzuchtbetrieb aufgezogen	n=212	n=81	0,164	
Medianwert	1	1		
Zukauf von einem anderen Betrieb			0,232	293
Nein	196	78		
Ja	16	3		
Wie viel % der Nachzucht von einem anderen Betrieb zugekauft	n=212	n=81	0,100	
Medianwert	1	1		
Verkauf von Kälbern < 4 Wochen			0,573	290
Nein	159	58		
Ja	51	22		
Falls ja in welchem Alter	n=44	n=21	0,569	
Medianwert	14	14		
Wie viel % der weiblichen Kälber werden verkauft	n=212	n=81	0,395	
Medianwert	1	1		
Wie viel % der männlichen Kälber werden verkauft	n=212	n=81	0,666	
Medianwert	1	1		

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
<b>Themenblock II Kolostrummanagement und Milchfütterung</b>				
Saugen Kälber bei der Mutter			0,809	292
Nein	177	67		
Ja	34	14		
Saugen Kälber ad libitum bei der Mutter			<b>0,037</b>	51
Nein	4	5		
Ja	33	9		
Routinemäßiges Drenchen von Kälbern mit Kolostrum			<b>0,018</b>	290
Nein	144	67		
Ja, wenn das Kalb die 1. Tränke verweigert	65	14		
Falls Ja Menge in Liter	n=212	n=81	<b>0,017</b>	
Medianwert	1	1		
Gesamtmenge an Kolostrumangebot innerhalb von 12 h p.n.	n=139	n=52	0,347	
Medianwert	4	4		
Zeit zwischen Geburt und der ersten Kolostrumaufnahme			0,100	290
<1h	79	33		
1-2h	44	22		
2-6h	77	24		
>6	11	0		
Kolostrumangebot innerhalb von 24 h p.n.	n=205	n=77	0,390	
Medianwert	3	3		
Wie viele Tage wird den Kälbern Kolostrum angeboten	n=211	n=79	<b>&lt;0,001</b>	
Medianwert	6	5		
Herkunft des Kolostrums			<b>&lt;0,001</b>	290
Von der eigenen Mutter				
Immer	18	19		
Manchmal	193	60		
Niemals	0	0		
Wie viel %, wenn manchmal	n=194	n=59	<b>&lt;0,001</b>	
Medianwert	95	90		
Von anderer Kuh aus eigenem Betrieb			<b>&lt;0,001</b>	292
Immer	0	4		
Manchmal	185	54		
Niemals	27	22		

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
Wie viel %, wenn manchmal Medianwert	n=185 5	n=53 10	<b>&lt;0,001</b>	
Von anderer Kuh aus fremden Betrieb			<b>0,047</b>	292
Immer	0	1		
Manchmal	9	0		
Niemals	203	79		
Wie viel %, wenn manchmal Medianwert	n=212 1	n=81 1	0,060	
Mischkolostrum aus eigenem Betrieb			<b>0,015</b>	292
Immer	0	1		
Manchmal	35	23		
Niemals	177	56		
Wie viel %, wenn manchmal Medianwert	n=212 1	n=81 1	<b>0,048</b>	
Mischkolostrum aus fremden Betrieb			0,182	292
Immer	0	1		
Manchmal	2	0		
Niemals	210	79		
Wie viel %, wenn manchmal Medianwert	n=212 1	n=81 1	0,381	
Nur Kolostrumersatz ohne IgG			0,074	304
Immer	0	2		
Manchmal	0	0		
Niemals	2012	78		
Wie viel %, wenn manchmal Medianwert	n=212 1	n=81 1	0,106	
Nur Kolostrumersatz mit IgG			0,164	291
Immer	0	1		
Manchmal	4	3		
Niemals	208	75		
Wie viel %, wenn manchmal Medianwert	n=212 1	n=81 1	0,381	
Zusätzlich Kolostrumergänzungsmittel			0,481	291
Immer	5	4		
Manchmal	7	3		
Niemals	200	72		
Wie viel %, wenn manchmal Medianwert	n=212 1	n=81 1	0,315	

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
<b>Milchfütterung</b>				
Milchaustauscher			0,784	293
Nein	98	36		
Ja	114	45		
Rohmilch			<b>0,004</b>	293
Nein	20	18		
Ja	192	63		
Tankmilch			<b>0,005</b>	293
Nein	58	36		
Ja	154	45		
Milch von Kühen mit hohem Zellgehalt oder klinischer Mastitis			<b>&lt;0,001</b>	293
Nein	85	51		
Ja	127	30		
Verworfenen Milch			0,185	293
Nein	118	52		
Ja	94	29		
Andere Milchfütterung			<b>0,009</b>	293
Nein	195	81		
Ja	17	0		
<b>Themenblock III Impfungen (in den letzten 12 Monaten)</b>				
<b>BVDV</b>				
Kälber <= 6 Monate			<b>0,030</b>	293
Nein	208	75		
Ja	4	6		
Jungrinder > 6 Monate			0,544	293
Nein	191	71		
Ja	21	10		
Färsen zur Zucht			0,229	293
Nein	173	61		
Ja	39	20		
Milchkühe			0,541	293
Nein	179	66		
Ja	33	15		
PregSure® BVD bei Muttertieren verwendet			<b>&lt;0,001</b>	263
Nein	141	7		
Ja	43	72		

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
<b>IBR</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,905	293
Nein	209	80		
Ja	3	1		
Jungrinder > 6 Monate			0,533	293
Nein	209	79		
Ja	3	2		
Färsen zur Zucht			0,905	293
Nein	209	80		
Ja	3	1		
Milchkühe			0,424	293
Nein	206	80		
Ja	6	1		
<b>BTV</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,426	293
Nein	176	64		
Ja	36	17		
Jungrinder > 6 Monate			0,783	293
Nein	168	63		
Ja	44	18		
Färsen zur Zucht			0,710	293
Nein	164	61		
Ja	48	20		
Milchkühe			0,459	293
Nein	173	63		
Ja	39	18		
<b>BRSV</b>				
Kälber <= 6 Monate			<b>0,007</b>	293
Nein	146	42		
Ja	66	39		
Jungrinder > 6 Monate			<b>0,024</b>	293
Nein	187	63		
Ja	25	18		
Färsen zur Zucht			<b>0,022</b>	293
Nein	211	77		
Ja	1	4		
Milchkühe			0,066	293
Nein	211	78		
Ja	1	3		
<b>Trichophytie</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,994	293
Nein	191	73		

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
Ja	21	8		
Jungrinder > 6 Monate			0,220	293
Nein	207	74		
Ja	5	7		
Färsen zur Zucht			0,956	293
Nein	207	79		
Ja	5	2		
Milchkühe			0,865	293
Nein	206	79		
Ja	6	2		
<b>Lungenwurm</b>				
Kälber <= 6 Monate			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Jungrinder > 6 Monate			0,076	293
Nein	212	79		
Ja	0	2		
Färsen zur Zucht			<b>0,021</b>	293
Nein	212	78		
Ja	0	3		
Milchkühe			0,076	293
Nein	2012	79		
Ja	0	2		
<b>Rota/Coronavirus</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,282	293
Nein	209	81		
Ja	3	0		
Jungrinder > 6 Monate			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Färsen zur Zucht			0,740	293
Nein	161	60		
Ja	51	21		
Milchkühe			<b>0,021</b>	293
Nein	148	45		
Ja	64	36		
<b>Pasteurella</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,066	293
Nein	179	75		
Ja	33	6		
Jungrinder > 6 Monate			0,312	293
Nein	201	79		

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
Ja	11	2		
Färsen zur Zucht			0,536	293
Nein	211	81		
Ja	1	0		
Milchkühe			0,536	293
Nein	211	81		
Ja	1	0		
<b>Parainfluenza 3</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,894	293
Nein	169	64		
Ja	43	17		
Jungrinder > 6 Monate			0,692	293
Nein	199	75		
Ja	13	6		
Färsen zur Zucht			0,478	293
Nein	211	80		
Ja	1	1		
Milchkühe			0,478	293
Nein	211	80		
Ja	1	1		
<b>Leptospirose</b>				
Kälber <= 6 Monate			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Jungrinder > 6 Monate			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Färsen zur Zucht			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Milchkühe			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
<b>Weitere Impfungen</b>				
Kälber <= 6 Monate			<b>0,038</b>	293
Nein	201	81		
Ja	11	0		
Jungrinder > 6 Monate			n. b.	285
Nein	206	79		
Ja	0	0		
Färsen zur Zucht			n. b.	237
Nein	158	79		

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
Ja	0	0		
Milchkühe			<b>&lt;0,001</b>	293
Nein	143	78		
Ja	69	3		
<b>Themenblock IV Routinemäßige Medikamentengaben (in den letzten 12 Monaten)</b>				
<b>Sulfonamide</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,108	293
Nein	207	76		
Ja	5	5		
Jungrinder > 6 Monate			0,105	293
Nein	212	80		
Ja	0	1		
Färsen zur Zucht			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Milchkühe			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
<b>Vitamine, Spurenelemente</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,110	293
Nein	194	69		
Ja	18	12		
Jungrinder > 6 Monate			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Färsen zur Zucht			0,129	293
Nein	211	79		
Ja	1	2		
Milchkühe			0,753	293
Nein	208	79		
Ja	4	2		
<b>Antibiotika</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,489	293
Nein	203	76		
Ja	9	5		
Jungrinder > 6 Monate			0,105	293
Nein	212	81		
Ja	0	1		
Färsen zur Zucht			n. b.	293
Nein	212	81		

Variable	Kontroll- betriebe (n=212)	BNP- Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
Ja	0	0		
Milchkühe			0,797	293
Nein	178	69		
Ja	34	12		
<b>Insektizide Ohrclips</b>				
Kälber <= 6 Monate			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Jungrinder > 6 Monate			0,380	293
Nein	210	81		
Ja	2	0		
Färsen zur Zucht			0,380	293
Nein	210	81		
Ja	2	0		
Milchkühe			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
<b>Insektizide Pour on Präparate</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,161	293
Nein	202	80		
Ja	10	1		
Jungrinder > 6 Monate			<b>0,019</b>	293
Nein	184	78		
Ja	28	3		
Färsen zur Zucht			0,285	293
Nein	174	62		
Ja	38	19		
Milchkühe			0,871	293
Nein	163	63		
Ja	49	18		
<b>Antiparasitische Behandlungen</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,270	293
Nein	171	74		
Ja	41	7		
Jungrinder > 6 Monate			<b>&lt;0,001</b>	293
Nein	172	79		
Ja	40	2		
Färsen zur Zucht			0,161	293
Nein	184	65		
Ja	28	16		
Milchkühe			0,760	293
Nein	181	68		

Variable	Kontrollbetriebe (n=212)	BNP-Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
Ja	31	13		
<b>Weitere Medikamente</b>				
Kälber <= 6 Monate			0,612	283
Nein	186	76		
Ja	16	5		
Jungrinder > 6 Monate			n. b.	293
Nein	212	81		
Ja	0	0		
Färsen zur Zucht			n. b.	291
Nein	210	81		
Ja	0	0		
Milchkühe			n. b.	277
Nein	201	76		
Ja	0	0		
<b>Themenblock V BVDV Historie und Impfung</b>				
BVDV Frei während der letzten 12 Monate			0,745	293
Nein	11	3		
Ja	170	68		
Unbekannt	31	10		
Falls BVDV frei - wie wurde das festgestellt			<0,001	293
Keine klinischen Anzeichen in der Herde				
Nein	206	61		
Ja	6	20		
Kontrollprogramm - Testen und Keulen			0,216	293
Nein	209	78		
Ja	3	3		
Herdentest			<b>0,001</b>	293
Nein	188	59		
Ja	24	22		
Ein bestätigtes PI Tier innerhalb der letzten 12 Monate			0,867	293
Nein	200	76		
Ja	12	5		
Kein Monitoring	0	0		
Ein bestätigtes PI Tier bis in das Jahr 2005 zurück			0,134	293
Nein	94	37		
Ja	27	17		

Variable	Kontrollbetriebe (n=212)	BNP-Fallbetriebe (n=81)	p-Wert	Anzahl (n)
Kein monitoring	91	27		
BVDV Impfprogramm			<0,001	290
Nein	94	5		
Ja	115	76		
Gründe für Beginn des Impfprogrammes			<0,001	174
BVDV Problem im Bestand	49	51		
Vermeidung eines BVDV Problemes	10	21		
Unbekannter Status	3	3		
Andere	37	0		
Gegenwärtiges Impfen gegen BVDV			0,489	292
Nein	167	60		
Ja	45	20		
Verwendung eines anderen BVDV Impfstoffes in der Vergangenheit			0,110	154
Nein	10	3		
Ja	76	65		
Impfung gemäß der Richtlinien der Hersteller			0,766	152
Nein	9	9		
Ja	72	62		
Wurde Bovilis BVD zweimal innerhalb von vier Wochen geimpft			0,271	66
Nein	4	7		
Ja	30	25		
Wurde neben der BVD Impfung simultan gegen andere Krankheiten geimpft			0,283	163
Nein	80	75		
Ja	6	2		

## 2.2. Multivariable Auswertung auf Betriebsebene

### 2.2.1. Themenblock I - Allgemeine Betriebsdaten

In der multivariablen Auswertung der allgemeinen Betriebsdaten (Themenblock I) wurden die Variablen der univariablen Auswertung mit einem p-Wert von  $< 0,20$  (siehe Tabelle 2) eingeschlossen. Bei der neuen Variablen *Produktionsrichtung Milchvieh vs Mast-, Mutterkuh- und Mischbetriebe* wurden die ursprünglich getrennten Antwortmöglichkeiten *Mast- und Mutterkuhbetrieb* und *Mischbetrieb* wegen des kleinen Datenvolumens ( $< 10\%$ ) zusammengefasst. Nach Prüfung auf Kolinearität verblieben zunächst die Variablen *Produktionsrichtung Milchvieh vs*

*Mast-, Mutterkuh- und Mischbetriebe, Herdengröße gesamt* und *305 Tages Laktationsleistung* in der Auswertung. Nachdem die Variable *305 Tages Laktationsleistung* nicht für die Produktionsrichtung Mast bzw. Mutterkuhhaltung zutrifft, und es bei Aufnahme in das Modell zu einem Datenverlust gekommen wäre, wurde die Variable aus dem Modell entfernt. Von den eingefügten Variablen *Produktionsrichtung Milchvieh vs Mast-, Mutterkuh- und Mischbetriebe* und *Herdengröße gesamt* verblieb *Produktionsrichtung Milchvieh vs Mast-, Mutterkuh- und Mischbetriebe* mit einem Regressionskoeffizienten von -0,796, einem p-Wert von 0,013 und einer Odds Ratio von 0,451 (95 % KI: 0,241-0,847) im letzten Schritt des Modells.

### 2.2.2. Themenblock II - Kolostrummanagement und Milchfütterung

Bei der multivariablen Auswertung des Kolostrummanagements und der Milchfütterung (Themenblock II) wurden die Variablen aus der univariablen Auswertung mit einem p-Wert von  $< 0,20$  (siehe Tabelle 2) in das Modell aufgenommen. Die Variable *Verfütterung von Tankmilch* wurde aufgrund der Korrelation mit der Variablen *Verfütterung von Rohmilch* und wegen des höheren p-Wertes ausgeschlossen. Die Variable *Verfütterung von Kolostrumergänzungsmittel ohne Immunglobuline* wurde nur selten angegeben ( $< 10\%$ ) und deshalb ausgeschlossen. In der Tabelle 3 sind die Ergebnisse der multivariablen Auswertung des Kolostrummanagements und der Milchfütterung dargestellt.

**Tabelle 3. Ergebnisse der multivariablen Auswertung des Kolostrummanagements und Milchfütterung bei 81 BNP-Fallbetrieben und 212 Kontrollbetrieben**

	Regressionskoeffizient	Statistische Signifikanz	Odds Ratio	95% Konfidenzintervall
Mischkolostrum aus eigenem Betrieb Manchmal versus Niemals	1,019	0,005	2,770	1,351 - 5,683
Drenchen der Kälber mit Kolostrum Ja, wenn das Kalb die 1. Mahlzeit verweigert versus Nein	-0,838	0,034	0,433	0,199 - 0,940
Kolostrum von anderer Kuh aus eigenem Betrieb in %	0,055	0,015	1,057	1,011 - 1,104

### 2.2.3. Themenblock III - Impfungen

In der Tabelle 4 sind die Ergebnisse der multivariablen Auswertung der Impfungen (Themenblock III) dargestellt. Die Variablen aus der univariablen Auswertung mit einem p-Wert  $< 0,20$  (siehe Tabelle 2) wurden in das Modell aufgenommen. Folgende Variablen wurden aufgrund geringer Nennung des Zutreffens ( $< 10\%$ ) ausgeschlossen: *BVDV Impfung von Kälbern bis zu 6 Monaten*, *BRSV Impfung von Kalbinnen und Kühen*, *Impfungen gegen Lungenwürmer in allen Altersklassen* und *Andere Impfungen*. Die Variable *Pasteurella Impfung Kälber bis zu 6 Monaten* wurde aufgrund von Kolinearität mit der Variable *BRSV Impfung Nachzucht > 6 Monate* und wegen des höheren p-Wertes von der Auswertung ausgeschlossen.

**Tabelle 4. Ergebnisse der multivariablen Auswertung der Impfungen bei 81 BNP-Fallbetrieben und 212 Kontrollbetrieben**

	Regressions- koeffizient	Statistische Signifikanz	Odds Ratio	95% Konfidenzintervall
BRSV Impfung Nachzucht > 6 Monate Ja versus Nein	1,018	0,038	2,769	1,056 - 7,262
PregSure® BVD bei Muttertieren verwendet Ja versus Nein	3,569	$< 0,001$	35,475	14,922 - 84,337

### 2.2.4. Themenblock IV - Routinemäßige Medikamentengaben

Bei der multivariablen Auswertung der routinemäßigen Medikamentengaben (Themenblock IV) wurden die Variablen *Insektizide Pour on Präparate Jungrinder > 6 Monate* und *Antiparasitische Behandlung Jungrinder > 6 Monate* analysiert. Für die im Modell verbliebene Variable *Antiparasitische Behandlung Jungrinder > 6 Monate* ergab sich ein Regressionskoeffizient von -2,218, ein p-Wert von 0,003 und eine Odds Ratio von 0,109 (95 % KI: 0,026-0,462).

### 2.2.5. Themenblock V - BVDV Historie und Impfung

Die Variablen aus der univariablen Auswertung mit einem p-Wert  $< 0,20$  (siehe Tabelle 2) wurden in das Modell aufgenommen. Die Variablen *Falls BVDV frei, festgestellt durch keine klinischen Anzeichen der Herde* und *Falls BVDV frei, festgestellt durch Bluttest der Herde* wurden aufgrund niedriger zutreffender Nennungen ausgeschlossen. Die Variable *Gründe für Beginn der Impfung* wurde

nicht in die Auswertung aufgenommen, da es sich hierbei um eine Teilfrage der Variable *Gab es ein BVDV Impfprogramm* handelt. Die Ergebnisse der multivariablen Auswertung für die Variable *Gab es ein BVDV Impfprogramm Ja versus Nein* sind: Regressionskoeffizient 2,520, p-Wert <0,001, Odds Ratio 12,424 (95 % KI: 4,829-31,967).

### 2.2.6. Themenblöcke I - V zusammengefasst

In der Tabelle 5 sind die Ergebnisse der multivariablen Auswertung der zusammengefassten Themenblöcke einzusehen. Es wurden die beschriebenen Ergebnisse der Punkte 2.2.1. bis 2.2.5. in das Modell aufgenommen. Die Variable *Kolostrum von anderer Kuh aus eigenem Betrieb* wurde nicht in das Modell aufgenommen, da bekannt war, dass in BNP-Fallbetrieben das Kolostrummanagement bereits oft verändert worden war. Die Umstellung des Kolostrummanagements war eine Konsequenz aus dem Auftreten der Krankheit und daher kann diese Variable keinen Risikofaktor darstellen.

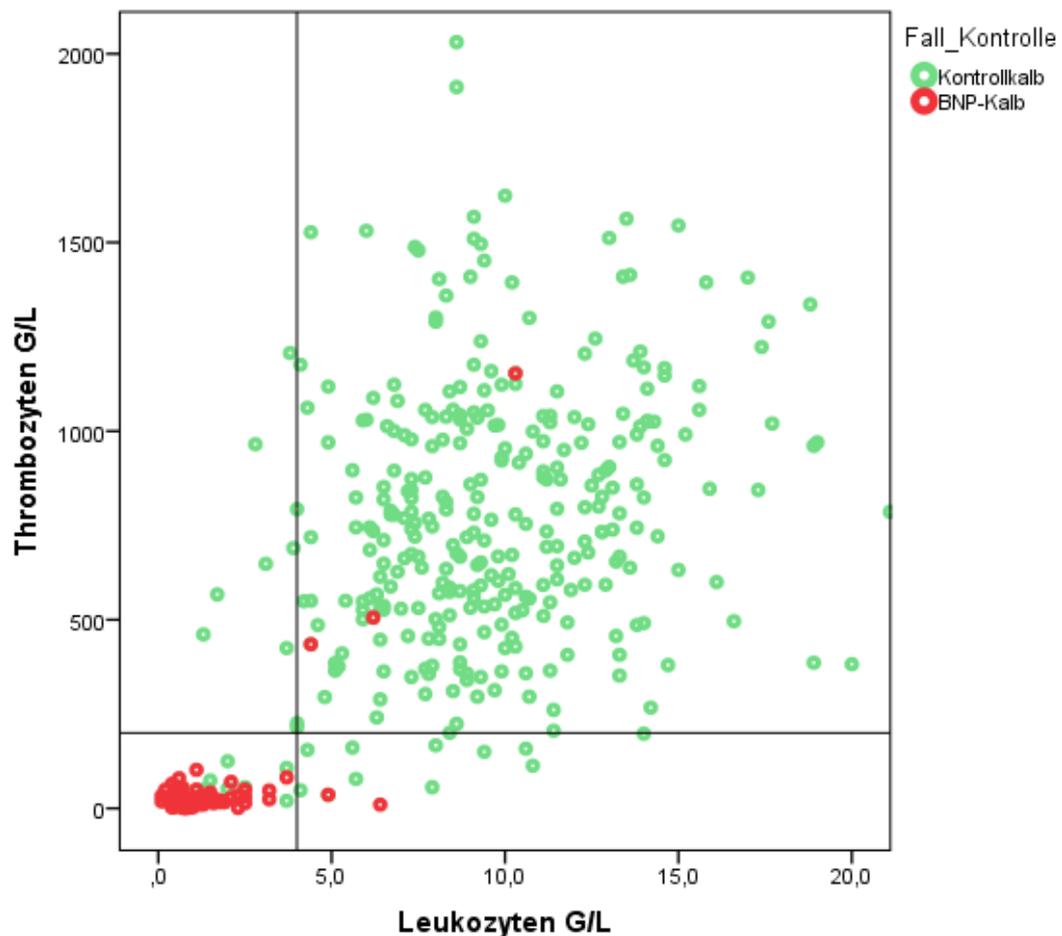
**Tabelle 5. Ergebnisse der multivariablen Auswertung der Ergebnisse der zusammengefassten Themenblöcke bei 81 BNP-Fallbetrieben und 212 Kontrollbetrieben**

	Regressionskoeffizient	Statistische Signifikanz	Odds Ratio	95% Konfidenzintervall
Mischkolostrum aus eigenem Betrieb Manchmal versus Niemals	1,022	0,049	2,780	1,006 - 7,682
Drenchen der Kälber mit Kolostrum Ja, wenn das Kalb die 1. Mahlzeit verweigert versus Nein	-1,481	0,001	0,227	0,092 - 0,559
BRSV Impfung Jungrinder > 6 Monate Ja versus Nein	1,486	0,011	4,418	1,406 - 13,881
PregSure® BVD bei Muttertieren verwendet Ja versus Nein	4,056	<0,001	57,767	21,677 - 153,943
Antiparasitische Behandlung Jungrinder > 6 Monate Ja versus Nein	-3,667	0,002	0,026	0,003 - 0,250

### 3. Auswertungen auf Tierebene

#### 3.1. Blutwerte der BNP- und Kontrollkälber

Zur Auswertung der gesammelten Blutproben der BNP- und Kontrollkälber wurden insgesamt 387 Proben analysiert. In der Abbildung 1 sind die Werte der Leuko- und Thrombozyten für BNP- und Kontrollkälber dargestellt. Anhand der Tabelle 6 werden die visuellen Ergebnisse der Abbildung 1 in Zahlen dargestellt.



**Abbildung 1. Streu-Punktediagramm der Blutwerte der 65 BNP-Kälber und 322 Kontrollkälber mit den eingezeichneten Referenzbereichen für Leukozyten bei 4 G/L und für Thrombozyten bei 200 G/L**

**Tabelle 6. Ergebnisse der Auswertung der Blutproben der 65 BNP-Kälber und 322 Kontrollkälber**

Blutwerte	Kontroll- kalb	BNP- Kalb	Gesamt
Leukozyten < 4 G/L Thrombozyten < 200 G/L = Definition von BNP in der vorliegenden Studie	8	60	68
Leukozyten < 4 G/L Thrombozyten > 200 G/L	10	0	10
Leukozyten > 4 G/L Thrombozyten > 200 G/L	292	3	295
Leukozyten > 4 G/L Thrombozyten < 200 G/L	12	2	14
Gesamt	322	65	387

**3.2. Univariable Auswertung auf Tierebene**

Bei der univariablen Auswertung der Daten auf Tierebene wurden 50 kategorische und 11 kontinuierliche Variablen analysiert. Die Variable *BVDV Impfungen der Mütter der BNP-Kälber und Kontrollkälber* wurde in folgende Variablen aufgeteilt: *PregSure® BVD*, *Bovilis® BVD*, *Bovidec® BVD*, *Mucobovin®* und *Vacoviron® FS*. In der Tabelle 7 sind die Ergebnisse der univariablen Auswertung der Daten auf Tierebene mit den statistisch signifikanten Variablen ( $p < 0,05$ ) fett dargestellt. Dabei wurden drei verschiedene Auswertungsverfahren berücksichtigt: Chi Quadrat Tests nach Pearson (Matching unberücksichtigt), Mantel-Haenszel Zusammenhangsmaß und bedingte logistische Regression.

**Tabelle 7. Ergebnisse der univariablen Auswertung auf Tierebene von 94 BNP-Kälbern und 322 Kontrollkälbern**

Variable	Kontroll -kälber	BNP- kälber	Chi- Quadrat	Mantel Haenszel	Cond. log reg	Anzahl (n)
<b>Gegenwärtiger BNP-Fall</b>						
Geschlecht			0,593	0,437	0,433	313
Männlich	150	48				
Weiblich	163	46				
Kalbung beobachtet			0,329	0,184	0,129	416
Nein	124	31				
Ja	198	63				
Einzel- oder Gruppenkalbung			0,848	0,526	0,477	386
Einzelkalbung	263	77				

Variable	Kontroll -kälber	BNP- kälber	Chi- Quadrat	Mantel Haenszel	Cond. log reg	Anzahl (n)
Gruppenkalbung	35	11				
Zwillingskalbung			0,436	0,536	0,510	416
Nein	299	85				
Ja	23	9				
Zwilling mit BNP			<b>&lt;0,001</b>	n.b.	0,147	416
Nein	322	86				
Ja	0	8				
Zu welcher Tageszeit geboren			<b>0,001</b>	<b>0,019</b>	<b>0,021</b>	255
Morgens 6-12 Uhr	44	31				
Nachmittags 12-18 Uhr	59	9				
Abends 18-22 Uhr	43	10				
Nachts 22-6 Uhr	46	13				
Innerhalb der ersten 12 Stunden an der Mutter getrunken			0,550	0,159	0,165	396
Nein	231	74				
Ja	22	8				
Möglich	24	4				
Nicht sicher	27	6				
Stunden zwischen Geburt und erster Kolostrumgabe Medianwert	n=266 1,5	n=82 1	0,255	n.b.	<b>0,002</b>	
Wie oft erhielt das Kalb innerhalb der ersten 24 Stunden Kolostrum Medianwert	n=295 3	n=88 3	0,659	n.b.	0,718	
Gesamtmenge an Kolostrum Medianwert	n=276 4,5	n=83 4	0,652	n.b.	0,395	
Kolostrum von anderen Kuh/Kühen erhalten			0,450	0,263	0,172	384
Nein	272	78				
Ja	24	10				
Kolostrum von eigenem oder fremden Betrieb Eigener Betrieb			n.b.	n.b.	n.b.	59
	44	15				

Variable	Kontroll -kälber	BNP- kälber	Chi- Quadrat	Mantel Haenszel	Cond. log reg	Anzahl (n)
Fremder Betrieb	0	0				
Mischkolostrum			0,213	0,116	0,093	380
Nein	282	81				
Ja	11	6				
Eingefrorenes Kolostrum			0,136	0,164	0,159	378
Nein	285	82				
Ja	6	5				
Falls eingefrorenes Kolostrum vertränkt wurde						
Eigener oder fremder Betrieb			n.b.	n.b.	n.b.	16
Eigener	10	6				
Fremder	0	0				
Anzahl der Laktationen	n=2	n=1	1,000	n.b.	n.b.	
Medianwert	2	2				
Impfungen wie Herde			n.b.	n.b.	n.b.	11
Nein	0	0				
Ja	7	4				
Falls Mischkolostrum vertränkt wurde						
Inklusive Kolostrum der eigenen Mutter			0,497	n.b.	n.b.	29
Nein	10	3				
Ja	9	6				
Unbekannt	1	0				
Falls Kolostrumersatz vertränkt wurde			0,891	n.b.	n.b.	368
Nein	281	82				
Ja	4	1				
Ausschließlich Kolostrumersatz			n.b.	n.b.	n.b.	10
Nein	8	2				
Ja	0	0				
Zusätzlich zum Kolostrum der eigenen Mutter			1,000	n.b.	n.b.	10
Nein	4	1				
Ja	4	1				

Variable	Kontroll -kälber	BNP- kälber	Chi- Quadrat	Mantel Haenszel	Cond. log reg	Anzahl (n)
Zusätzlich zu eingefrorenem Kolostrum			n.b.	n.b.	n.b.	10
Nein	8	2				
Ja	0	0				
Menge an Kolostrumersatz	n=4	n=1	1,000	n.b.	n.b.	
Medianwert	2	2				
<b>Milchfütterung</b>						
Milchaustauscher			0,954	n.b.	n.b.	416
Nein	210	61				
Ja	112	33				
Rohmilch			0,958	0,741	0,785	416
Nein	208	61				
Ja	114	33				
Rohmilch der eigenen Mutter			0,628	0,323	0,231	416
Nein	153	42				
Ja	169	52				
Tankmilch			0,513	0,170	0,144	416
Nein	190	59				
Ja	132	35				
Milch von Kühen mit hohem Zellgehalt oder klinischer Mastitis			0,876	0,269	0,288	416
Nein	258	76				
Ja	64	18				
Sperrmilch (z.B. von Kühen mit Wartezeit)			0,929	0,425	0,435	416
Nein	259	76				
Ja	63	18				
Andere Milchfütterung			0,707	n.b.	0,678	416
Nein	314	91				
Ja	8	3				
<b>Muttertiere der BNP-Kälber und Kontrollkälber</b>						
Anzahl der Laktationen	n=266	n=85	<0,001	n.b.	<0,001	
Medianwert	2	4				

Variable	Kontroll -kälber	BNP- kälber	Chi- Quadrat	Mantel Haenszel	Cond. log reg	Anzahl (n)
305 Tages- Laktationsleistung während der vorherigen Laktation Medianwert	n=158  7487	n=68  7965	0,368	n.b.	0,805	
Stammt das Kalb aus einem Embryo-Transfer			0,589	n.b.	0,756	416
Nein	321	94				
Ja	1	0				
Wurde die Mutter auf dem Betrieb geboren			0,718	0,732	0,690	416
Nein	27	9				
Ja	295	85				
Wurde die Mutter zugekauft			0,265	0,311	0,261	416
Nein	310	88				
Ja	12	6				
Bereits trächtig zugekauft			0,208	n.b.	0,244	22
Nein	12	7				
Ja	3	0				
Aufgezogen auf einem anderen Betrieb			n.b.	n.b.	n.b.	1
Nein	0	0				
Ja	0	1				
Hatte bereits ein BNP-Kalb			<0,001	n.b.	0,156	416
Nein	321	87				
Ja	1	7				
<b>Ausgang der vorhergehenden Kalbungen der letzten zwei Jahre</b>						
<b>Kälber geboren im Jahr 2010</b>						
Blutungen			0,725	n.b.	n.b.	10
Nein	0	1				
Ja	1	8				
Klinische Anzeichen			0,725	n.b.	n.b.	10
Nein	0	1				
Ja	1	8				
Tod			n.b.	n.b.	n.b.	10
Nein	0	0				

Variable	Kontroll -kälber	BNP- kälber	Chi- Quadrat	Mantel Haenszel	Cond. log reg	Anzahl (n)
Ja	1	9				
Alter bei Tod Tage	n=1	n=7	0,122	n.b.	0,610	
Medianwert	6	14				
<b>Kälber geboren im Jahr 2009</b>						
Blutungen			0,598	n.b.	n.b.	10
Nein	1	7				
Ja	0	2				
Klinische Anzeichen			0,598	n.b.	n.b.	10
Nein	1	7				
Ja	0	2				
Tod			0,107	n.b.	n.b.	10
Nein	0	7				
Ja	1	2				
Alter bei Tod Tage	n=1	n=1	<0,001	n.b.	n.b.	
Medianwert	44	18				
<b>Impfungen der Muttertiere der BNP-Kälber und Kontrollkälber</b>						
BTV			0,066	<b>0,046</b>	<b>0,027</b>	368
Nein	41	6				
Ja	241	80				
BVDV			<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	374
Nein	76	10				
Ja	204	84				
PregSure® BVD			<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	416
Nein	175	10				
Ja	147	84				
Bovilis® BVD-MD			0,059	<b>0,005</b>	<b>0,003</b>	416
Nein	279	74				
Ja	43	20				
Bovidec®			<b>0,018</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	416
Nein	268	68				
Ja	54	26				
Mucobovin®			0,915	n.b.	n.b.	416
Nein	311	91				
Ja	11	3				
Vacoviron® FS			<b>0,010</b>	<b>0,022</b>	<b>0,009</b>	416
Nein	317	88				
Ja	5	6				

Variable	Kontroll -kälber	BNP- kälber	Chi- Quadrat	Mantel Haenszel	Cond. log reg	Anzahl (n)
Anzahl der BVDV Impfstoffe die verwendet wurden			0,624	< <b>0,001</b>	<b>0,003</b>	251
Einer	82	37				
Zwei	77	41				
Drei	8	6				
Wurde bei verschiedenen Impf- stoffen PregSure® BVD zuerst verwendet			<b>0,008</b>	n.b.	0,432	128
Nein	3	8				
Ja	79	38				
Monate vor dem Abkalben	n=161	n=81	<b>0,038</b>	n.b.	0,060	
Medianwert	16	19				
Wie oft geimpft	n=180	n=78	< <b>0,001</b>	n.b.	<b>0,003</b>	
Medianwert	3	4				
Mutterschutz- impfung Rota Corona			0,672	0,338	0,193	408
Nein	204	58				
Ja	111	35				
IBR			0,505	n.b.	0,507	407
Nein	313	88				
Ja	4	2				
Andere Impfungen			0,337	0,176	0,069	408
Nein	303	89				
Ja	14	2				
<b>Väter des BNP-Kalbes und der Kontrollkälber</b>						
Stier in der Herde			0,998	0,767	0,751	416
Nein	298	87				
Ja	24	7				
Künstliche Besamung			0,798	0,510	0,482	416
Nein	55	15				
Ja	267	79				
Bereits Vater von anderen BNP-Kälbern gewesen			0,227	0,188	0,200	416
Nein	308	87				
Ja	14	7				

### 3.3. Multivariable Auswertung auf Tierebene

Bei der multivariablen Auswertung auf Tierebene wurden die Variablen der univariablen Auswertung mit einem p-Wert  $< 0,20$  (siehe Tabelle 7) einbezogen. Die Variablen *Alter von verendeten Kälbern aus dem Jahr 2009*, *Impfung mit Vacoviron®*, *Impfung mit Mucobovin*, *Hatte bereits ein BNP-Kalb* und *Zwilling mit BNP* wurden aufgrund zu geringer Variation in den Antworten ( $<10\%$  ‚ja‘ Nennung) von der Auswertung ausgeschlossen. Des Weiteren konnte die Variable *BTV Impfung der Muttertiere* wegen Kolinearität mit der Variablen *BVDV Impfung der Muttertiere* nicht in die Analyse einbezogen werden. Die Variablen *Verschiedene BVDV Impfstoffe verwendet* und *PregSure® BVD zuerst verwendet* wurden von der Auswertung ausgeschlossen, da es sich um Teilmengen der Variable *BVDV Impfung der Muttertiere* handelten. In der Tabelle 8 sind die Ergebnisse der multivariablen Auswertung auf Tierebene mit der Variablen *BVDV Impfung* ohne die spezifischen Impfstoffvariablen dargestellt.

**Tabelle 8. Ergebnisse der multivariablen Auswertung ohne die Variable PregSure® BVD Impfung der Muttertiere von 94 BNP-Kälbern und 322 Kontrollkälbern**

	Regressionskoeffizient	Statistische Signifikanz	Odds Ratio	95% Konfidenzintervall
Stunden zwischen Geburt und erster Kolostrumgabe	-0,785	0,006	0,456	0,262 - 0,795
Anzahl der Laktationen der Muttertiere	0,304	0,001	1,355	1,135 - 1,619
BVDV Impfung der Muttertiere Ja versus Nein	1,522	0,060	4,583	0,940 - 22,333

In der folgenden Auswertung wurden die verschiedenen BVDV Impfstoffe miteinander verglichen. Die Variablen *Mucobovin®* und *Vacoviron® FS* wurden aufgrund zu geringer Variation in den Antworten ( $<10\%$  mit ‚ja‘) nicht in die Analyse einbezogen. In der Tabelle 9 sind die Ergebnisse der ausgewerteten BVDV Impfstoffe dargestellt.

**Tabelle 9. Ergebnisse der multivariablen Auswertung der BVDV Impfstoffe von 94 BNP-Kälbern und 322 Kontrollkälbern**

	Regressions- koeffizient	Statistische Signifikanz	Odds Ratio	95% Konfidenzintervall
PregSure® BVD Ja versus Nein	4,631	<0,001	102,566	12,975 - 810,793
Bovilis® BVD-MD Ja versus Nein	3,234	0,121	25,381	0,428 - 1504,814
Bovidec® Ja versus Nein	1,789	0,136	5,985	0,569 - 62,984

In der Tabelle 10 sind die Ergebnisse der multivariablen schrittweisen Auswertung auf Tierebene unter Einbeziehung der statistisch signifikanten Ergebnisse und mit der Variablen *PregSure® BVD Impfung der Muttertiere* dargestellt.

**Tabelle 10. Ergebnisse der multivariablen Auswertung mit der Variablen *PregSure® BVD Impfung der Muttertiere* von 94 BNP-Kälbern und 322 Kontrollkälbern**

	Regressions- koeffizient	Statistische Signifikanz	Odds Ratio	95% Konfidenzintervall
Stunden zwischen Geburt und erster Kolostrumgabe	-1,075	0,002	0,341	0,175 - 0,667
Anzahl der Laktationen der Muttertiere	0,210	0,047	1,233	1,003 - 1,517
PregSure® BVD Impfung der Muttertiere Ja versus Nein	4,603	<0,001	99,770	8,547 - 1164,612

## **V. DISKUSSION**

### **1. Falldefinition für BNP**

Die in der Literatur beschriebenen Definitionen für einen BNP-Fall unterscheiden sich in Bezug auf die Blutwerte der Thrombozyten und Leukozyten. Während PARDON et al. (2010) eine Leukozytopenie  $< 3$  G/L und Thrombozytopenie  $< 100$  G/L als typische Blutwerte für BNP definieren, beziehen sich FRIEDRICH et al. (2009b), REICHMANN (2012), SAUTER-LOUIS et al. (2012) und KASONTA et al. (2012) auf eine Leukozytopenie  $< 4$  G/L und Thrombozytopenie  $< 200$  G/L. In der vorliegenden Studie wurde letztere Definition übernommen. Erfahrungsgemäß liegen die Blutwerte von BNP-Kälbern sehr weit unterhalb beider genannten Grenzwerte, weshalb diese Unterscheidung bei den Falldefinitionen nicht von Bedeutung ist. Allerdings sind Blutwerte grundsätzlich als Momentaufnahme zu sehen. Es unterliegen gerade die Werte der Leukozyten bei BNP-Kälbern mitunter großen Schwankungen.

FRIEDRICH et al. (2009b) erwähnen den Ausschluss einer Septikämie bei verdächtigen Kälbern. Hierbei sollte beachtet werden, dass gerade BNP-Kälber sekundär eine Septikämie entwickeln können. Bei solchen Fällen kann im Todesfall der Sektionsbefund eindeutige Diagnosen liefern.

### **2. Versuchsdurchführung**

Im Vergleich zu den retrospektiven Fall-Kontroll-Studien zu BNP von CARLIN (2011) und LAMBTON et al. (2012), welche sich entweder auf Betriebs- oder Tierebene bezogen, vereint die vorliegende Studie beide Bereiche und erreicht damit eine höhere Datenmenge und letztlich größere Aussagekraft. Es wurden aktuelle BNP-Fälle aus dem Jahr 2011 aus ganz Deutschland rekrutiert und lediglich 2 Fälle von Ende 2010 in die Studie aufgenommen. Bei der Befragung der Betriebsleiter nach Details wie Art, Menge und Zeitpunkt des aufgenommenen Kolostrums war es von Vorteil, wenn der BNP-Fall nicht zu weit in der Vergangenheit lag und somit ein ‚recall bias‘ reduziert wurde.

Die Befragung der Betriebsleiter erfolgte bei CARLIN (2011) telefonisch, bei LAMBTON et al. (2012) über persönliche Interviews und bei REICHMANN (2012) füllten die Landwirte den zugesandten Fragebogen selbstständig aus,

während bei der vorliegenden Studie der betreuende Hoftierarzt mit dem jeweiligen Betriebsleiter des Fallbetriebes den Fragebogen beantwortete. Die 222 Kontrollbetriebe wurden per Telefon von einer Person befragt. Ob telefonische oder persönliche Befragung der Betriebsleiter Unterschiede in der Datenqualität machen, ist schwer zu beurteilen. Diskussionswürdig ist allerdings die Befragung der Betriebsleiter durch die jeweiligen Hoftierärzte der Betriebe. Als Konsequenz daraus wurden Fragen unterschiedlich interpretiert, und folglich waren einzelne Antworten mit höherem Aufwand zu verwertbaren Daten zu kodieren. Liegt die Befragung der Betriebsleiter allerdings in der Hand einer Person oder einer Arbeitsgruppe, die sich im Vorfeld der Befragung auf eine bestimmte Vorgehensweise bei den Interviews einigt, fielen die Antworten möglicherweise homogener aus, und die Daten könnten effizienter zu verwerten sein. Es wurde jedoch in vorliegender Studie versucht, alle Fragen möglichst einheitlich zu kodieren. Dazu war es von Vorteil, dass viele Fragen als offene Fragen oder Textangaben gestellt wurden.

Des Weiteren spielt der Umfang des Fragebogens mit insgesamt 15 Seiten bei dessen Beantwortung eine Rolle. CARLIN (2011) hatte zur Befragung der Betriebsleiter einen Fragebogen von 8 Seiten, LAMBTON et al. (2012) von 6 Seiten und REICHMANN (2012) von 18 Seiten Umfang verwendet. Bei der durchgeführten Studie wurden die Impfdaten und das Kolostrummanagement auf Betriebs- und Tierebene sehr ausführlich abgefragt, weil diese aus den vorangegangenen Studien als potentiell wichtige Faktoren identifiziert wurden. Die Ergebnisse von LAMBTON et al. (2012) lagen zum Zeitpunkt des Studiendesigns noch nicht vor und konnten deshalb nicht berücksichtigt werden. Nach stichprobenartiger Erfassung des Zeitaufwandes für die Befragung der Betriebsleiter gaben die Hoftierärzte im Mittel 1,5 – 2 Stunden an und erwähnten, dass der Fragebogen sehr ausführlich sei und die Motivation beider Parteien gegen Ende der Befragung deutlich nachließe. Der Fragebogen musste allerdings so ausführlich sein, um alle bis dahin als potentiell geltende Risikofaktoren für die Entwicklung von BNP zu evaluieren.

### **3. Fallzahlen**

Es wurden 81 BNP-Fallbetriebe und 212 Kontrollbetriebe in die Studie aufgenommen, während CARLIN (2011) 56 Fallbetriebe und 100

Kontrollbetriebe rekrutiert hatte. REICHMANN (2012) wertete die Daten von 84 Fallbetrieben aus.

Auf Tierebene konnten Daten von 94 BNP-Kälbern und 322 Kontrollkälbern im Vergleich zu LAMBTON et al. (2012) mit 56 BNP-Kälbern und 56 Kontrollkälbern gesammelt werden. REICHMANN (2012) konnte in einer retrospektiv angelegten Studie die Daten von 298 bestätigten BNP-Fällen dokumentieren. Kontrollkälber wurden bei dieser Studie nicht evaluiert.

Zu Beginn der Studie wurde die Rekrutierung einer höheren Anzahl von bestätigten BNP-Fällen (100-200) erwartet. Die niedrigere Fallzahl lässt sich eventuell dadurch erklären, dass das Auftreten von BNP in Deutschland tatsächlich zurückgegangen ist, und/oder Fälle seltener gemeldet worden sind. Seit der Vermutung der Übertragung der Krankheit durch das Kolostrum haben die Betriebe zügig das Kolostrummanagement umgestellt. Das Kolostrum von Muttertieren, die schon einmal ein BNP-Kalb hatten, bzw. von Muttertieren, die mit PregSure® BVD immunisiert wurden, wird verworfen. Zudem könnte sich bei den Betriebsleitern mit mehreren BNP-Kälbern eine Art Verdrossenheit gegenüber der Meldung von BNP-Kälbern oder der Teilnahme an wissenschaftlichen Studien eingestellt haben.

#### **4. Auswertung**

Kontrollbetriebe wurden innerhalb des Praxisgebietes des betreuenden Tierarztes ausgewählt, und man könnte demnach die Praxis als Matchingfaktor ansehen. In der vorliegenden Studie wurde bei der Auswertung auf Betriebsebene die einfache logistische Regression und nicht die bedingte logistische Regression dargestellt, weil die Ergebnisse der bedingten logistischen Regression nicht wesentlich von denen der „Einfachen“ abwichen. Daraus kann man schließen, dass der Faktor Tierarztpraxis keinen großen Effekt auf das BNP-Geschehen hat und dadurch vermutlich auch nicht auf das Impfverhalten der Betriebe, weil es in jedem Praxisgebiet Betriebe gibt, die von Impfungen überzeugt sind oder nicht.

#### **5. Ergebnisse auf Betriebsebene**

##### **5.1. Ergebnisse der multivariablen Auswertung auf Betriebsebene**

Die Ergebnisse des endgültigen Modells der multivariablen Auswertung auf

Betriebsebene stammen aus drei verschiedenen Themenblöcken: Kolostrummanagement und Milchfütterung; Impfungen; routinemäßige Medikamentengaben. Es haben sich Odds Ratios  $<1$  und  $>1$  gezeigt, die verdeutlichen, dass das Risiko für BNP sich sowohl erhöhen, als auch verringern kann.

Aus dem Themenblock Kolostrummanagement und Milchfütterung steht das *Vertränken von Mischkolostrum aus dem eigenen Betrieb* mit einem p-Wert von 0,049 und einer Odds Ratio von 2,780 (95 % KI: 1,006-7,682) der Variablen *Drenchen der Kälber mit Kolostrum* mit einem p-Wert von 0,001 und einer Odds Ratio von 0,227 (95 % KI: 0,092-0,559) gegenüber. Das relative Risiko für ein Kalb, an BNP zu erkranken, ist bei Gabe von Mischkolostrum nahezu 3mal so hoch wie bei Kälbern, die kein Mischkolostrum erhalten. Dagegen erniedrigt das Drenchen von Kälbern mit Kolostrum als generelles Management-Tool das relative Risiko. SCHRÖTER et al. (2011) haben das erhöhte Risiko durch die Gabe von Mischkolostrum anhand eines Tränkeversuches an Kälbern nachgewiesen, was das vorliegende Ergebnis bestätigt. In den Fall-Kontroll-Studien von CARLIN (2011) und REICHMANN (2012) wurde diese Variable nicht abgefragt, und bei der Studie von LAMBTON et al. (2012) ist in Bezug auf das Vertränken von Mischkolostrum kein statistisch signifikantes Ergebnis identifiziert worden. Aufgrund der Ergebnisse der verschiedenen Studien appelliert die KLINIK FÜR WIEDERKÄUER LMU MÜNCHEN (2012) auf ihrer Internetseite, auf das Vertränken von Mischkolostrum zu verzichten.

Es kann nicht erklärt werden, weshalb die Variable *Drenchen der Kälber mit Kolostrum* das relative Risiko für BNP erniedrigt und daher einen protektiven Effekt hat. Zielsetzung dieser Frage war die Ermittlung der grundsätzlichen Bereitschaft der Landwirte, Kälber zu drenchen, die die erste Milchmahlzeit und somit die Kolostrumversorgung verweigern. Betriebe, die ihre Kälber mit Kolostrum drenchen, haben meist ein gutes Kälbermanagement und stellen eine ausreichende Kolostrumversorgung sicher. Daher wurde im Vorfeld hinsichtlich der Variablen *Drenchen der Kälber mit Kolostrum* als Ergebnis eher ein erhöhtes Risiko für BNP erwartet.

Die Themenblöcke Impfungen und routinemäßige Medikamentengaben weisen in Bezug auf die Variablen *Antiparasitische Behandlungen Jungrinder > 6 Monate*, *BRSV Impfung Jungrinder > 6 Monate* und *PregSure® BVD bei Muttertieren*

verwendet statistisch signifikante Ergebnisse auf. Die *Antiparasitische Behandlung Jungrinder > 6 Monate* mit einem p-Wert von 0,002 und einer Odds Ratio von 0,026 (95 % KI: 0,003-0,250) erniedrigt das relative Risiko für BNP, wohingegen die *BRSV Impfung Jungrinder > 6 Monate* mit einem p-Wert von 0,011 und einer Odds Ratio von 4,418 (95 % KI: 1,406-13,881) das relative Risiko für BNP auf das 4,4 fache erhöht. In der Fall-Kontroll-Studie von CARLIN (2011) sind beide Faktoren unter dem Punkt *Anwendung von regelmäßigen Behandlungen* zusammengefasst worden und hatten eine Odds Ratio von 14,3 (95 % KI: 1,4-151,9), was ein hohes Risiko für BNP bedeutet. Somit stimmen die Ergebnisse in Bezug auf die BRSV Impfung überein. Es liegt die Annahme nahe, dass dieses Ergebnis die Folge einer grundsätzlich positiven Einstellung der BNP-Fallbetriebe gegenüber Impfungen ist.

Bei der Variablen *Antiparasitische Behandlung Jungrinder > 6 Monate* widersprechen sich die Ergebnisse, da in der vorliegenden Studie das relative Risiko für BNP durch Einsatz dieser Behandlung sinkt. Möglicherweise liegt hier eine Verzerrung, verursacht durch die Datenerhebung, vor, da nur 2 der Fallbetriebe und 40 der Kontrollbetriebe die Frage mit *Ja* beantworteten. Dies könnte an der sehr konsequenten telefonischen Befragung der Kontrollbetriebe liegen.

Die Ergebnisse der Variablen *PregSure® BVD bei Muttertieren verwendet* mit einem p-Wert von  $< 0,001$  und einer Odds Ratio von 57,767 (95 % KI: 21,677-153,943) basieren auf folgenden Daten: 72 der insgesamt 81 befragten BNP-Fallbetriebe haben PregSure® BVD verwendet, im Gegensatz dazu nur 43 der 212 Kontrollbetriebe. Zwei der BNP-Fallbetriebe und 28 der Kontrollbetriebe haben diese Frage nicht beantwortet. Somit konnte der Einsatz von PregSure® BVD als sehr hoher Risikofaktor für BNP identifiziert werden. Diesen Risikofaktor bestätigen Ergebnisse vorangegangener Fall-Kontroll-Studien (CARLIN, 2011; LAMBTON et al., 2012; REICHMANN, 2012; SAUTER-LOUIS et al., 2012) und weitere Projekte, die sich mit den immunmedierten Abläufen und der Pathogenese von BNP beschäftigten (BASTIAN et al., 2011; BRIDGER et al., 2011; DEUTSKENS et al., 2011; FOUCRAS et al., 2011; FRIEDRICH et al., 2011; PARDON et al., 2011; ASSAD et al., 2012; KASONTA et al., 2012).

## 6. Ergebnisse auf Tierebene

### 6.1. Ergebnisse der Blutwerte der BNP- und Kontrollkälber

Die Gruppe der Kälber mit Blutwerten von Leukozyten  $< 4$  G/L und Thrombozyten  $< 200$  G/L setzt sich aus 60 der 65 BNP-Fällen und acht Kontrollkälbern ohne Blutungssymptomatik zusammen. Laut FRIEDRICH et al. (2011) handelt es sich bei letztgenannten 8 Kontrollkälbern um subklinische BNP-Kälber, da sie zwar keine klinischen Symptome der Bovinen Neonatalen Panzytopenie zeigen, aber dennoch die typischen Blutwerte vorweisen. Es liegen bis dato zum Thema subklinischer BNP noch keine objektiven Auswertungen vor (PARDON et al., 2010). Außerdem wird vermutet, dass in BNP-Fallbetrieben der Anstieg von anderen Kälberkrankheiten auf die Existenz subklinischer BNP-Kälber zurückzuführen ist, und dies für den landwirtschaftlichen Betrieb weitere, schwer abschätzbare Verluste bedeutet (REICHMANN, 2012). In der vorliegenden Studie werden nun objektive Auswertungen zu subklinischen BNP-Kälbern geliefert. Die acht identifizierten subklinischen BNP-Kälber sind 2,5 % der insgesamt 322 beprobten Kontrollkälber aus 81 Fallbetrieben. Kritisch abzuwägen ist die Tatsache, dass einmalige Blutentnahmen nur Momentaufnahmen der Blutwerte sind und nicht den Verlauf einer Krankheit zeigen.

Die zehn Kontrollkälber aus der Gruppe mit Blutwerten von Leukozyten  $< 4$  G/L und Thrombozyten  $> 200$  G/L können nicht eindeutig eingeordnet werden. Entweder befanden sie sich noch in der Entstehungsphase von BNP oder sie sind in die Kategorie Differentialdiagnosen zu BNP einzugruppieren. Auffällig war, dass keines der verdächtigen BNP-Kälber derartige Blutwerte vorwies.

Von den 295 Kälbern in der Gruppe mit den Blutwerten von Leukozyten  $> 4$  G/L und Thrombozyten  $> 200$  G/L waren 292 Kontrollkälber und drei verdächtige BNP-Kälber, die zwar Blutungssymptomatik aufwiesen, jedoch aufgrund der Blutwerte von der Studie ausgeschlossen wurden. Diese drei Fälle wurden zwar in die Gruppe der Differentialdiagnosen zu BNP eingeordnet, man könnte aber auch vermuten, dass sie sich erst am Anfang der Krankheitsphase befanden und sie sich noch zu BNP-Kälbern gemäß Falldefinition entwickelten.

Schließlich befanden sich 14 Kälber in der Gruppe mit Blutwerten von Leukozyten  $> 4$  G/L und Thrombozyten  $< 200$  G/L, hiervon zwei mit und zwölf

ohne Blutungssymptomatik, die als Kontrollkälber fungierten. Die zwei verdächtigen BNP-Kälber wurden von der Studie ausgeschlossen, da sie nicht der Falldefinition entsprachen und wurden als Differentialdiagnosen kategorisiert. Über die zwölf Kontrollkälber kann man wiederum spekulieren, ob sie sich entweder zu subklinischen oder klinisch manifesten BNP-Kälber entwickelten oder durch eine andere Genese diese Thrombozytopenie vorwiesen.

Der Auswertung der Blutwerte von BNP- und Kontrollkälbern und anschließender Kategorisierung der Tiere sollte auf jeden Fall kritisch gegenüber gestanden werden, da Blutwerte, wie bereits diskutiert, nur den Gesundheitszustand der Tiere zum Zeitpunkt der Blutentnahme widerspiegeln.

## **6.2. Ergebnisse der multivariablen Auswertung auf Tierebene**

Die statistisch signifikanten Ergebnisse der multivariablen Auswertung auf Tierebene stammen aus den Bereichen Kolostrummanagement und Daten zu den Muttertieren.

Die Variable *Stunden zwischen Geburt und erster Kolostrumaufnahme* impliziert mit einem p-Wert von 0,002 und einer Odds Ratio von 0,341 (95% KI: 0,175-0,667), dass je mehr Stunden zwischen Geburt und erster Kolostrumaufnahme vergangen sind, desto niedriger das Risiko für BNP ist. Der Medianwert für diese Variable liegt bei den Fallbetrieben bei 1,0 Stunden und bei den Kontrollbetrieben bei 1,5 Stunden. Da sich das Ergebnis nur um eine halbe Stunde unterscheidet, kann dieser Faktor bei der Entstehung von BNP nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Die Variable *Anzahl der Laktationen der Muttertiere* hat einen p-Wert von 0,047 und eine Odds Ratio von 1,233 (95% KI: 1,003-1,517). Die Medianwerte liegen bei 2 Laktationen bei den Kontroll-Muttertieren und 4 Laktationen bei den Fall-Muttertieren. Dieses Ergebnis zeigt, dass ein deutlicher Unterschied zwischen Fall- und Kontroll-Muttertieren vorliegt. Bei der Studie von REICHMANN (2012) waren über 50 % der BNP-Muttertiere Zweit- oder Drittgebärende, was den Medianwert von 4 Laktationen bei der vorliegenden Studie plausibel erscheinen lässt, da die Befragungen der Landwirte in der Arbeit von REICHMANN (2012) ca. ein Jahr zuvor stattgefunden haben. Außerdem ruht seit dem 30. August 2010 die Zulassung für den Impfstoff PregSure® BVD (PAUL-EHRLICH-INSTITUT, 2013b), und die Mehrzahl der Betriebe und

Tierarztpraxen hat bereits einige Zeit vor diesem Stichtag schon keine Impfungen mehr mit PregSure® BVD durchgeführt. Das erklärt den Medianwert von 2 Laktationen bei den Muttertieren der Kontrollkälber, da sie möglicherweise zu jung waren, um mit PregSure® BVD geimpft worden zu sein, und folglich ihre Kälber einem geringeren Risiko für BNP ausgesetzt waren.

Das Ergebnis der Variablen *PregSure® BVD Impfungen der Muttertiere* verdeutlicht mit einer statistischen Signifikanz von  $p < 0,001$  und einer Odds Ratio von 99,8 (95% KI: 8,547-1164,612) das sehr hohe Risiko für BNP, welches bereits bei den Ergebnissen auf Betriebsebene diskutiert wurde.

Beim Vergleich der einzelnen BVDV Impfstoffe blieb bei der multivariablen Auswertung als einzige statistisch signifikante Variable *PregSure® BVD* mit einem p-Wert von  $< 0,001$  im Modell.

Abschließend ist zu erwähnen, dass die ermittelten Risikofaktoren für BNP in einem engen Zusammenhang stehen, da die Immunisierung der Muttertiere mit PregSure® BVD und das anschließende Vertränken des Kolostrums dieser Kühe an neugeborene Kälber ein erhöhtes Risiko für BNP darstellt. Dies verdeutlicht auch das Ergebnis der Variablen *Vertränken von Mischkolostrum aus eigenem Betrieb*, die erstmals im Rahmen dieser Fall-Kontroll-Studie als weiterer Risikofaktor identifiziert werden konnte.

Der eindeutige kausale Zusammenhang der Risikofaktoren würde eine hohe Inzidenz der Krankheit vermuten lassen, allerdings stellte sich in anderen Untersuchungen eine geringe Inzidenz von BNP heraus (PARDON et al., 2010; FRIEDRICH et al., 2011).

Aus diesem Grund kann weiterhin davon ausgegangen werden, dass zusätzliche Komponenten, möglicherweise eine genetische Prädisposition der Tiere, die Entstehung von BNP ebenfalls beeinflussen könnten.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Alexander Stoll (2013)

### **Fall-Kontroll-Studie auf Betriebs- und TierEbene über Bovine Neonatale Panzytopenie in Deutschland**

Die vorliegende Fall-Kontroll-Studie der Klinik für Wiederkäuer LMU München über Bovine Neonatale Panzytopenie (BNP) wurde unter der Koordination des Royal Veterinary College London auch in Belgien, Frankreich und den Niederlanden durchgeführt. Es wurden Risikofaktoren für BNP auf Betriebs- und TierEbene identifiziert.

Ein Fragebogen wurde in Zusammenarbeit mit allen Forschungsgruppen entwickelt. Zwischen Juni 2011 und Januar 2012 wurden die Daten von BNP-Fallbetrieben (n=81) und Kontrollbetrieben (n=212), sowie von BNP-Kälbern (n=94) und Kontrollkälbern (n=322) innerhalb der Fallbetriebe gesammelt. Die Befragungen der Betriebsleiter der Fallbetriebe wurden mit Hilfe der zuständigen Hoftierärzte in einem persönlichen Gespräch durchgeführt. Die Betriebsleiter der Kontrollbetriebe wurden telefonisch von einer wissenschaftlichen Mitarbeiterin der Klinik für Wiederkäuer LMU München befragt. Außerdem wurden 387 Blutproben von BNP- und Kontrollkälbern gesammelt, analysiert und asserviert. Die Auswertung der Daten fand auf Betriebs- und TierEbene mittels univariabler und multivariabler Analyse statt.

Bei der multivariablen Auswertung auf Betriebsebene wurden drei statistisch signifikante Variablen identifiziert, die das Risiko für BNP erhöhen: *Mischkolostrum aus eigenem Betrieb* mit einem p-Wert von 0,049 und einer Odds Ratio von 2,780 (95% KI: 1,006-7,682), *BRSV Impfung Jungrinder > 6 Monate* mit einem p-Wert von 0,011 und einer Odds Ratio von 4,418 (95% KI: 1,406-13,881) und *PregSure® BVD bei Muttertieren verwendet* mit einem p-Wert von <0,001 und einer Odds Ratio von 57,767 (95% KI: 21,677-153,943).

Die statistisch signifikanten Parameter der multivariablen Auswertung auf Tierebene waren folgende: *Stunden zwischen Geburt und erster Kolostrumgabe* mit einem p-Wert von 0,002 und einer Odds Ratio von 0,341 (95% KI: 0,175-0,667), *Anzahl der Laktationen der Muttertiere* mit einem p-Wert von 0,047 und einer Odds Ratio von 1,233 (95% KI: 1,003-1,517) und *PregSure® BVD Impfung der Muttertiere* mit einem p-Wert von <0,001 und einer Odds Ratio von 99,770 (95% KI: 8,547-1164,612).

Durch die Auswertung der Blutproben konnten 60 BNP-Kälber, sowie acht Kontrollkälber mit einer Leuko- und Thrombozytopenie, aber ohne Blutungssymptomatik, ermittelt werden. Diese acht Kontrollkälber stellten 2,5 % der 322 beprobten Kontrollkälber aus 81 Betrieben dar. Sie wurden als subklinische BNP-Kälber kategorisiert.

Die Ergebnisse identifizierten erneut den Einsatz des Impfstoffes PregSure® BVD bei Muttertieren auf Betriebs- und Tierebene als sehr hohen Risikofaktor für BNP.

Wie bereits vermutet, hat sich im Rahmen der vorliegenden Studie die Variable *Vertränken von Mischkolostrum aus eigenem Betrieb* als Risikofaktor für BNP herausgestellt.

Ein zusätzlicher eindeutiger Risikofaktor für BNP wurde nicht identifiziert, allerdings wird weiterhin angenommen, dass auch noch andere Faktoren, wie z. B. eine genetische Prädisposition, die Entstehung von BNP beeinflussen könnten.

## VII. SUMMARY

Alexander Stoll (2013)

### **Case-control-study of Bovine Neonatal Pancytopenia on farm and animal level in Germany**

The presented case-control-study of the clinic for ruminants LMU Munich about Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) reports results of the German part of the joint study, which was carried out in Belgium, France, Germany and the Netherlands in coordination with the Royal Veterinary College London. Risk factors for BNP were identified on farm and animal level.

In cooperation with all research groups a questionnaire was developed. Between June 2011 and January 2012 the data of BNP case farms (n=81) and control farms (n=212) as well as the data of BNP calves (n=94) and control calves (n=322) within the case farms were collected. The interviews with the farmers of the case farms were performed in a personal interview with the help of the local veterinarians. A scientific employee of the clinic for ruminants LMU Munich interviewed the farmers of the control farms by telephone. Furthermore 387 blood samples of BNP and control calves of the case farms were collected by the local veterinarians and analyzed and stored at the clinic for ruminants LMU Munich. Data were evaluated on farm and animal level by use of univariable and multivariable analyses.

The multivariable analysis on farm level identified three statistically significant variables, which increased the risk for BNP: *Mixed colostrum of own farm* with a p-value of 0.049 and an Odds Ratio of 2.780 (95% CI: 1.006-7.682), *BRSV vaccination young stock > 6 month* with a p-value of 0.011 and an Odds Ratio of 4.418 (95% CI: 1.406-13.881) and *PregSure® BVD used in dams* with a p-value of <0.001 and an Odds Ratio of 57.767 (95% CI: 21.677-153.943).

The statistically significant parameters of the multivariable conditional analysis on animal level were: *Hours between birth and first supply of colostrum* with a p-value of 0.002 and an Odds Ratio of 0.341 (95% CI: 0.175-0.667), *Number of the lactations of the dams* with a p-value of 0.047 and an Odds Ratio of 1.233 (95% CI: 1.003-1.517) and *PregSure® BVD vaccination of the dams* with a p-value of <0.001 and an Odds Ratio of 99.770 (95% CI: 8.547-1164.612).

Based on the interpretation of the blood values 60 BNP calves and eight control calves with leukocytopenia and thrombocytopenia, but without any signs of bleeding disorder, could be identified. These eight control calves were 2.5% of the 322 sampled control calves from the 81 case farms. They were categorized as subclinical BNP calves.

The results on farm and animal level identified again the use of the vaccine PregSure ® BVD among dams as a very high risk factor for BNP.

In the present study the variable *Use of mixed colostrum of own farm* has been identified as a risk factor for BNP as already suspected.

No additional obvious risk factor for BNP could be identified, but it is assumed, that other factors, e.g. genetic factors, could influence the development of BNP.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

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

Armengol R, Ponte D, De Prado A, Sierra MA, Casa M, De las Heras M, Uixera A, Garcia-Jalon JA. Síndrome de la diátesis hemorrágica del ternero (pancitopenia neonatal bovina) en España. *Boletín de Anembe* 2010; 85: 28-31.

Assad A, Amann B, Friedrich A, Deeg CA. Immunophenotyping and characterization of BNP colostrum revealed pathogenic alloantibodies of IgG1 subclass with specificity to platelets, granulocytes and monocytes of all maturation stages. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2012; 147: 25-34.

Ballingall KT, Nath M, Holliman A, Laming E, Steele P, Willoughby K. Lack of evidence for an association between MHC diversity and the development of bovine neonatal pancytopenia in Holstein dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2011; 141: 128-32.

Bastian M, Holsteg M, Hanke-Robinson H, Duchow K, Cussler K. Bovine Neonatal Pancytopenia: is this alloimmune syndrome caused by vaccine-induced alloreactive antibodies? *Vaccine* 2011; 29: 5267-75.

Bednarski M, Houszka M, Hamala J, Nowaczyk R, Piasecki T. Hemorrhagic diathesis in neonatal calves - a case report. *Medycyna Weterynaryjna* 2011; 67: 283-6.

Bell CR, Philip R, Penny CD. Ten cases of "Bleeding Calf Syndrome" in a Scottish beef herd: Epidemiology. In *Proceedings of the Satellite Symposium "Haemorrhagic Diathesis in calves"* 2009: 4.

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

BMELV. Verordnung zum Schutz der Rinder vor einer Infektion mit dem Bovinen Virusdiarrhoe-Virus. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz 2013: <http://www.gesetze-im-internet.de/bvdrv/index.html#BJNR246110008BJNE000404377>. letzter Zugriff: 01.03.2013.

Bortz J, Schuster C. Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler. Lehrbuch mit Online-Materialien. 2010; 7: 655.

Braun U, Schmid T, Muggli E, Forster E, Nuss K. Hämorrhagien bei 3 Kälbern infolge Thrombozytopenie. Schweizer Archiv für Tierheilkunde 2008; 150: 553-7.

Bridger PS, Bauerfeind R, Wenzel L, Bauer N, Menge C, Thiel HJ, Reinacher M, Doll K. Detection of colostrum-derived alloantibodies in calves with bovine neonatal pancytopenia. Veterinary Immunology and Immunopathology 2011; 141: 1-10.

Bruckner L. BVDV Impfstoffe in der Schweiz, Persönliche Kommunikation, 2013.

Buck BC, Ulrich R, Kuiper H, Reinacher M, Peters M, Heimberg P, Holsteg M, Puff C, Haas L, Ganter M, Distl O. Bovine neonatale Panzytopenie (BNP) bei Deutschen Holstein Kälbern. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 2011; 124: 329-36.

Carlin A. Epidemiologische Untersuchung zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie (BNP). Eine Fall-Kontroll-Studie. Dissertation aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München 2011;

Corbiere 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 *Proceedings of the Satellite Symposium "Haemorrhagic Diathesis in calves"* 2009: 11-3.

Deuskens F, Lamp B, Riedel CM, Wentz E, Lochnit G, Doll K, Thiel HJ, Rumenapf T. Vaccine-induced antibodies linked to bovine neonatal pancytopenia (BNP) recognize cattle major histocompatibility complex class I (MHC I). *Veterinary Research* 2011;

Dirksen G, Gründer H-D, Stöber M *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. 2006; 572-81.

Ellis-Iversen J, Colloff A. Epidemiological analysis of GB cases. In *Proceedings of the Satellite Symposium "Haemorrhagic Diathesis in calves"* Marseille. Edited by Klee W. Toulouse: Société Française de Buiatrie 2009: 5.

Foucras G, Corbiere F, Tasca C, Pichereaux C, Caubet C, Trumel C, Lacroux C, Franchi C, Burlet-Schiltz O, Schelcher F. Alloantibodies against MHC Class I: A Novel Mechanism of Neonatal Pancytopenia Linked to Vaccination. *Journal of Immunology* 2011; 187: 6564-70.

Friedrich A, Rademacher G, Weber BK, Kappe E, Carlin A, Assad A, Sauter-Louis C, Hafner-Marx A, Buttner M, Bottcher J, Klee W. Gehäuftes Auftreten von hämorrhagischer Diathese infolge Knochenmarkschädigung bei jungen Kälbern. *Tierärztliche Umschau* 2009a; 64: 423-31.

Friedrich A, Assad A, Carlin A, Sauter-Louis C, Rademacher G, Klee W. Disorders of differential diagnostic interest In *Proceedings of the Satellite Symposium "Haemorrhagic Diathesis in calves"* Marseille. Edited by Klee W. Toulouse: Société Française de Buiatrie 2009b: 20.

Friedrich A, Buttner M, Rademacher G, Klee W, Weber BK, Muller M, Carlin A, Assad A, Hafner-Marx A, Sauter-Louis CM. Ingestion of colostrum from specific cows induces Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) in some calves. *BMC Veterinary Research* 2011: 7-11.

Gentile A, Rosignoli C, Pravettoni D, Testoni S, Bettini G, Belloli A. Pancytopenia and haemorrhagic diathesis in calves: Italian experience. In

*Proceedings of the Satellite Symposium "Haemorrhagic Diathesis in calves" Marseille. Edited by Klee W. Toulouse: Société Française de Buiatrie 2009: 14.*

Hosmer DW, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. Wiley Verlag 2000: 223-59.

Kappe EC, Halami MY, Schade B, Alex M, Hoffmann D, Gangl A, Meyer K, Dekant W, Schwarz BA, Johne R, Buitkamp J, Bottcher J, Muller H. Bone marrow depletion with haemorrhagic diathesis in calves in Germany: characterization of the disease and preliminary investigations on its aetiology. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 2010; 123: 31-41.

Kasonta R, Sauter-Louis C, Holsteg M, Duchow K, Cussler K, Bastian M. Effect of the vaccination scheme on PregSure®BVD induced alloreactivity and the incidence of Bovine Neonatal Pancytopenia. *Vaccine* 2012: 6649-55.

Klinik für Wiederkäuer LMU München. Bovine neonatale Panzytopenie, Behandlung und Prophylaxe. Klinik für Wiederkäuer LMU München 2013: <http://www.wdk.vetmed.uni-muenchen.de/publikationen/diathese1/index.html>.  
letzter Zugriff: 01.03.2013.

König M, Jöns-Anders L, Förster C, Failing K, Heckert HP, Thiel HJ. Impfung gegen BVD/MD: direkter Vergleich verschiedener Impfstoffe und Impfreime. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 2006; 5: 281-8.

Krappmann K, Weikard R, Gerst S, Wolf C, Kuhn C. A genetic predisposition for bovine neonatal pancytopenia is not due to mutations in coagulation factor XI. *Veterinary Journal* 2011; 190: 225-9.

Lambton SL, Colloff AD, Smith RP, Caldow GL, Scholes SFE, Willoughby K, Howie F, Ellis-Iversen J, David G, Cook AJC, Holliman A. Factors Associated with Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) in Calves: A Case-Control Study. *Public Library of Science* 2012; 7.

Larson RL, Grotelueschen DM, Brock KV, Hunsaker BD, Smith RA, Sprowls RW, MacGregor DS, Loneragan GH, Dargatz DA. Bovine viral diarrhea (BVD): Review for beef cattle veterinarians. In: *Bovine Practitioner*, Vol 38 No 1 Lafayette: American Association of Bovine Practitioners Foundation INC 2004: 93-102.

LGL Bayern. Hintergrundinformation: Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease (BVD/MD). 2013:  
[http://www.lgl.bayern.de/tiergesundheit/tierkrankheiten/virusinfektionen/bovine\\_virus\\_diarrhoe/bovine\\_virusdiarrhoe\\_hintergrund.htm](http://www.lgl.bayern.de/tiergesundheit/tierkrankheiten/virusinfektionen/bovine_virus_diarrhoe/bovine_virusdiarrhoe_hintergrund.htm). letzter Zugriff: 01.03.2013.

Lunn DP, Butler DG. Idiopathic thrombocytopenic purpura in a Holstein bull. *The Canadian Veterinary Journal* 1991; 32: 559-61.

Luo Y, Yuan Y, Ankenbauer RG, Nelson LD, Witte SB, Jackson JA, Welch S-KW. Construction of chimeric bovine viral diarrhea viruses containing glycoprotein Erns of heterologous pestiviruses and evaluation of the chimeras as potential marker vaccines against BVDV. *Vaccine* 2012; 30: 3843-8.

MAF NZ. Quarterly review of diagnostic cases: October to December 2011. *Ministry for Primary Industries Surveillance* 2012; 39: 14-22.

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 *Proceedings of the Satellite Symposium "Haemorrhagic Diathesis in calves" Marseille. Edited by Klee W. Toulouse: Société Française de Buiatrie* 2009: 8.

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. *Transboundary and Emerging Diseases* 2010; 57: 135-46.

Pardon B, Stuyven E, Stuyvaert S, Hostens M, Dewulf J, Goddeeris BM, Cox E,

Deprez P. Sera from dams of calves with bovine neonatal pancytopenia contain alloimmune antibodies directed against calf leukocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2011; 141: 293-300.

Paul-Ehrlich-Institut. Blutschwitzen bei Kälbern – Wissenschaftler des Paul-Ehrlich-Instituts erfolgreich bei der Ursachenforschung 2013a: [http://www.pei.de/cln\\_236/nn\\_2020336/DE/infos/presse/pressemitteilungen/archiv-pressemitteilungen/2011/06-blutschwitzen-bei-kaelbern\\_E2\\_80\\_93wissenschaftler-pei-erfolgreich-bei-ursachenforschung.html](http://www.pei.de/cln_236/nn_2020336/DE/infos/presse/pressemitteilungen/archiv-pressemitteilungen/2011/06-blutschwitzen-bei-kaelbern_E2_80_93wissenschaftler-pei-erfolgreich-bei-ursachenforschung.html). letzter Zugriff: 01.03.2013.

Paul-Ehrlich-Institut. Informationen zum Impfstoff PregSure® BVD: Erlöschen der Zulassung und weitere Forschungsergebnisse. 2013b: [http://www.pei.de/cln\\_101/nn\\_2251636/DE/anzneimittelsicherheit-vigilanz/veterinaermedizin-pharmakovigilanz/sicherheitsinformationen-veterinaermedizin/2011-2003-vet/ablage2011-2003/2011-08-31-bnp-ruecknahme-zulassung.html](http://www.pei.de/cln_101/nn_2251636/DE/anzneimittelsicherheit-vigilanz/veterinaermedizin-pharmakovigilanz/sicherheitsinformationen-veterinaermedizin/2011-2003-vet/ablage2011-2003/2011-08-31-bnp-ruecknahme-zulassung.html). letzter Zugriff: 01.03.2013.

Paul-Ehrlich-Institut. Rinderimpfstoffe. 2013c: [http://www.pei.de/cln\\_236/nn\\_161774/DE/anzneimittel/impfstoff-impfstoffe-fuer-tiere/rinder/rinder-inhalt.html](http://www.pei.de/cln_236/nn_161774/DE/anzneimittel/impfstoff-impfstoffe-fuer-tiere/rinder/rinder-inhalt.html). letzter Zugriff: 01.03.2013.

Reichmann F. Fall-Kontroll-Studie zur Bovinen Neonatalen Panzytopenie in Betrieben mit hoher und niedriger Inzidenz. Dissertation aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München 2012;

SAC. More cases of ‘bleeding calf syndrome’ diagnosed across Scotland. *The Veterinary Record* 2010; 167: 157-60.

Sanchez-Miguel C, McElroy M, Walsh E. Bovine neonatal pancytopenia in calves in Ireland. *The Veterinary Record* 2010; 166: 664-5.

Sauter-Louis C, Carlin A, Friedrich A, Assad A, Reichmann F, Rademacher G,

Heuer C, Klee W. Case control study to investigate risk factors for bovine neonatal pancytopenia (BNP) in young calves in southern Germany. *Preventive Veterinary Medicine* 2012; 105: 49-58.

Schröter P, Kuiper H, Holsteg M, Puff C, Haas L, Baumgartner W, Ganter M, Distl O. Reproduzierbarkeit der bovinen neonatalen Panzytopenie (BNP) über die Verabreichung von Kolostrum. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 2011; 124: 390-400.

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. *The Journal of Veterinary Medical Science* 2007; 69: 1317-9.

Smolenaars A, Mars M. Epidemiologic and diagnostic results of haemorrhagic disease syndrome in calves in The Netherlands. In *Proceedings of the Satellite Symposium "Haemorrhagic Diathesis in calves" Marseille. Edited by Klee W. Toulouse: Société Française de Buiatrie* 2009: 6-7.

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. *The Veterinary Record* 2010; 166: 436-7.

## IX. ANHANG

### BOVINE NEONATALE PANZYTOPENIE FRAGEBOGEN

#### 1) Betriebsdaten

Die Fragen beziehen sich auf die vergangenen 12 Monate, falls nicht anders angegeben

Fall Nr.		Kontroll Nr.		Gehört zu Fall Nr.:	
Land	D –				
Besitzer					
Betriebsnummer, ID					
Adresse					
Telefon					
Email (Besitzer):					
Hoftierarzt (Name)					
Adresse					
Telefon					
Email (TA)					
Produktionsrichtung					
Gesamtanzahl der Rinder zur Zeit des Interviews (inkl. Jungtiere)	Milchvieh:	Mast:			
Zunahme/Abnahme der Herdengröße (bitte nicht-zutreffendes streichen) in den letzten 12 Monaten	Milchvieh: Zunahme/Abnahme	Mast: Zunahme/Abnahme			
Anzahl der laktierenden und trockenstehenden Kühe	Milchvieh:	Mast:			
Milchvieh: durchschnittliche 305-Tage Laktations-Leistung					
Andere Tierarten auf dem Betrieb: Schafe: Ziegen:	<i>Ja / Nein falls Ja: Anzahl:</i> <i>Ja / Nein falls Ja: Anzahl:</i>				
Saisonale Abkalbung (mindestens 60 % Abkalbungen innerhalb von 3 Monaten)	<i>Ja / Nein falls Ja: in welchen Monaten:</i>				
Zukauf von Milchkühen?	<i>Ja / Nein</i>				
Nachzucht wird					
- Auf dem eigenen Betrieb aufgezogen	<i>Ja / Nein</i>	<i>Prozent der Nachzucht: _____</i>			
- Auf einer anderen Nachzuchtfarm aufgezogen	<i>Ja / Nein</i>	<i>Prozent der Nachzucht: _____</i>			
falls ja, bitte ID / Adresse angeben	<i>(Betriebs ID/Adresse: _____)</i>				
- Zukauf von anderen Betrieben	<i>Ja / Nein</i>	<i>Prozent der Nachzucht: _____</i>			

Verkauf von Kälbern, die weniger als 4 Wochen alt sind?	<i>Ja / Nein</i>
Falls Ja, in welchem Alter werden sie verkauft?	<i>Alter:</i>
Anteil weiblichen Kälber, die verkauft werden?	<i>Proportion:</i>
Anteil männlichen Kälber, die verkauft werden?	<i>Proportion:</i>

### Kälber- und Kolostrum-Management (allgemeines Management)

#### Definition von Kolostrum in dieser Studie: Die ersten zwei Gemelke nach der Abkalbung

1) Dürfen Kälber an ihrer Mutter saugen ?	<i>Ja / Nein</i>
Dürfen Kälber ad lib bei der Mutter saugen?	<i>Ja / Nein</i>
2) Verabreichen Sie routinemäßig Kolostrum über Sonde an neugeborene Kälber?	<i>Nein / Ja, wenn die Kälber das angebotene Kolostrum nicht aufnehmen / Ja immer</i>  <i>Falls Ja: Menge in Liter:</i>
3) Gesamtmenge an Kolostrum, das dem Kalb innerhalb von 12 Stunden gegeben wurde?	<i>Liter, falls nicht an der Kuh saugend:</i>
4) Zeit zwischen Geburt bis zur ersten Kolostrumaufnahme?	<i>&lt; 1 Std; 1-2 Std; 2-6 Std; &gt; 6 Std</i>
5) Wie oft wird den Kälbern normalerweise innerhalb der ersten 24 Stunden Kolostrum angeboten?	
6) Für wie viele Tage wird den Kälbern im Durchschnitt Kolostrum angeboten? Für wie viele Tage darf das Kalb im Durchschnitt an der Kuh ad lib saugen?	
7) Herkunft des Kolostrums: eigene Mutter?	<i>(Mehrfachantworten möglich)</i>  <i>Immer / Manchmal: in .. .....% Kälber / Nie</i>
Unterschiedliche Kuh von eigenem Betrieb?	<i>Immer / Manchmal: in .. .....% Kälber / Nie</i>
Unterschiedliche Kuh von anderem Betrieb?	<i>Immer / Manchmal: in .. .....% Kälber / Nie</i>  <i>Immer / Manchmal: in .. .....% Kälber / Nie</i>

Mischkolostrum von eigenem Betrieb?	<i>Immer / Manchmal: in .. .....% Kälber / Nie</i>
Mischkolostrum von anderem Betrieb?	<i>Immer / Manchmal: in .. .....% Kälber / Nie</i>
Nur Kolostrumersatz ohne IgG?	<i>falls ja, welche</i> <i>Firma? _____</i>
Nur Kolostrumersatz mit IgG?	<i>Immer / Manchmal: in .. .....% Kälber / Nie</i> <i>falls ja, welche</i> <i>Firma? _____</i>
Zusätzlich Kolostrumergänzungsmittel?	<i>Immer / Manchmal: in .. .....% Kälber / Nie</i> <i>falls ja, welche</i> <i>Firma? _____</i>

### **Milchfütterung (Bitte entsprechend ankreuzen )**

Milchaustaucher (Bitte die Handelsmarke angeben)	
Rohmilch	
Milchtankmilch	
Milch von Kühen mit hohem Gehalt an somatischen Zellen oder von Kühen mit klinischer Mastitis	
Verworfenen Milch (z.B. von Kühen deren Mastitis behandelt wurde)	
Andere Milch	

**Impfungen in den letzten 12 Monaten**

Krankheit	Kälber bis zu 6 Monaten	Jung- rinder (> 6 Monate)	Färsen für die Nachzucht	Milchkühe	Handelsname, behandelte Tiergruppe - z.B. Trockenstehende ... und Anmerkungen (falls nicht bekannt, bitte "unbekannt" angeben)
BVD	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
IBR	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
BTV	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
BRSV	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
Tricho- phytie	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
Lungen- würmer	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
Rota/ Corona	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
Pasteurella	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
PI3	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	

Lepto- spirose	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	
Andere (bitte angeben)	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	<i>Ja / Nein</i>	

**Routinemäßige medikamentöse Behandlung in den letzten 12 Monaten (Medikamente die regelmäßig zu bestimmten Tiergruppe oder allen Tieren in der Herde verabreicht wurden)**

Produkt	Ja/ Nein	Handelsname (falls nicht bekannt, bitte "unbekannt" angeben)
Sulfonamide		
Vitamine/ Spurenelemente		
Auftreten von Nebenwirkungen bei Vitaminen/Spurenelementen: ja / nein		
Wenn ja – treten die Nebenwirkungen in den letzten Jahren vermehrt auf?		
Antibiotika		
Insektizide an Kälbern  Ohrmarken  Aufgüsse		
Insektizide an Kühen  Ohrmarken  Aufgüsse		
Entwurmungsmittel		
Andere		

**Bovine Virus Diarrhöe (BVD)**

War die Herde BVD frei während der letzten 12 Monate?	Ja/Nein/ Unbekannt	(falls BVD frei, seit wann ist die Herde BVD frei)
Falls die Herde BVD frei ist, wie wurde das festgestellt?	Keine klinischen Anzeichen Kontrollprogramm – Testen und Keulen Herdentest Andere (bitte angeben):	
Hatten Sie einen bestätigten BVD Fall (PI) in den letzten 12 Monaten?	Ja/Nein/Keine Überwachung für PIs	
Hatten Sie einen bestätigten BVD Fall (PI) in dem Zeitraum vor den letzten 12 Monaten? (bis ins Jahr 2005 zurück)?	Ja/Nein/Keine Überwachung für PIs	Falls ja, in welchem Jahr?
Hatten Sie ein BVD Impfprogramm?	Ja/Nein	Falls ja, in welchem Jahr begann und endete das Impfprogramm?
Gründe für die BVD Impfung Wir hatten ein BVD Problem in unserem Betrieb Wir wollten verhindern, dass ein BVD Problem in unserem Betrieb entsteht Unbekannter Status Andere: _____	Ja/Nein  Ja/Nein  Ja/Nein Ja/Nein	
Impfen Sie gegenwärtig gegen BVD?	Ja/Nein	
Was für ein BVD Impfstoff wird gegenwärtig verwendet (Handelsname)?		

Hatten Sie einen anderen BVD Impfstoff in der Vergangenheit verwendet?	Was für ein anderer BVD Impfstoff wurde verwendet (Handelsname)? Wann haben Sie den Wechsel zum gegenwärtigen Impfstoff gemacht?	
Datum der letzten BVD Impfung:		
Impfen Sie gemäß den Richtlinien des Impfstoffherstellers? z.B. falls Sie PregSure® BVD verwenden, impfen sie zweimal innerhalb von drei Wochen und dann eine jährlichen Auffrischung?; falls Sie Bovilis BVD verwenden, impfen sie zweimal innerhalb von vier Wochen?	Ja/Nein	
Als Sie gegen BVD impften, impften Sie zeitgleich gegen eine andere Krankheit? Falls ja, welcher andere Impfstoff wurde verwendet (Handelsname) und wann wurde die Impfung durchgeführt?	Ja/Nein	

### BNP-Krankheitsgeschichte in Ihrem Betrieb

Jahr	Anzahl von Fällen mit Blutgerinnungsstörungen	Bestätigte Fälle (Hämatologische oder post mortem Bestätigung)	Monate, in denen die Fälle auftraten	Anzahl von Fällen (Kälbern) mit Blutgerinnungsstörungen, die überlebten
2008				
2009				
2010				
2011				
Letzte 12 Monate				

**2) Gegenwärtiger BNP-Fall****Signalement des BNP-Kalbes und der Kontrollkälber**

ID	BNP-Kalb	Kontrollkalb-1	Kontrollkalb-2	Kontrollkalb-3	Kontrollkalb-4
Rasse					
Geschlecht					
Geburtsdatum					
Kalbung beobachtet	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein
Einzelkalbung	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein
Gruppenkalbung	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein
Zwillingskalbung	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein
Zwilling mit BNP?	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein	Ja/Nein

**(Fragen in grau könnten durch den Tierarzt beantwortet werden)**

Datum der ersten klinischen Anzeichen	
Datum an dem die Behandlung begonnen wurde	
Zustand des Tieres als klinische Anzeichen auftraten	aufgeweckt/geschwächt/im Koma
Alter (zwischen 0 und 28 Tagen)	Alter (in Tagen):
Mehrfache Blutungen auf der Haut / oder teerartiger Kot (Meläna) und/ oder Petechien auf den Schleimhäuten	Ja/Nein (Falls ja, bitte ankreuzen)  <input type="checkbox"/> Mehrfache Blutungen auf der Haut <input type="checkbox"/> Teerstuhl <input type="checkbox"/> Petechien auf den Schleimhäuten
Hämatologie zeigt Panzytopenie	Ja/Nein
Leukozyten ( $<2.0 \times 10^9 / L$ ) (falls möglich bitte Anzahl angeben)	Anzahl:
Thrombocytopenie = ( $<100 \times 10^9 / L$ ) (falls möglich bitte Anzahl angeben)	Anzahl:

BVD PCR Testergebnis Zusammengefasste Proben? Individuelle Proben? Falls positive, was für ein BVD Virustyp?	Positiv /Negativ / nicht ausgeführt  Ja/Nein  Ja/Nein
Blauzungen (BTV) PCR Testergebnis	Positiv /Negativ / nicht ausgeführt
Zustand des Kalbes, falls tot: Alter zum Zeitpunkt des Todes: Blutungsvorgeschichte Histologie des Knochenmarks	_____Tage  Ja/Nein  BNP Ja/ Nein/ nicht ausgeführt

### Im Falle des Todes des BNP-Kalbes

Todesdatum	
Euthanasie? Ja / Nein	Akut verstorben? Ja / Nein
Sektion: Ja / Nein  Falls ja, bitte Ergebnisse angeben oder Kopie des Sektionsberichtes beilegen.	

### Kontrollkälber: klinische Anzeichen zum Zeitpunkt der Probenentnahme

ID	Kontrollkalb-1	Kontrollkalb-2	Kontrollkalb-3	Kontrollkalb-4
Klin. Anzeichen von Blutungen	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein
Durchfall	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein
Lungenprobleme	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein
Andere klin. Anzeichen?	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein

Falls ja, bitte angeben:				
Behandlungen ? Falls ja, bitte angeben:	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein

**Kolostrumversorgung (BNP-Kalb und Kontrollkälber) bitte Zutreffendes einkreisen**

Kriterium	BNP-Kalb	Kontrollkalb-1	Kontrollkalb-2	Kontrollkalb-3	Kontrollkalb-4
Ohrmarkennummer					
Zu welcher Tageszeit geboren? Morgens 6 – 12 Uhr Nachmittag 12 – 18 Uhr Abends 18 – 22 Uhr Nachts 22 – 6 Uhr	Morgens Nachmittag Abends Nachts	Morgens Nachmittag Abends Nachts	Morgens Nachmittag Abends Nachts	Morgens Nachmittag Abends Nachts	Morgens Nachmittag Abends Nachts
Innerhalb der ersten 12 Std. an der Mutter getrunken?	- ja - möglich, nicht sicher - nein				
Bei Trennung des Kalbes von der Mutter innerhalb 24 Std. => Zeitraum (in Stunden) zwischen Geburt und erster Kolostrumgabe:	____ Std				
- wie oft erhielt das Kalb Kolostrum innerhalb der ersten 24 Std? - Gesamtmenge an Kolostrum erhalten - Kolostrum von anderen	_____ _____ _____	_____ _____ _____	_____ _____ _____	_____ _____ _____	_____ _____ _____

<p>Kuh/Kühen erhalten ?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- eigener oder fremder Betrieb?</li> <li>- von mehreren Kühen (Mischkolostrum)?</li> <li>- eingefrorenes Kolostrum</li> </ul>	<p>Ja / Nein</p> <p>Eigener / Fremd</p> <p>Ja / Nein</p> <p>Ja / Nein</p>	<p>Ja / Nein</p> <p>Eigener / Fremd</p> <p>Ja / Nein</p> <p>Ja / Nein</p>	<p>Ja / Nein</p> <p>Eigener / Fremd</p> <p>Ja / Nein</p> <p>Ja / Nein</p>	<p>Ja / Nein</p> <p>Eigener / Fremd</p> <p>Ja / Nein</p> <p>Ja / Nein</p>	<p>Ja / Nein</p> <p>Eigener / Fremd</p> <p>Ja / Nein</p> <p>Ja / Nein</p>
<p><b>Falls eingefrorenes Kolostrum benutzt wird:</b> (falls bekannt)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- von eigenem Betrieb oder anderem Betrieb?</li> <li>- OM der Kuh</li> <li>- Anzahl der Laktationen</li> <li>- Impfungen wie Herde?</li> <li>- BVD Impfung von dieser Kuh/Kühen falls unterschied. von Herde:</li> <li>- Andere Impfungen der Kuh/Kühe falls unterschied. von Herde:</li> </ul>	<p>Eigen/ Fremd</p> <p>Ja / Nein</p>				
<p>Kriterium</p>	<p>BNP-Kalb</p>	<p>Kontroll- kalb-1</p>	<p>Kontroll- kalb-2</p>	<p>Kontroll- kalb-3</p>	<p>Kontroll- kalb-4</p>
<p><b>Falls Mischkolostrum benutzt wird:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- inklusive Kolostrum der eigenen Mutter?</li> <li>- BVD Impfung der Kühe, falls unterschiedlich von dem der Herde:</li> <li>- andere Impfungen der</li> </ul>	<p>Ja / Nein / unbekannt</p>				

Kühe, unterschiedlich dem der Herde?	falls von					
<b>Falls Kolostrumersatz benutzt wird:</b> (künstl. Kolostrum)						
- nur Kolostrumersatz?						
- zusätzlich zum Kolostrum der eigenen Mutter?	Ja / Nein					
- zusätzlich zu eingefrorenem Kolostrum?	Ja / Nein					
- Falls Kolostrumersatz: Produktname:						
- Menge an Kolostrumersatz						

**Milchfütterung (bitte ankreuzen, falls zutreffend)**

ID	BNP-Kalb	Kontroll-Kalb-1	Kontroll-Kalb-2	Kontroll-Kalb-3	Kontroll-Kalb-4
Milchaustauscher					
Rohmilch					
Rohmilch von eigener Mutter					
Tankmilch					
Milch von Kühen mit hohem Zellgehalt oder klinischer Mastitis)					
Sperrmilch (z.B. von Kühen mit Wartezeit)					
Andere: _____					

**Muttertiere des momentanen BNP-Kalbes und der Kontrollkälber**

	Mutter des BNP-Kalbes	Mutter des Kontrollkalbes-1	Mutter des Kontrollkalbes-2	Mutter des Kontrollkalbes-3	Mutter des Kontrollkalbes-4
Ohrmarke					
Geburtsdatum (Tag/Monat/Jahr)					
Rasse					
Anzahl der Laktationen					
305 Tages-Gemelk während der vorherigen Laktation					
Geschätzter Zuchtwert für Milch					
Stammt das Kalb aus einem Embryo-Transfer ? Falls ja, bitte Ohrmarke der Donor-Kuh angeben, falls bekannt.	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein
Wurde die Mutter auf dem Betrieb geboren?	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein
Wurde die Mutter zugekauft? Falls ja: Datum des Zukaufs: Herkunftsbetrieb: Schon trächtig bei Zukauf?	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein
Aufgezogen auf einem anderen Betrieb? Falls ja, in welchem	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein	Ja / Nein

Zeitraum war sie auf diesem anderen Betrieb?					
Bisher betroffene Kälber dieser Kuh mit ähnlichem klin. Bild?	Ja / Nein				

### Ausgang der vorhergehenden Kalbungen der letzten zwei Jahre:

		Mutter vom BNP-Kalb	Mutter von Kontroll-1	Mutter von Kontroll-2	Mutter von Kontroll-3	Mutter von Kontroll-4
Kalb 2010	Blutungen	Ja / Nein ;	Ja / Nein ;	Ja / Nein ;	Ja / Nein ;	Ja / Nein ;
	Klin. Anzeichen	Ja/Nein; <4	Ja/Nein; <4	Ja/Nein; <4	Ja/Nein; <4 Wo/später	Ja/Nein; <4
	Tod/Alter b.Tod	wo/später Ja / Nein _____Tage	Wo/später Ja / Nein _____Tage	Wo/später Ja / Nein _____Tage	Ja / Nein _____Tage	Wo/später Ja / Nein _____Tage
Kalb 2009	Blutungen	Ja / Nein ;	Ja / Nein ;	Ja / Nein ;	Ja / Nein ;	Ja / Nein ;
	Klin. Anzeichen	Ja/Nein; <4	Ja/Nein; <4	Ja/Nein; <4	Ja/Nein; <4 Wo/später	Ja/Nein; <4
	Tod/Alter b.Tod	Wo/später Ja / Nein _____Tage	Wo/später Ja / Nein _____Tage	Wo/später Ja / Nein _____Tage	Ja / Nein _____Tage	Wo/später Ja / Nein _____Tage

**Impfungen der Mutter des BNP-Kalbes**

	<b>Impfstoff (Name)</b>	<b>Datum</b> <i>ab 2005 (Tag/Monat/Jahr)</i>
<b>Blau- zunge (BTV)</b>		
<b>BVDV</b>	<p>BVDV geimpft? Ja/nein</p> <p>Wie viele Monate vor der Abkalbung?</p> <p>Wie oft wurde die Mutter gegen BVDV geimpft (einschl. der ersten Grundimmunisierung) (Anzahl der Impfungen im gesamten Leben)?</p> <p>(Bitte nennen Sie den Impfstoff-Name und Jahr in die unten stehenden Zeilen)</p>	
<b>Durch- fall (Rota/ Corona)</b>		
<b>IBR</b>		
<b>Andere</b>		

**Behandlungen während der Trächtigkeit der Mutter des BNP-Kalbes oder in der Früh lactation/ Behandlungen beim Trockenstellen**

--

**Impfung der Mütter von Kontrollkalbern**

	Mutter von Kontrollkalb				Unterschiede und zusätzliche Impfungen (bitte die Nummer des Kontrollkalbes angeben)
	Kalb 1	Kalb 2	Kalb 3	Kalb 4	
<b>Blauzunge (BTV)</b>	ja/nein	ja/nein	ja/nein	ja/nein	
<b>BVDV</b>	ja/ nein	ja/ nein	ja/ nein	ja/ nein	
<b>Wie viele Monate vor dem Abkalben?</b>	_____	_____	_____	_____	
<b>Wie oft?</b>	_____	_____	_____	_____	
<b>Durchfall (Rota/ Corona)</b>	ja/ nein	ja/ nein	ja/ nein	ja/ nein	

<b>IBR</b>	ja/ nein	ja/ nein	ja/ nein	ja/ nein	
<b>Andere</b>	ja/ nein	ja/ nein	ja/ nein	ja/ nein	

**Behandlungen während der Trächtigkeit der Mütter der Kontrollkälber oder in der Frühlaktation/ Behandlungen beim Trockenstellen; bitte nennen Sie die Nummer des Kontrollkalbs**

--

**3) Väter des betroffenen BNP-Kalbes und der Kontrollkälber**

ID	BNP-Kalb	Kontroll- kalb-1	Kontroll- kalb-2	Kontroll- kalb-3	Kontroll- kalb-4
Ohrmarke/ KB- nummer					
Name des Vaters					
Rasse					
Bulle innerhalb der Herde					
Datum KB					
War dieser Bulle schon der Vater von anderen betroffenen Kälbern?					

## **X. DANKSAGUNG**

An erster Stelle bedanke ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Wolfgang Klee für die Überlassung des Themas und bei Prof. Dr. Gabriela Knubben-Schweizer für die Übernahme, die Betreuung und die Endkorrektur der Dissertation.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Carola Sauter-Louis für die stets freundliche, kompetente und zuverlässige Betreuung während der Planungs- und Ausführungsphase, der Auswertung und Korrektur dieser Arbeit. Außerdem danke ich Dr. Jörg Henning für die Hilfe bei der Rekrutierung der BNP-Fälle im Norden und Osten Deutschlands.

Ich danke Dr. Annette Pfitzner und Dr. Frederike Reichmann für die Einarbeitung im „Bluterteam“ und für die guten Ratschläge bei der Durchführung dieser Studie. Ganz besonders bedanke ich mich bei Anne Rößler für die telefonische Befragung und Dateneingabe der Kontrollbetriebe. Außerdem gilt mein Dank dem gesamten Team der Klinik für Wiederkäufer LMU München und den Mitarbeitern des Labors für die Auswertung der unzähligen Blutproben.

Ein herzlicher Dank gilt meinen Eltern Dagmar und Albert Stoll, die mich während des Studiums und der Doktorarbeit emotional und finanziell unterstützt haben. Meinen Schwiegereltern Gudrun und Rupert Altersberger gilt ein besonderer Dank für die mehrfache Korrektur des Manuskriptes.

Meiner Ehefrau Anna Altersberger danke ich von ganzem Herzen für die große Unterstützung bei der Entstehung dieser Arbeit.